

荔枝大小年树营养芽及花芽分化 与细胞分裂素的关系*

李沛文 季作樑 梁立峰 马健南

(园艺系)

(香港中文大学)

提 要

用气相色谱法证明糯米糍荔枝(*Litchi chinensis* Sonn. cv. No Mi Chi)在花芽分化期间枝条顶芽的提取液中含有玉米素。紫外线吸收光谱法显示在这种提取液中除玉米素以外还有其它细胞分裂素类物质的存在。

通过对荔枝顶芽提取液中细胞分裂素作定量生物鉴定,了解到大年,小年结实的荔枝树的顶端发育芽,在花芽形态分化期间细胞分裂素的含量有明显的差异。大年树枝梢顶端的花芽,在花芽分化临界期以后细胞分裂素的含量逐渐增加,在花器官开始分化期达到最高峰,到雌蕊分化期又下降到低于原来的低水平。而小年树的营养芽在其整个发育过程中,细胞分裂素的含量保持在一个稳定的最低水平。

施用外源细胞分裂素和生长延缓剂B₉能抑制圆锥花序的伸长,增加花序分枝及增加果穗的座果率。细胞分裂素不但能促进荔枝的花芽分化,而且还影响花芽的发育。在荔枝花芽分化和发育期间,使用外源细胞分裂素及具相似生理功能物质在促进生产上将具有相当的价值。

前 言

荔枝隔年结实现象是当前荔枝生产上急待解决的重要问题。由于小年树通常是不开花或开花稀少,要解决大小年结实的问题,首先要了解荔枝成花的机理。关于果树成花机理的研究已有百年的历史^{[4][7]}。Jackson(1972)就木本植物花芽分化问题作过综合性论述^[11]。Luckwill(1970)曾指出内源细胞分裂素在苹果成花过程中的作用^[13],提出苹果花芽分化与临界的赤霉素/细胞分裂素平衡有关的假说。但到目前为止对于荔枝花芽分化过程中细胞分裂素的功能仍知道得很少。

1979年开始,我们曾对大年荔枝树花芽分化过程中内源细胞分裂素的含量做了一点探索^[3]。从这基础出发,本文报道在小年荔枝树的营养芽发育过程中和大年荔枝树的花芽分化过程中,其内源细胞分裂素含量的变化。并讨论荔枝树成花机理的问题,给果树成花理论提供一些新的试验数据,同时也为使用外源激素来克服荔枝树小年不开花的人工控制提供应用上的依据。

* 本文承黄国熙先生大力支持,李明启教授审阅,特此致谢。

材 料 和 方 法

(一) 实验材料的采集和处理

采样树是广东省东莞县果树研究所70~80年树龄的糯米糍荔枝树 (*Litchi chinensis* Son cv. No mi chi)。大年(多花)和小年(少花)树各五株,大年树以当年生秋梢(结果母枝)顶芽及后来伸长的花序轴为材料。小年树以秋梢顶芽及后来萌发的嫩梢为分析材料。从1981年12月初到1982年3月底每隔30天采样一次。每株采样10克,将各树的样品分别标记及称重后立即放置于干冰中速冻,以后保存在 -20°C 的低温冰箱里备用。到开花时调查每株采样树开花情况,分别判定其为大年或小年树。然后把同一采样时间的大年或小年树样品分别均匀混合。从大年树及小年树混合物中各取相当于20克鲜重的样品,分别进行内源细胞分裂素的提取,分离,纯化和生物鉴定。

(二) 细胞分裂素的提取、分离、纯化和生物鉴定

细胞分裂素的提取、分离、纯化的方法与前文^[5]同。对提取液中的细胞分裂素作定量测定。用专一性很强的尾穗苋 (*Amaranthus caudatus* L.) 黄化幼苗子叶苋红合成法^[1]。

(三) 细胞分裂素的物理鉴定

1. 气相色谱鉴定: 本实验使用HP5710型气相色谱仪(美国Hewlett packard公司)。样品在进样以前用BSTFA + 1% Tms在 60°C 中硅烷化二小时。填充柱长1.6m, 直径4mm, 载体为100/120目gaschrom Q, 固定液是3% SE-30。氢火焰离子化检测器, 温度 300°C 。载气是氮, 流量为30ml/分。进样温度 250°C 。色谱柱炉控温程序是0~8分钟恒温 120°C , 以后每分钟升高 8°C 直到 270°C 为止。

2. 紫外线吸收光谱鉴定: 用0.5ml荔枝发育芽样品提取液、在带荧光的氧化铝薄板 (Aluminium oxide GF245 neutral Typ E, 西德merck公司出品) 上经混合溶剂正丁醇: 氨水: 水 (15: 0.1: 1) 推展, 取 R_f 值0.7~0.9区段之浸出液(此二区段均具有细胞分裂素的生理活性)。浓缩至10ml在75-1型分光光度计(上海分析仪器厂)于波长230nm至300nm段, 每隔10nm进行一次扫描测定。以同样方法用10ppm的标准激动素和10ppm标准玉米素(美国Sigma公司出品)进行紫外线吸收光谱扫描, 分别得出三者的吸收光谱曲线。

(四) 外源植物激素的应用

早春在生长正常的糯米糍荔枝树上选取出现白点, 长2cm左右而且生长一致的花芽若干。1982年用BAP(6-苄基腺嘌呤)100ppm处理一次, 共10个芽。而1983年用BAP25ppm和GA₃(赤霉素)50ppm, 每两周处理一次, 共三次, 每次处理10个芽。处理方法是用脱脂棉花将上述浓度的激素溶液把整个芽涂湿, 然后将该棉花围捆在花芽的基部。对照组用蒸馏水作同样的处理。处理后定期测量花序轴的长度, 开花时调查每个花序从基部开始的分枝数。1984年则配制不同浓度激素, B₀1500ppm, B₁1500ppm + 乙烯利500ppm, B₂5000ppm, MH 1500ppm(马来酰肼maleic Hydrazide), MH 5000ppm, 用喷雾器喷半株树, 另一半作为对照(喷水)。随机挂牌10个生长一致花穗。以后定期调查。

试验结果

(一) 荔枝发育芽提取液中细胞分裂素的鉴定

标准玉米素在气相色谱中上述条件下出现一个单峰(图1)。荔枝发育芽提取液中对尾穗苋(*Amaranthus caudatus* L.)有生物活性的氧化铝薄板上 R_f 0.7~0.8和0.8~0.9二个区段浸出液的气相色谱图中,在标准玉米素出现峰的相同保留时间处亦有一个相应的峰出现。图2为 R_f 0.7~0.8区段浸出液色谱图。图3为 R_f 0.8~0.9区段浸出液色谱图。这说明了荔枝发育芽提取液经层析后在有细胞分裂素生物活性的二个区段都有玉米素存在的可能性。

对标准玉米素、BAP(6-苄基腺嘌呤)与荔枝发育芽提取液中具细胞分裂素生物活性的二个区段浸出液的紫外线吸收光谱进行比较(图4)。发现玉米素和BAP的吸收峰在260nm处,而荔枝发育芽提取液中具细胞分裂素生物活性的二个区段浸出液的紫外线吸收光谱峰在270nm。这说明荔枝发育芽中除了已被证实的玉米素以外,可能还有其他未知细胞分裂素类物质的存在。

(二) 大年、小年荔枝树花芽分化过程中内源细胞分裂素含量的变化

从图5、表1看到,大年荔枝树在花芽分化临界期以后内源细胞分裂素含量逐渐增加,一直到进入花器官分化开始时(花萼分化期)达到高峰,到雌蕊分化期其含量又降到一个低于原来的低水平。而小年荔枝树的营养芽在整个发育过程中都稳定在一个低的水平。

(三) 外源植物激素对荔枝花芽发育的影响

1984年2月27日用MH 1500ppm处理,

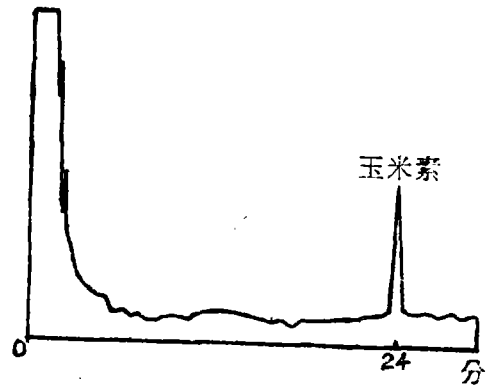


图1 标准玉米素气相色谱图

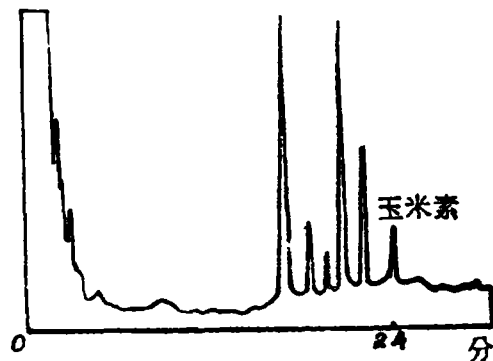


图2 荔枝发育芽提取液 R_f 0.7~0.8区段浸出液气相色谱图(工作条件与图1相同)

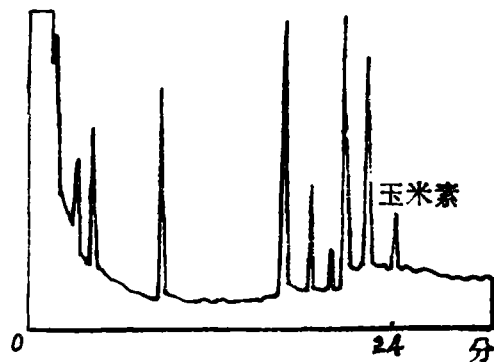


图3 荔枝发育芽提取液 R_f 0.8~0.9区段浸出液气相色谱图(工作条件与图1相同)

全部落花,但能抽出新梢。用MH5000ppm处理后整个花序死亡,老熟叶正常,株植一直到1984年12月仍未抽出新梢。

从表 2、3 看到, 荔枝在花芽分化期间, 外源细胞分裂素与赤霉素的作用相反, 它能抑制花序轴的伸长, 增加花序的分枝数。从表 4 可知, 外源植物生长抑制剂 B₉ 能抑制花序伸长, 增加花序基部直径, 增加分枝数和显著地提高果穗的座果率。

表 1 荔枝花芽分化及营养芽发育过程中内源细胞分裂素含量

产 量	日期 12月 3日	1月 5日	2月 6日	3月 8日	3月 26日
花芽 (大年树)	0.911	1.535	3.624	0.739	0.583
营养芽 (小年树)	1.004	0.809	1.001	0.867	1.002

• 大年树细胞分裂素变化十分显著
 $F = 22.0482 > F_{0.01} = 11.39$; 小年树细胞
 分裂素变化不显著 $F = 0.4705 < F_{0.25} =$
 2.06 。单位: μg 激动素当量/100g 鲜重。

表 2 外源BAP对荔枝花芽发育的影响* 1982年

理处	芽数 (个)	2月2日		2月25日		3月2日	
		花芽 总长 (cm)	平均	花芽 总长 (cm)	平均	花芽 总长 (cm)	平均
BAP 100ppm	10	36.90	3.69	39.70	3.97	41.90	4.19
蒸馏水	9	36.20	4.02	57.60	6.40	66.20	7.36

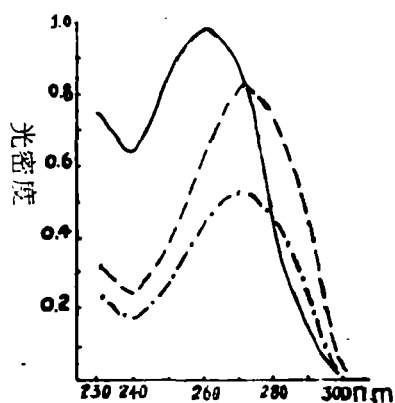
*BAP抑制花芽伸长作用显著 $p<0.05$

表 3 外源植物激素对荔枝花芽发育的影响* 单位: cm, 1983年

日 期		3月4日			3月14日			3月28日			4月15日			
		芽数	总长	平均	芽数	总长	平均	芽数	总长	平均	芽数	总长	平均	平均每穗分枝
蒸馏水		10	15.10	1.50	10	22.20	2.22	10	58.70	5.87	10	143.20	14.32	3.6
BAP 25ppm		10	15.20	1.52	10	22.00	2.20	9	47.20	5.24	9	100.00	11.11	5.1
GA ₃ 50ppm		10	13.00	1.30	10	22.50	2.25	10	67.20	6.72	9	146.60	16.29	3.11

*①外源激素对花序轴长度影响极显著 $p<0.01$; 外源激素对花序分枝影响极显著 $P<0.01$ 。

②1983年春因长期低温阴雨，开花期比正常延迟20天左右。



提取素 激动素 玉米素

图 4 标准细胞分裂素及荔枝发育芽提取液紫外线吸收光谱图

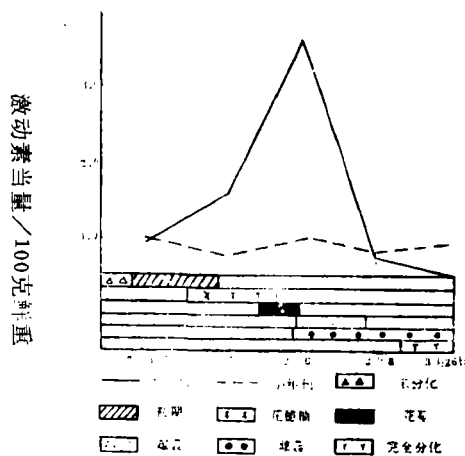


图5 糯米糍荔枝花芽分化过程中
内源细胞分裂素变化动态

表 4 外源植物激素对荔枝花序和果实的影响* 1984年

处理	花序长度(cm)			花序基部直径(mm)			花序基部分枝(条)			果数(个)		
	处理	对照	±%	处理	对照	±%	处理	对照	±%	处理	对照	±%
B ₉ 1500ppm	73.0	133.0	-45.1***	31.0	24.5	+26.5	73.0	62.0	+17.7	58.0	39.0	+48.7**
B ₉ 1500ppm+ 乙烯利500ppm	68.5	128.5	-46.7***	29.5	25.5	+15.7	71.0	52.0	+36.5	65.0	41.0	+58.5**
B ₉ 5000ppm	66.0	122.0	-45.9***	31.5	26.0	+21.2	64.5	37.0	+74.3	114.0	68.0	+67.6**

*处理时间: 1984年2月27日; 调查长度、直径、分枝数时间: 1984年4月24日; 调查果数时间: 1984年5月31日。每处理调查10个花序。表中数字为10个花序总和。

差异显著 ($P=0.05$); *差异极显著 ($P=0.01$)。

讨 论

细胞分裂素用尾穗苋黄化子叶的苋红合成法进行生物鉴定是专一性很强的方法, 任何其他物质均不能替代细胞分裂素类物质引起苋红的合成^[1]。梁立锋等(1983)用此种方法证明荔枝花芽提取液在氧化铝薄板上的R_f0.7~0.8和0.8~0.9二个区段有细胞分裂素类物质存在^[5]。本文用气相色谱法, 更进一步证明具细胞分裂素生物活性的二个薄板区段浸出液与标准玉米素有相同的保留时间的气相峰。

用紫外线吸收光谱法还了解到荔枝发育芽提取液具细胞分裂素生物活性的二个薄板区段浸出液的紫外线吸收峰与玉米素的吸收峰略有偏移(图4), 这说明荔枝发育芽中除已被证实的玉米素以外, 还可能还有其他细胞分裂素物质的存在。Agrawal(1980)用紫外线吸收光谱法测出芒果 (*Mangifera indica* L.) 在花芽分化过程中花芽提取液中除玉米素及玉米素核苷以外还有九种其它细胞分裂素类物质的存在^[9]。所以, 荔枝及其它热带亚热带果树一样, 在花芽分化期间除了有玉米素以外亦可能有其他多种细胞分裂素类物质在起作用。

Shukla等(1974)曾报道^[10]荔枝花芽分化的观察结果。Menzel(1983, 1984)也讨论过荔枝花芽分化问题^{[17][18]}。在我国广东省东莞地区(荔枝主产区)对糯米糍荔枝, 我们进行了两年的观察, 初步认为, 糯米糍品种花芽分化开始于12月中旬左右, 到来年3月下旬分化完成。在这时期, 花序轴原基分化从12月中旬开始至翌年1月中旬左右结束; 花器官分化从1月中旬左右开始至3月中旬结束^[9]。其分化过程与芒果^[2]十分相似。

大年、小年荔枝树在花芽分化, 营养芽发育过程中内源细胞分裂素含量的动态有较大的差异。大年树在花芽分化期间细胞分裂素增加直到分化后期又下降的趋势重复了上一年的试验结果^[5], 这规律也与芒果花芽分化过程内源细胞分裂素的动态相似^[9]。Joiner曾用GA₄或GA₃处理杜鹃花来代替用冷藏的方法打破休眠, 在打破休眠促进开花的同时也发现提高了内源细胞分裂素的含量^[12]。上述大小年荔枝树花芽分化期间

内源细胞分裂素含量变化的规律支持了Luckwill的成花机理假说^[13]，为这理论的发展增添了新的实验资料。证明他的成花理论不仅适用于温带果树的苹果，而且也适用于亚热带果树——荔枝^[15]。

花芽分化过程中内源细胞分裂素含量增加与细胞迅速分裂有关。花芽分化过程中各种原基细胞进行着大量分裂，而细胞分裂素的主要生理功能正是促进细胞数目的增加。其作用机理与细胞分裂素促进蛋白质的生物合成有关，细胞分裂素在蛋白质的生物合成中促进着新“模板”的转录和翻译^[8]。

本试验结果表明，在荔枝树花芽分化期间外源细胞分裂素能抑制花序轴的伸长，增加花序分枝。GA₃则相反，它促进花序轴的伸长，减少花序的分枝。Foresney (1982) 喷BAP也能促进苹果的枝杈^[10]。所以，细胞分裂素不但促进细胞的分裂，促进花芽分化，而且有抑制营养生长，使荔枝长花序变成短花序的功能。生产实践也一致认为短花序比长花序有更高的着果率和更高的产量，本试验中用B₉处理花序亦得到类似的结果（表4）。

荔枝与许多热带亚热带常绿果树一样，枝叶的营养生长可以全年进行。在花芽分化期间若枝梢营养生长过旺则必然影响到荔枝花芽分化。在亚热带地区，秋季的干旱和冬季的低温使枝梢营养生长缓慢或暂时停顿，这正是花芽分化的好时机。假如在这个时期温暖多湿，往往枝梢仍继续生长，并会抽出“冬梢”从而抑制花芽分化，使来年因开花稀少而减产^{[6][17]}。Luckwill认为在夏威夷这地方，荔枝的开花在干旱的秋季月份有利，若秋季多湿，荔枝树花芽分化受抑制，生长出营养枝^[10]。他还认为在整个花芽分化期间，人工加入外源细胞分裂素或其它生长抑制物质如B₉，矮壮素“Cycocel”，乙烯利，整形素，三碘苯甲酸，萘乙酸钠盐等有抑制和缓延营养生长的效果。这作用的机理是这些抑制物质阻碍了GA₃的生物合成和运转^[14]。本试验（表4）用B₉处理，喷初萌动的花序，显著地抑制花序的徒长，使其矮壮，从而明显地提高了每穗的座果率，这一措施在生产上具有一定的意义。从上述的原理和实验出发，我们初步认为，在荔枝花序分化期间，应用外源植物生长抑制剂具可能性和实践意义。不仅如此，而且可以结合其他抑制营养生长的一系列栽培措施（如制水、断根、环割等等）形成一套促进荔枝花芽分化的综合农业技术措施。

参 考 文 献

- [1] 丁静等：植物内源激素的提取分离和生物鉴定，《植物生理通讯》，（2）1979：27—39。
- [2] 林淑坛、陈宗苇：芒果花芽分化研究初报，《园艺学报》，8（4）1981：9—14。
- [3] 季作樑、梁立峰等：荔枝花芽分化的初步观察，《园艺学报》，11（2），1984：134—137。
- [4] 梁立峰：植物激素与果树的花芽分化，《植物生理学通讯》，（4）1982：1—6。
- [5] 梁立峰、季作樑、李沛文：荔枝花芽分化过程内源细胞分裂素变化动态的研究，《华南农学院学报》，4（1），1983：37—44。
- [6] 彭镜波等、华南农学院主编：《果树栽培各论》（南方本），167—179，农业出版社，1981年。

- [7] 傅家瑞：开花生理的研究概述，《中山大学学报（自然科学版）》，（3）1978：94—101。
- [8] 潘瑞炽：植物激素作用的机理，《植物生理生化进展》（1）90—102，科学出版社，1982年。
- [9] Agrawal, A. et al. 1980: Endogenous Cytokinins of Mango (*Mangifera indica* L.) Shoottips and Their Significance Flowering, Indian Journal of Experiment Biology, 18: 504—509.
- [10] Forsher C.K. 1982: Branching Responses of Young Apple Trees to Application of 6—Benzylamino Purine and Gibberellin A₄₊₇, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 107 (4): 538—541.
- [11] Jackson P.I. and G.B. Sweet, 1972: Flower Initiation in Temperate Woody Plant, Hort. Abstract 42: 18—19.
- [12] Joiner J.N. et al. 1981: Effect of Exogenous Growth Regulators on Flowering and Cytokinins Levels in Azalea, Scientia Horticulturae 18 (1982/83): 143—151.
- [13] Luckwill L.C. 1970: The Control of Growth and Fruit Fruitfulness of Apple Trees, In Luckwill L.C. (ed.) Physiology of Tree Crops, 237—254.
- [14] Luckwill L.C. 1974: A New Look at the Process of Fruit Bud Formation in Apple, Proceedings of XIX th International Horticultural Congress I. 169—177.
- [15] Luckwill L.C. 1980: Hormones and the Productivity of Fruit Trees, Scientific Horticulture 31: 60—68.
- [16] Luckwill L.C. 1981: Growth Regulators in Crop Production: 30—31, Printed and Bound in Great Britain at the Comelot Press Ltd, Southamton.
- [17] Memzel C.M. 1983: the Control of Floral Initiation in Lychee: A Review, scientia Horticulturae 21: 201—215.
- [18] Menzel C.M. 1984: The Pattern and Control of Reproductive Development in Lychee. A Review, Scientia Horticulturae. 22: 333—345.
- [19] Shukla R.k. and P.N. Bajpai, 1974: Blossom Bud Differentiation and Ontogeny in Lichi (*Lichi chinensis* Sonn.), Indian Journal of Horticulture 31(3): 226—228.

THE RELATIONSHIP BETWEEN CYTOKININS AND THE
DIFFERENTIATION OF FLOWER BUDS IN "ON" YEAR
AND VEGETATIVE BUDS IN "OFF" YEAR TREES OF
LITCHI (*LITCHI CHINENSIS* SONN. CV. NO MI CHI)

Puiman Lee Ji Zuoliang Liang Lifeng

(Department of Horticulture)

James C. N. Ma

(The Chinese University of Hong Kong)

ABSTRACT

The present research demonstrated by gas chromatography that there was zeatin in the extract of Litchi (*Litchi chinensis* Sonn. CV. NO MI CHI) shoottips during flower differentiation period. In addition to zeatin other cytokinins were found in the extract by the method of ultraviolet absorption spectra.

Through quantitative cytokinins bioassay in the extract solution of litchi developing buds, it was found that the contents of endogenous cytokinins during the "on" year were definitely different from those during the "off" year. The contents of endogenous cytokinins during the "on" year in litchi shoottip flower buds increased gradually after the critical period of differentiation and attained the peak at the beginning differentiation period of floral organs. Then it declined to a level lower than its original low level during pistil differentiation, whereas in the "off" year a stable low level cytokinin content was found in the whole developing period.

According to our experimental observation, exogenous cytokinins and growth inhibitor "B₉" could retard the growth and development of litchi flower inflorescences, increasing their lateral branches, and fruitset. It was shown that cytokinins not only enhanced floral differentiation of litchi, but also had an effect on its floral development. Thus the application of exogenous cytokinins and substances with similar physiological function as cytokinins would show beneficial effect during the period of flower bud differentiation and development.