

内源细胞分裂素与菜心花芽 分化和菜薹形成的关系

黄敏通 关佩聪
(园艺系)

摘要 本试验采用阳离子交换柱、薄板层析和生物鉴定对菜心生育过程内源 CTK 水平的变化进行了定性鉴定和定量测定。结果表明:菜心的茎端生长点、菜薹及基茎均存在 CTK 类物质。菜心花芽未分化时茎端生长点的 CTK 含量逐渐增加,分化前达到小高峰,分化过程逐渐减少。菜薹形成开始时,茎端生长点 CTK 含量急速回升,抽薹初期(现蕾期)达大高峰,尔后又逐渐降低。菜薹的 CTK 含量在抽薹初期迅速增加,到抽薹中期达最大,这时正是菜心植株及菜薹鲜重迅速生长时期,抽薹后期逐渐下降。

关键词 菜心;花芽分化;菜薹形成;内源 CTK;生物鉴定

菜心 (*Brassica parachinensis* Bailey) 是我国的特产蔬菜,关佩聪等^[3]、梁承愈等^[6]对菜心的生长发育及产品器官形成规律已进行了报道。但关于菜心的花芽分化、菜薹形成与核酸、内源激素的关系在国内外都未见报道。

加藤^[7]研究了碳、氮、核酸、内源生长素(IAA)及赤霉素(GA)与结球莴苣花芽形成、茎节伸长的关系。对花椰菜^[8]的花蕾分化发育过程与内源激素的关系,指出 IAA 在花蕾刚要分化时少,分化前后含量高,而 GA 在生育期间少,花蕾分化后增加,高藤等报道了番茄^[9]、茄子^[10]花芽分化前后 IAA、GA 水平的消长。关于内源细胞分裂素(CTK)与蔬菜花芽分化和抽薹关系报道尚少。

本试验通过菜心在花芽分化及菜薹形成过程中内源 CTK 水平的消长,探讨菜心花芽分化和菜薹形成的机制,为调控菜薹形成提供理论参考。

1 材料与方法

试验在华南农业大学试验地进行。选用青叶早菜心为材料,盆栽,4月25日在薄膜大棚内播种,于播后14,16,19,22,25,28,33,36和40d取样,测定植株和菜薹鲜重,剪取茎端生长点部及薹茎部分各25~50g,用锡薄纸包好,马上移入-20℃低温冰箱中保存备用。内源 CTK 的提取、分离和纯化,基本上按梁立峰等^[5]的方法进行,其中纯化部分改用先进能控制流速的专用层析柱代替滴定管柱,从而提高效率和准确性。

CTK 的薄板层析:用2g硅胶 GF₂₅₄ 0.8%聚乙烯醇5ml铺板,薄板为16cm×9cm 软质

• 本论文为国家自然科学基金资助项目的部分研究结果
1992-12-14 收稿

玻璃。展开剂用正丁醇:氨水:水=20:0.5:1,点样于恒温展蜡台上进行,点样量为0.5 ml,于层析缸中饱和1 h,然后放下展开10 cm,取出自然风干。用4 g 荧光氧化铝,展开剂两种:[I],正丁醇:氨水:水=15:0.1:1和[II],正丁醇:异丙醇:氨水:水=2:8:1:1作同样处理。薄板层析后在2537 Å紫外分析仪上观察展开后CTK暗斑位置。

CTK的生物鉴定:按丁静等^[1]介绍的苋红素生物合成法进行。

菜心花芽分化和菜薹形成过程CTK水平测定:样品提取液0.5 ml在氧化铝薄板经展开剂[I]层析后,割取 R_f 0.7~0.9区段作样品OD 542 nm/A 542 nm值测定。所有样品的光密度根据标准曲线换算成KT浓度,并用材料鲜重换算为 $\mu\text{gKT}/100\text{ g}$ 鲜重^[1]。

试剂:玉米素 Zeatin (Z),上海生化所;激动素 Kinetin (KT),Fluka,异戊烯基核糖基嘌呤 (Zipa),Sigma,强酸性苯乙烯系阳离子交换树脂,上海化学试剂采购站,新华厂分装;荧光氧化铝 (Aluminium Oxide GF₂₅₄) Neutral Type 为西德 Merck;硅胶 GF₂₅₄ (浙江德清雁荡山试剂厂);聚乙烯醇 PVA 日本进口分装。

2 结果与分析

2.1 标准CTK和提取液在不同薄板上的展开结果

0.5 ml 提取液在硅胶薄板上经展开剂[I]展开后,可看到6个暗斑,大多为浅褐斑, R_f 0.77~0.84区段的暗斑为紫褐斑, R_f 0.33~0.44区段为暗褐斑(图1)。

100 μg 标准 Z、2.6 μg 标准 KT 和 100 μg 标准 Zipa 在硅胶薄板上展开后,分别于 R_f 0.44~0.55, R_f 0.44~0.55和 R_f 0.42~0.50区段可看到1浓褐黑斑。可见使用硅胶薄板,提取液的CTK物质的 R_f 应位于0.44附近区段。

基茎、菜薹和茎端生长点的提取液各0.5 ml在氧化铝薄板上经展开剂[I]展开后,观察到6个暗斑,以 R_f 0.8~0.9区段的2个暗斑为明显(图2)。

1.1 μg 标准 Z 和 2.6 μg 标准 KT 在氧化铝薄板展开后,分别于 R_f 0.83~0.93和 R_f 0.70~0.76区段有1浓褐黑斑。这和梁立峰等^[3]的报道基本一致。故可初步认为提取液的CTK物质的 R_f 位于0.8附近区段。

2.2 标准CTK和提取液在不同展开剂中的分离效果

0.5 ml 提取液和 0.4 ml 55 ppm 标准 Z 在不同展开剂中的分离效果,提取液在展开剂[I]展开后,可见到5个暗斑, R_f 0.89~0.95为浓蓝黑斑, R_f 0.73~0.78为褐黑斑, R_f 0.40~0.43为淡褐斑,而在展开剂[II]展开后观察到6个暗斑,也是 R_f 0.86~0.92为浓蓝黑斑, R_f 0.71~0.75为褐黑斑(图3),这和丁静等^[1-2]、梁立峰等^[3]和李沛文等^[4]的报道是一致的。可见2种不同的展开剂均可用于CTK类物质的分离,标准Z的暗斑位于 R_f 0.75~0.81处。

2.3 标准CTK在硅胶薄板上的活性区段

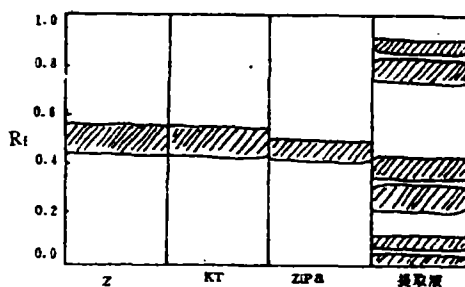


图1 标准CTK提取液在硅胶薄板上展开后的色谱图(20:0.5:1)

标准 Z、KT 和 Zipa 在硅胶薄板展开后, Z 和 KT 在 R_f 0.40~0.50 有较高的生物活性区段 (图 4), Zipa 在 R_f 0.3~0.4 处, 但总的来说, 分离效果不甚明显, 这和汪安琳等用于分离杉木萌芽的 CTK 结果相似, 似觉硅胶薄板不宜用于 CTK 的分离。

2.4 标准 CTK 和提取液在氧化铝板上展开后的活性区段

提取液给氧化铝薄板层析分离和茚红素生物鉴定的结果见图 5, 看到在 R_f 0~0.1 和 R_f 0.5~0.9 区段, 明显地显示 CTK 活性, 而以 R_f 0.8~0.9 的活性较高。1.1 μ g 标准 Z 以 R_f 0~0.1 和 R_f 0.7~0.9 区段活性明显, 而以 R_f 0.7~0.9 区段的活性最高, 因此采用 R_f 0.7~0.9 区段作 CTK 的定量。

2.5 菜心花芽分化和菜薹形成过程 CTK 水平的变化

测定结果表明 (图 6), 菜心的茎端生长点, 菜薹及基茎均存在 CTK 类物质。

菜心生育过程, 茎端生长点的 CTK 含量变化有 2 个高峰, 在花芽未分化之前, 茎端生长点的 CTK 含量逐渐增加, 至分化前达到小高峰, 花芽分化过程逐渐减少。在菜薹形成开始时急速回升, 到抽薹初期 (现蕾期) 达到大高峰, 至抽薹中期又逐渐减少。以菜薹的 CTK 含

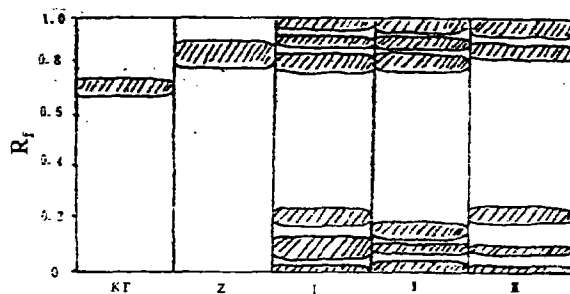


图 2 标准 CTK 提取液在氧化铝薄板上展开后的色谱图 (15:0.1:1)

I 基茎提取液 II 菜薹提取液 III 生长点提取液

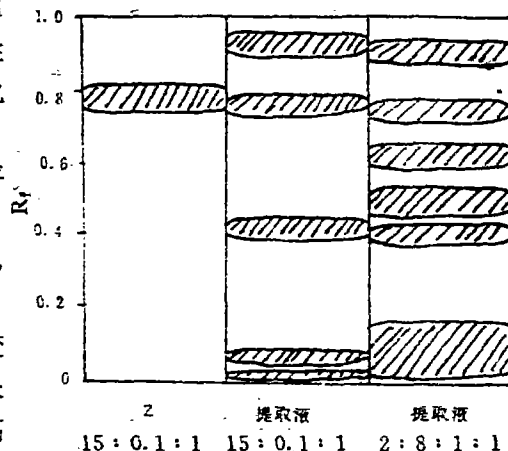


图 3 标准 Z 和提取液在不同展开剂展开后的色谱图

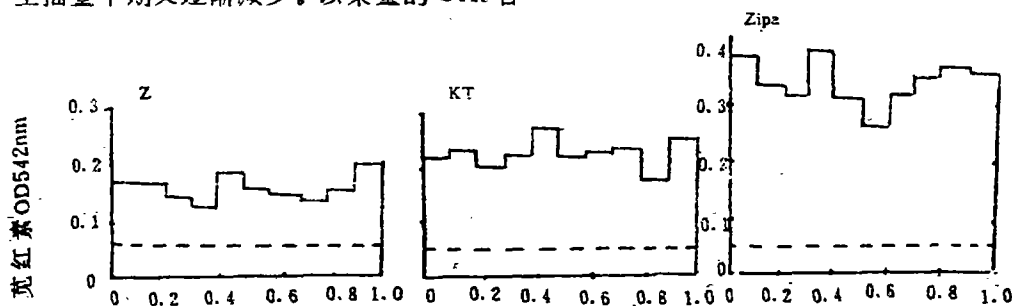


图 4 标准 Z、KT 和 Zipa 在硅胶薄板上展开后各区段的活性 (.....为对照值)

量来看, 在抽薹初期迅速增加, 到抽薹中期达到最大, 这时正是菜心植株及菜薹迅速生长期, 以后含量逐渐减少。这可以认为菜心花芽分化和菜薹形成与 CTK 有密切关系。CTK 积累在先, 然后花芽分化和菜薹形成。但需要的积累量不同, 前者的积累量较少, 后者较

大,并在菜薹形成过程茎端的一部分CTK,转移至菜薹,促进菜薹发育。

3 讨论

菜心花芽分化与菜薹形成机理的初步分析:据关佩聪等^[3]研究,菜心总糖,还原糖在花芽分化前渐增,至分化时达最高,以后逐渐降低,认为碳水化物积累至一定程度便开始花芽分化。菜心茎端生长点的CTK含量在未花芽分化之前逐渐增加,至分化前达到小高峰,分化过程逐渐减少,碳水化物的高峰刚好在CTK出现小高峰之后,表明两者之间有关系,CTK可能有利于物质向茎端生长点作用部位的调运,使代谢活动加强,从而促进花芽的分化。

花芽分化是抽薹的前提,抽薹是花芽分化以后,花茎伸长的现象。菜心的菜薹形成是抽薹现象,所不同者菜薹是柔嫩的肉质花茎。梁承愈等观察了菜心茎端的解剖结构,指出茎端细胞始终具有分裂能力,茎端和形成层的分裂活动使菜薹明显的伸长和增粗,茎薹中段尤为显著。菜心菜薹形成期间,总糖、还原糖、全氮、蛋白态氮和游离氨基酸等,在基叶的含量逐渐降低,而菜薹的含量增加,认为在菜薹形成过程中叶片的营养物质向菜薹运转^[3]。本研究又看到,茎端生长点的CTK含量变化在菜薹形成过程急速增加,到了抽薹初期达到大高峰,端生长点CTK含量至抽薹中后期逐渐减少。而菜薹的CTK含量在抽薹初期

迅速增加,到抽薹中期达最大,抽薹后期至采收期又逐渐减少。综合这些结果,初步认为,菜薹形成过程叶片的碳氮化合物向菜薹运转,提供了细胞分裂和生长需要的结构物质和能量,保证菜薹的发育,而CTK参与和调节这一过程。

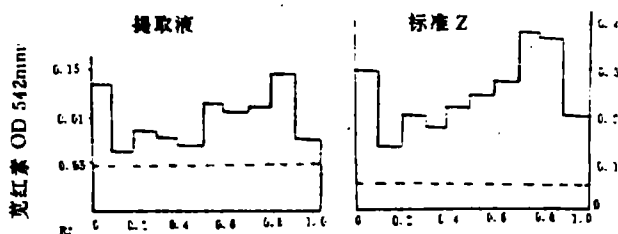


图5 提取液和标准Z在氧化铝薄板上展开后各区段的活性 (.....为对照值)

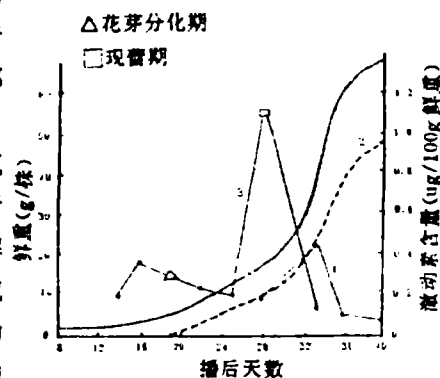


图6 菜心生育过程内源细胞分裂素的变化

1 植株鲜重 2 菜薹鲜重 3 茎端生长点 CTK 含量 4 菜薹 CTK 含量

参考文献

- 1 丁静,沈镇德,方亦雄等. 植物内源激素的提取分离和生物鉴定. 植物生理学通讯,1979(2):29~39
- 2 丁静,沈镇德. 棉花根系伤流中的细胞分裂素物质. 植物生理学报,1985,11(3):249~259
- 3 关佩聪,梁承愈. 菜心生长发育及产品器官形成的研究——菜薹形成与生长发育. 园艺学报,1985,12(1):29~34
- 4 李沛文,季作梁,梁立峰等. 荔枝大小年树营养芽及花芽分化与细胞分裂素的关系. 华南农业大学学报,1985,6(3):1~8
- 5 梁立峰,季作梁,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,

1983, 4(1): 37~42

- 6 梁承愈, 关佩聪. 菜心生长发育及产品器官形成的研究——花芽形态建成. 园艺学报, 1983, 10(3): 183~186
- 7 加藤彻. レタスのとう立ちに関する生理学的研究(2). 茎の伸長とホルモン代謝との関係. 園学雑, 1964, 33(2): 63~70
- 8 加藤彻. ハナヤサイの花の分化发育について(2). 花の分化发育に関する生理学的研究. 園学雑, 1964, 34(2): 49~56
- 9 斎藤隆, 伊东秀夫. トマトの生育ならびに开花结实に関する研究. (16). 花の发育ならびに形態にはジベレリンの影響. 園学要旨, 1973, 182~193
- 10 斎藤隆. ナスの开花・结实に関する研究(3). 苗の生育ならびに花芽形成に対する温度の影響. 生物环境调节, 1975, 13: 15~22

RELATION BETWEEN ENDOGENOUS CTK AND FLOWER BUD DIFFERENTIATION,
FLOWERING STALK FORMATION IN *Brassica parachinensis* Bailey

Huang Mintong Guan Peicong

(Department of Horticulture)

Abstract Changes of endogenous Cytokinins (CTK) during growth and development of *Brassica parachinensis* were investigated. The results showed that CTK existed in the growing tip, the flowering stalk and the its base part. The content of CTK in the growing tip increased gradually to a small peak value before flower bud differentiation and then decreased gradually. At the beginning of the flowering stalk formation the CTK content in growing tip rapidly increased again reaching a big peak value during the early stage, and then decreased. The CTK content in the flowering stalk increased quickly from early to middle stage, and reached the biggest content. During this period, the plant and flowering stalk both grew rapidly.

Key words *Brassica parachinensis* Bailey; Flower bud differentiation; Flower stalk formation; Endogenous Cytokinins (CTK); Bioassay