

文章编号: 1001-1498(2000)06-0646-06

空苞栗子房内源激素含量的变化与调节研究*

周志翔¹, 章文才¹, 涂炳坤¹, 夏仁学¹,

舒常庆¹, 汪长江², 徐向阳³

(1. 华中农业大学 林学系, 湖北 武汉 430070; 2. 湖北省京山县林业局, 湖北 京山 431800;

3. 湖北省罗田县林业局, 湖北 罗田 436600)

摘要: 应用酶联免疫吸附法(ELISA)测定了空苞栗子房和正常栗子房胚胎发育期的内源激素含量,并分析了BR、GA₃、PP₃₃₃对板栗子房和顶芽内源激素平衡的影响。结果表明,正常栗胚胎发育期子房内源GA₁₊₃、iPA_s含量和(GA₁₊₃+iPA_s)/ABA值呈现出“双峰”型变化模式;而子房内源ABA含量变化趋势相反,且幅度较小。空苞栗子房内源激素含量及其比值在整个胚胎发育期未出现明显的峰值,且子房内源GA₁₊₃、iPA_s含量和(GA₁₊₃+iPA_s)/ABA值呈下降趋势,ABA含量呈上升趋势。空苞栗子房内源激素GA₁₊₃、iPA_s含量和(GA₁₊₃+iPA_s)/ABA值在授粉期的低水平与授粉不良有关,而幼胚发育期的持续下降可能导致了子房营养物质供应不足及幼胚发育停滞。BR($\rho = 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)喷布提高了子房和顶芽中的GA₁₊₃、iPA_s、ABA含量及(GA₁₊₃、iPA_s)/ABA值,表现出对子房发育的促进作用;GA₃($\rho = 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)喷布使子房和顶芽中内源GA₁₊₃含量大幅度提高,ABA含量显著降低;PP₃₃₃($\rho = 1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)喷布显著降低了子房和顶芽中的GA₁₊₃含量,对促进板栗的胚胎发育极为有利。

关键词: 板栗; 子房; 内源激素; 空苞栗; 植物生长调节剂

中图分类号: S664.201

文献标识码: A

板栗(*Castanea mollissima* Bl.)空苞现象是制约我国板栗单产提高的主要因素之一。已有研究认为栗园硼(B)营养缺乏^[1~3]或品种亲和力低^[4,5]造成的授粉受精不良将形成板栗空苞;也有人认为子房营养供应不足,导致合子(受精卵)发育停滞,从而形成空苞^[6~8]。因而采取栗园增B、合理配置授粉品种和喷布多维营养元素的措施,均可不同程度地降低板栗空苞率^[1~7]。从植物内在生理角度看,果树授粉受精和座果情况受子房内源激素含量及平衡的调控^[9~13],据此研究者也推测可能是板栗子房中低含量的生长促进物质和高含量的抑制物质造成了合子分裂停滞^[6]。本研究拟通过空苞栗子房内源激素含量的对比测定和生长调节物质对子房内源激素平衡影响的分析,探讨板栗空苞发生的内在机理,为板栗空苞的调控提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验地点与材料

收稿日期: 2000-03-01

基金项目: 1995~1998年CAF-IDRG-CIFOR合作项目“退化林地改造及其社会经济手段研究”子课题的一部分

作者简介: 周志翔(1963),男,湖北麻城人,副教授,博士。

* 研究得到了竺肇华研究员、邓秀新教授、罗正荣教授、骆炳山教授的指导,谨致谢意。

试验于 1996~1997 年分别在湖北省京山县虎爪山林场和罗田县林科所进行。京山县试验点位于虎爪山南坡中下部, 坡度 10° , 土壤为黄棕壤, 全 N 含量 $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效 P $8.78 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 速效 K $48.33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值 5.8。在多年无人管理的板栗杂木林内选 5 株 15 年生的青毛早栗空苞树(空苞率 68% 以上), 并以附近板栗生产园正常结果(空苞率 16.7% 以下)的 5 株 12 年生青毛早为对照。罗田县林科所板栗园位于罗田县城关塔山南坡下部, 坡度 18° , 带状梯地, 土壤为砂质土, 全 N 含量 $1.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效 P $10.22 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 速效 K $53.84 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值 6.3; 试验园树龄 10~11 年生, 品种为桂花香, 株行距 $3 \text{ m} \times 4 \text{ m}$; 1995、1996 年调查板栗平均空苞率为 12.1%。板栗生产园均采取冬季施一次基肥, 春、夏各一次条状抚育, 冬季正常修剪成自然圆头树形, 病虫害防治等管理措施。

1.2 研究方法

1.2.1 试验设计

(1) 京山县虎爪山林场 5 株空苞树和 5 株正常结果树于茱萸花序基部雌花簇刚出现时(5 月 20 日左右)对各雌花簇挂牌标记, 以雌花柱头出现且反卷前为花后(授粉后)第零天, 记为 0, 并根据本地区正常结实板栗的胚胎发育过程^[6,7], 于花后第 5 天至 105 天每 10 天一次, 分别对雌花簇或总苞采样 30 枚以上。由于第 25 天时起, 空苞栗坚果明显比正常栗小, 因此从花后第 25 天起, 空苞树样品剔除坚果生长正常的少数样品作为空苞栗样品, 正常结果树样品则剔除坚果明显较小的少数样品, 作为正常栗样品。各取子房(后期含子叶)约 5 g(鲜质量)液氮固定, 迅速称取 0.3~0.5 g(鲜质量)样品 9 份, 编号登记后, 置 -40°C 下保存, 待测空苞树与正常结果树试样的内源激素含量。

(2) 在 3 种植物生长调节剂质量浓度试验的基础上, 选择对板栗开花结果作用显著的质量浓度水平^[14]: $\rho(\text{BR}) = 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (云大南亚厂产品 BR-120)、 $\rho(\text{GA}_3) = 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (华东师范大学化工厂产品)、 $\rho(\text{PP}_{333}) = 1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (15%的可湿性粉剂, 上海联合化工厂产品), 以清水对照(CK), 粉剂以 95% 酒精溶解, 均加入 $w = 0.05\%$ ween-20, 单株小区, 5 个重复, 随机区组排列。在罗田县林科所板栗园栗树展叶期(4 月 23~24 日)和花期(5 月 28~30 日)分别选择天气晴朗的早晨(9:00 前)集中进行叶面整株喷布, 滴水为止。在试验树冠外围中部选取结果母枝, 于板栗授粉期(6 月 5~6 日)分别取子房和顶芽鲜样约 5 g, 迅速称样、液氮固定后置于冰瓶带回, 置 -40°C 下保存, 以测定施用植物生长调节剂后结果母枝内源激素的含量水平。

1.2.2 内源激素含量的测定 样品分别置于有预冷的 $3 \text{ mL } \phi = 80\%$ 甲醇的小瓶中, 加入 $1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ BH(丁基羟基甲苯)和 $1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PVP(聚乙烯吡咯烷酮), -40°C 下浸提 60 d 以上^[15]。各取 300 μL 浸提液采用 ELISA 法^[16] 定量测定所有样品中的 GA_{1+3} 、 iPA_s 和 ABA 含量。其中激素酶联免疫检测试剂盒及酶标板由南京农业大学提供, 检测读数使用 DG3022A 型酶联免疫检测仪(南京华东电子管厂制造), 波长 490 nm。

2 结果与分析

2.1 空苞树与正常结果树板栗胚胎发育期子房内源激素含量的变化

板栗胚胎发育期(花后第 5 天至花后第 105 天)子房内源 GA_{1+3} 、 iPA_s 、ABA 含量的测定结果(表 1)表明, 在板栗授粉早期(花后 5 d)正常栗与空苞栗的内源激素含量及其比例没有差异。伴随着授粉过程和合子原胚的发育^[6], 正常栗子房内源 GA_{1+3} 、 iPA_s 含量和($\text{GA}_{1+3} +$

iPA_s)/ABA 值分别在花后 25 d(6月中旬)和花后 75 d(8月上旬)出现 2 次峰值,授粉始期(5月下旬)、花后 45 d(7月上旬)和果实成熟期(9月上旬)含量较低,均呈现出“双峰”型变化模式;而子房内源 ABA 含量变化趋势相反,且幅度较小。空苞栗子房相应的内源激素含量及其比值在授粉后即开始表现出与正常栗有差异,在整个胚胎发育期未出现明显的峰值,且子房内源 GA₁₊₃、iPA_s 含量和(GA₁₊₃+iPA_s)/ABA 值呈下降趋势,ABA 含量呈上升趋势。

表 1 板栗胚胎发育期子房内源激素含量 $\text{pmol} \cdot \text{g}^{-1}$

花后天数/d	GA ₁₊₃		iPA _s		ABA		(GA ₁₊₃ +iPA _s)/ABA	
	NCO ^①	ECO ^②	NCO	ECO	NCO	ECO	NCO	ECO
5	10.99	10.65	106.78	103.88	51.53	52.04	2.29	2.20
15	15.93	13.75	127.81	105.42	46.41	49.33	3.10	2.42
25	20.97	15.74	164.13	75.35	36.07	42.53	5.13	2.14
35	18.01	13.22	149.09	52.71	38.25	49.72	4.37	1.33
45	17.80	8.21	112.37	28.63	42.25	59.64	3.08	0.62
55	22.12	7.88	145.69	11.67	32.59	67.34	5.15	0.29
65	25.13	7.64	154.01	6.53	29.83	82.34	6.01	0.17
75	26.98	7.43	164.71	5.38	28.42	79.54	6.74	0.16
85	23.92	5.85	144.44	6.39	31.61	88.63	5.33	0.14
95	19.86	5.63	132.45	3.97	30.92	86.58	4.90	0.11
105	16.49	4.43	110.79	2.75	43.46	93.05	2.93	0.08

①NCO——正常栗子房,②ECO——空苞栗子房;表中为每克鲜物质的内源激素含量,表 2 同。

2.2 生长调节剂对内源激素含量的影响

2.2.1 生长调节剂对子房内源激素含量的影响 BR 喷布使授粉期子房中内源 GA₁₊₃、iPA_s 含量显著提高,分别比对照提高 25.7%和 63.2%,同时也提高了子房内源 ABA 含量(比对照高 6.5%),但(GA₁₊₃+iPA_s)/ABA 值仍大幅度提高,达到 3.40,比对照增加了 47.2%(表 2)。GA₃喷布也明显增加了子房内源 GA₁₊₃、iPA_s 含量,分别比对照提高 42.3%和 20.2%,同时大幅度降低了内源 ABA 含量(比对照低 23.3%),因而也有效地提高了(GA₁₊₃+iPA_s)/ABA 值(比对照高 61.0%)(表 2)。与 BR 喷布相比,GA₃在提高子房内源 GA₁₊₃及降低 ABA 含量上效果更为明显,因而对板栗结果母枝中激素合理配比的调节效果更显著。叶面喷布 PP₃₃₃则使子房内源 GA₁₊₃含量大幅度减少,比对照降低 36.9%,而 iPA_s、ABA 水平均有升高,分别比对照提高了 14.6%、8.4%,而(GA₁₊₃+iPA_s)/ABA 值无显著变化(表 2)。与 BR 和 GA₃ 喷布不同,PP₃₃₃明显降低了子房 GA₁₊₃含量,并使 ABA 含量有较大的上升,由于 iPA_s 含量也有所上

表 2 不同生长调节剂对板栗子房和顶芽内源激素含量的影响 $\text{pmol} \cdot \text{g}^{-1}$

内源激素	项目	子 房				顶 芽			
		0.01 mg·L ⁻¹	300 mg·L ⁻¹	1000 mg·L ⁻¹	CK(清水)	0.01 mg·L ⁻¹	300 mg·L ⁻¹	1000 mg·L ⁻¹	CK(清水)
GA ₁₊₃	含量 ^①	20.85	23.61	10.47	16.59	28.35	43.68	14.06	25.03
	增量 ^① /%	25.7	42.3	-36.9	0	13.3	74.5	-43.8	0
iPA _s	含量	137.42	101.18	96.53	84.21	188.50	180.51	182.40	171.01
	增量/%	63.2	20.2	14.6	0	10.2	5.6	6.7	0
ABA	含量	46.51	33.52	47.35	43.68	23.68	17.47	29.35	22.67
	增量/%	6.5	-23.3	8.4	0	4.5	-22.9	29.5	0
(GA ₁₊₃ +iPA _s)/ABA	含量	3.40	3.72	2.26	2.31	9.17	12.26	6.69	8.65
	增量/%	47.2	61.0	-2.2	0	6.0	41.7	-22.7	0

①比对照增加的百分数,其中的负数表示比对照降低的百分数。

升,因此子房中内源激素含量比例无明显的变化。

2.2.2 生长调节剂对顶芽内源激素含量的影响 新梢顶芽在喷布 BR 后,内源 GA_{1+3} 、 iPA_s 、ABA 含量和 $(GA_{1+3} + iPA_s) / ABA$ 值均有所增加,分别比对照提高 13.3%、10.2%、4.5% 和 6.0% (表2)。从其上升的幅度看,顶芽中各种激素含量的增加率不如子房的高,其总体激素水平仍表现出一定的促进生长的趋势。 GA_3 喷布使顶芽中内源 GA_{1+3} 、 iPA_s 含量及 $(GA_{1+3} + iPA_s) / ABA$ 值提高,分别比对照高 74.5%、5.6% 和 41.7%,而使顶芽内源 ABA 下降 22.9% (表2)。顶芽中 GA_{1+3} 含量的显著提高,且抑制物 ABA 含量明显下降,其生长类激素与抑制物的比值也大幅度上升,因而 GA_3 喷布使顶芽中的内源激素的总体水平的变化有利于促进伸长生长。PP₃₃₃ 的喷布则使顶芽中 GA_{1+3} 含量和 $(GA_{1+3} + iPA_s) / ABA$ 值明显下降,分别比对照低 43.8% 和 22.7%,而 ABA 含量比对照高 29.5% (表2),因而 PP₃₃₃ 喷布明显使顶芽的内源激素总体水平向抑制生长的方向变化。

3 讨论

正常栗胚胎发育期(花后第5~105天)子房中的 GA_{1+3} 、 iPA_s 含量和 $(GA_{1+3} + iPA_s) / ABA$ 值均有2个峰值,低谷则在球形胚阶段(花后第45天)^[6](表1);而 ABA 含量的变化趋势相反,且变化幅度较小。因此,板栗子房生长类激素的第一次上升过程和抑制物 ABA 的第一次下降过程出现在授粉以后,可见板栗授粉促进了子房 GA_{1+3} 和 iPA_s 含量的升高和 ABA 含量的下降,这与其它果树及作物授粉后的子房内源 GA_{1+3} ^[9,10]、 $C K^{[11]}$ 、 $ABA^{[17]}$ 含量的变化趋势一致。而受精作用前后(花后第25~45天)的生长类激素下降过程和 ABA 的微略上升,在其它果树的激素分析中均未见报道,这可能是板栗子房内源激素变化的一个特点。一方面板栗从授粉到受精所经历的时期较长,另一方面二次梢的发生也在6月中旬开始,可能生长类激素在芽中的积累抑制了子房生长类激素的积累及子房膨大。然而,空苞栗子房中 GA_{1+3} 、 iPA_s 含量和 $(GA_{1+3} + iPA_s) / ABA$ 值在花后第15天即比正常栗低,ABA 含量也开始比正常栗高(表1),只是 GA_{1+3} 和 ABA 含量在6月中旬分别出现1次微略的峰值与低谷,但其 GA_{1+3} 含量仍比同期正常栗低 24.04%,且 ABA 比正常栗高 17.91%,空苞栗子房 GA_{1+3} 、 iPA_s 含量及 $(GA_{1+3} + iPA_s) / ABA$ 值在胚胎发育期呈下降趋势,而 ABA 含量呈上升趋势。这种变化趋势已经证明与授粉不良有关^[9~11,17,18],从而抑制了大孢子母细胞的分裂。幼胚发育期(花后第45~65天)空苞栗子房中内源 GA_{1+3} 、 iPA_s 含量和 $(GA_{1+3} + iPA_s) / ABA$ 值继续下降,ABA 含量持续上升,并不出现像正常栗子房中生长类激素的第2次上升过程,因而可能是抑制子房对营养物质的吸收与运转,导致子房营养供应不足、幼胚发育受阻^[6~8,12,13],从而形成空苞的根本原因。

BR ($\rho = 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 喷布对板栗子房内源激素的影响比顶芽更大,在提高 iPA_s 含量、促进细胞分裂上的作用最明显,同时也具有促进顶芽生长的作用。喷布试验表明,质量浓度为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 BR 溶液能有效提高子房和顶芽中内源 GA_{1+3} 、 iPA_s 含量及 $(GA_{1+3} + iPA_s) / ABA$ 值,并同时提高了子房中的 ABA 含量(表2)。尽管 BR 也提高了板栗和黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 组织的 ABA 含量,但黄瓜下胚轴中 GA/ABA 值^[19] 和板栗子房顶芽中 $(GA_{1+3} + iPA_s) / ABA$ 值却仍大幅度提高,因而喷布 BR 后其内源激素比例仍表现出促进生长的作用。 GA_3 ($\rho = 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 喷布对提高子房和顶芽中 GA_{1+3} 含量的作用最明显,并大幅度地降低

内源 ABA 含量,因而在促进细胞生长上的作用最明显。但 GA_3 对顶芽内源激素总体水平的显著作用,可导致有限的树体营养首先满足营养生长而抑制生殖生长^[20],因而在板栗上应避免使用。 PP_{333} ($\rho = 1\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 喷布则可大幅度降低子房和顶芽中的 GA_{1+3} 含量,并提高顶芽 ABA 含量,但对子房内源激素的总体含量水平影响不明显。施用 PP_{333} 则表现出明显抑制顶芽生长的趋势,对促进胚胎发育、提高座果率有利^[20]。

参考文献:

- [1] 何锡山,兰卫宗,高新一.花期喷硼及土壤施硼对降低板栗空苞率的作用[J].北京农业科学,1989,(5):36~40.
- [2] 王姝清,孔润仓,耿增超,等.喷施硼肥对降低板栗空苞率的研究[J].西北林学院学报,1990,5(4):71~75.
- [3] 张力田,黄宏文,张忠慧,等.板栗空苞研究[J].果树科学,1995,12(增刊):121~123.
- [4] 范邦文,罗舜炯.板栗授粉品种组合测交研究[J].江西农业大学学报,1993,15(4):371~375.
- [5] 夏仁学,马梦亭.板栗(*Castanea mollissima* Bl.)空苞形成因子的研究 I.授粉受精对板栗空苞的影响[J].华中农业大学学报,1989,8(3):242~247.
- [6] 杜国华,周良骊,谢中稳,等.板栗空苞机理的研究[J].果树科学,1995,12(1):5~9.
- [7] 杜国华,周良骊,谢中稳,等.板栗空苞机理及增产技术研究[J].安徽农业科学,1994,22(2):184~186.
- [8] 袁艺,杜国华,谢中稳,等.板栗空苞发生的主要营养物质的变化[J].武汉植物学研究,1997,15(3):243~249.
- [9] 王近卫,堀内昭作.授粉处理对葡萄内源赤霉素的影响[J].植物生理学报,1991,17(4):411~414.
- [10] 牛自勉,王贤驹,李全,等.苹果花期前后子房内源激素的变化[J].园艺学报,1996,23(3):291~292.
- [11] 张上隆,陈昆松,叶庆富,等.柑桔授粉处理和单性结实子房(幼果)内源 IAA、ABA 和 Z 含量的变化[J].园艺学报,1994,21(2):117~123.
- [12] Ram S. Hormonal control of fruit growth and fruit drop in *Mango* cv. Dashehart [J]. *Acta Hort*, 1983, 134: 169~178.
- [13] Yuan R C, Huang H B. Litch fruit abscission, its patterns effect of shading and relation to endogenous abscisic acid [J]. *Scientia Hort*, 1988, 36: 281~291.
- [14] 周志翔,徐永荣,王鹏程,等.几种化学调节剂及其组合对板栗雌花数量及结实性能的影响[J].林业科学研究,2000,13(2):153~159.
- [15] 周志翔.低温浸提法提取板栗器官中的内源激素[J].植物生理学通讯,1999,(5):45~47.
- [16] 吴颂如,陈婉萍,周燮.酶联免疫法(ELISA)测定内源植物激素[J].植物生理学通讯,1988,(5):55~57.
- [17] 吕忠恕,王伟民,张承烈,等.开花前后子房中生长调节物质的变化及其与结果及单性结实的关系[J].植物生理学报,1979,5(3):253~260.
- [18] 周志翔,徐永荣,王鹏程,等.板栗子房内源激素含量与空苞形成关系的研究[J].华中农业大学学报,1999,18(1):88~91.
- [19] 徐如涓,郭一松,赵毓橘.表油菜素内酯对黄瓜下胚轴伸长、内源 GA_3 、ABA 及淀粉含量的影响[J].植物生理学报,1990,16(2):125~130.
- [20] 朱长进,刘庆春,赵丽华,等.生长调节剂与板栗生长、成花与结果的研究[J].林业科学研究,1992,5(3):311~316.

Study on Changes and Regulations of Endogenous Hormones in Empty-shell Chestnut Ovary

ZHOU Zhi-xiang¹, ZHANG Wen-cai¹, TU Bing-kun¹, XIA Ren-xue¹,

SHU Chang-qing¹, WANG Chang-jiang², XU Xiang-yang³

(1. Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China;

2. Jingshan County Bureau of Forestry, Jingshan 431800, Hubei, China;

3. Luotian County Bureau of Forestry, Luotian 436600, Hubei, China)

Abstract: The contents of endogenous hormones in empty-shell chestnut ovary and normal chestnut ovary during the period of embryo development were determined, and the effects of BR, GA₃, PP333 on the endogenous hormone levels in ovary and top shoot of Chinese chestnut were analyzed by means of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results showed that, the contents of endogenous GA₁₊₃, iPA_s and the ratio of (GA₁₊₃ + iPA_s)/ABA in normal chestnut ovary showed as a “double peaks” model, while the content of endogenous ABA in ovary tended to reversely change by a small range. In contrast, the endogenous hormone contents and their ratio in empty-shell chestnut ovary showed no obvious peak, the contents of endogenous GA₁₊₃, iPA_s and the ratio of (GA₁₊₃ + iPA_s)/ABA appeared a descending trend while the endogenous ABA content appeared an ascending trend during whole embryo developmental period. The lower levels of endogenous GA₁₊₃, iPA_s and the ratio of (GA₁₊₃ + iPA_s)/ABA during the pollination period were related with poor pollination, and the decreases of those during the period of young embryo development could cause a serious lack of nutritious substances in ovary and a cease of young embryo development. Foliar spraying of BR (0.01 mg·L⁻¹) could increase the levels of endogenous GA₁₊₃, iPA_s, ABA and the ratio of (GA₁₊₃ + iPA_s)/ABA in ovary and top shoot respectively, which showed a positive effect on embryo development. A considerable increase of endogenous GA₁₊₃ level and a sharp decrease of endogenous ABA level in ovary and top shoot commenced with foliar spraying of exogenous GA₃ (300 mg·L⁻¹). Foliar spraying of PP333 (1 000 mg·L⁻¹) could obviously decline the content of endogenous GA₁₊₃ in ovary and top shoot and increase the content of endogenous ABA in top shoot, which could be of benefit to embryo development of Chinese chestnut.

Key words: *Castanea mollissima*; embryo; endogenous hormone; empty-shell chestnut; plant growth regulator