

不同春石斛品种扦插苗茎尖激素含量与其成花品质关系

贾梦雪, 樊翠霞, 狄玮, 邹成勇, 刘燕*

北京林业大学园林学院, 国家花卉工程技术研究中心, 花卉种质创新与分子育种北京市重点实验室, 城乡生态环境北京实验室, 北京100083

摘要: 为探讨春石斛扦插苗生长发育过程中内源激素与成花品质的关系, 本研究以成花品质不同的2个品种‘森禾H1’和‘森禾4001’为试材, 对其一年生扦插苗生长发育过程中5个不同阶段茎尖内源激素含量进行了比较分析。结果显示: 整个生长发育过程中, 2个品种扦插苗茎尖中赤霉素(GA_3)、吲哚乙酸(IAA)、脱落酸(ABA)含量以及 GA_3 /IAA、 GA_3 /ABA、(GA_3 +IAA)/ABA变化趋势相似。成花品质较好的‘森禾H1’, 其 GA_3 、 GA_3 /IAA、 GA_3 /ABA、(GA_3 +IAA)/ABA, 除了在休止叶后期外, 其他时期均一直显著高于成花品质较差的‘森禾4001’, 而其ABA含量在萌动期、展叶期、旺盛生长期显著低于‘森禾4001’, IAA含量没有显示出规律性。结果表明, 春石斛扦插苗的一些内源激素含量及比例与其后期成花品质密切相关, 可作为优良品种早期筛选的参考指标。

关键词: 春石斛; 内源激素; 扦插苗; 品种筛选

The Relation between Endogenous Hormones in Shoot Tips of Nobile-Type *Dendrobium* Young Cutting Plant and Flowering Quality

JIA Meng-Xue, FAN Cui-Xia, DI Wei, ZOU Cheng-Yong, LIU Yan*

Beijing Laboratory of Urban and Rural Ecological Environment, Beijing Key Laboratory of Ornamental Plants Germplasm Innovation & Molecular Breeding, National Engineering Research Center for Floriculture, College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Abstract: The aim is to explore the relations between flowering quality and endogenous hormones in growth process of nobile-type *Dendrobium* young cutting plants. Hormones in shoot tips at five growth stages from two nobile-type *Dendrobium* cultivars, *D.* ‘Senhe H1’ and *D.* ‘Senhe 4001’, with different flowering quality, were studied comparatively. The results showed that changes of gibberellin acid (GA_3), indole-3-acetic acid (IAA), abscisic acid (ABA), GA_3 /IAA, GA_3 /ABA, (GA_3 +IAA)/ABA in shoot tips of two cultivars were similar. But GA_3 , GA_3 /IAA, GA_3 /ABA, (GA_3 +IAA)/ABA from ‘Senhe H1’ with a better flowering quality were always significantly higher, except the later period of resting leaf appearing. Whereas the ABA contents of ‘Senhe 4001’ with a bad flowering quality were significant higher at sprouting, leaf-expansion and vigorous growth stages. IAA content showed no regularity in variation. These results indicated that some hormonal contents and ratios were closely related to the flowering quality, which could be used as reference indexes for early screening of elite cultivars.

Key words: nobile-type *Dendrobium*; endogenous hormones; cuttings; cultivars screening

春石斛(nobile-type *Dendrobium*)作为一种高档盆花, 其花姿优美, 花色、花型丰富, 花期长, 极具观赏价值, 深受消费者喜爱, 是当今在日本、英、美等国非常流行的高档盆花。春石斛花期多集中在2~4月, 正值春节前后, 在中国具有广阔的市场前景(王雁等2007)。近年中国开始较多栽培与研究(张孟锦等2011)。除了引进国外品种外, 一些企业也开始培育新品种。由于春石斛营养生长期较长, 为了节省时间和人力物力, 研究优良品种的早期筛选具有重要意义, 但目前相关方面研究未见报道。

植物激素在植物生长发育过程中起到重要的调节作用。吲哚乙酸(IAA)是最重要的天然植物生长素, 促进植物细胞及茎的伸长生长, 诱导根的分化(Teale等2006; Davies 2004)。赤霉素(GA_3)和脱落酸(ABA)调节植物形态建成及生长发育, 两者作用是相互拮抗的(Jones 1973; Steber和McCourt

收稿 2014-12-04 修定 2015-01-19

资助 国家“十二五”支撑计划课题(2011BAD12B02-01)。

* 通讯作者(E-mail: chblyan@163.com; Tel: 010-62336062)。

2001; Ray 1986), GA_3 促进植物茎的伸长(Alam等2012; Potter等1993), ABA则限制植物的生长(曹显祖等2002)。另外, 植物激素往往通过相互间的交互作用调节植物的生长发育过程。有关春石斛激素方面的研究主要集中在组织培养上(毛碧增等2003; 贾梦雪等2013), 而关于其内源激素研究报道较少(钱桦等2009), 有一些报道石斛属植物激素与花芽分化的研究(Campos和Kerbaudy 2004; de Melo Ferreira等2006; Sim等2008), 有关激素与植物生长的关系仅见霍山石斛的研究(蔡永萍等2004)。

本研究通过对不同成花品质春石斛品种扦插苗茎尖内源激素含量的动态变化进行比较, 分析探讨成花品质优良的品种其扦插苗生长过程中的激素特征, 为春石斛优良品种早期筛选提供依据。

材料与方 法

1 材料

本试验于2008年8月至2010年3月在国家花卉工程技术研究中心小汤山基地进行。以2个成花品质不同的春石斛品种‘森禾H1’(*Dendrobium nobile* Lindl. ‘Senhe H1’)和‘森禾4001’(*Dendrobium nobile* Lindl. ‘Senhe 4001’)扦插苗为试材, 插穗取自三年生假鳞茎中部带1个腋芽的3~4 cm茎段, 由浙江森禾种业股份有限公司提供。

2 方法

2.1 取材时间

将春石斛扦插苗生长发育过程划分为5个阶段(图1), 分别为萌动期(2008年8月中旬~2008年11月)、展叶期(2008年12月~2009年1月)、旺盛生长期(2009年2月~2009年8月)、休止叶期(2009年9月~2009年11月)及休止叶后期(2009年12月

~2010年3月)。

分别于萌动期(2008年10月9日)、展叶期(2009年1月13日)、旺盛生长期(2009年7月13日)、休止叶期(2009年12月5日)及休止叶后期(2010年1月13日)取样。在前2个时期分别随机取50个芽体, 剥去外层的芽鳞, 仅保留2~3 mm幼嫩的茎尖; 后3个时期分别随机取50株植株2~3 mm长的茎尖。试材置于冰盒中带回实验室, 立即用液氮速冻15 min, 置于-80 °C的超低温冰箱中保存备用, 测定时每份样品称取0.5 g, 重复3次。

2.2 测定方法

内源激素的提取参照丁静等(1979)和陈华君等(1991)的方法并加以改进, 将提取过程中的过滤改为低温离心, 提高提取效率。具体步骤为: 准确称量0.5 g样品, 加入预冷的80% (V/V)甲醇10 mL迅速研磨, 于4 °C冰箱过夜。于4 °C下, 7 000×g离心20 min, 取上清液, 残渣用8 mL预冷的80%甲醇分两次冲洗, 7 000×g离心20 min, 合并上清液。于40 °C旋转蒸干剩水相, 转至离心管, -20 °C和常温冻融3次, 加入0.2 g PVPP充分震荡15 min, 7 000×g离心20 min, 取上清液。pH调至2.5~3.0, 用等体积乙酸乙酯萃取3次, 得乙酸乙酯相和水相。乙酸乙酯相于40 °C蒸干, 用1 mL流动相溶解, 经0.22 μm有机微孔滤膜过滤至样品瓶中, 用于 GA_3 、IAA、ABA的HPLC测定。

测定采用高效液相色谱(HPLC)法, 用外标法定量, 植物激素标样IAA、 GA_3 、ABA均为Sigma公司的产品。色谱条件: Agilent 1100 series高效液相色谱仪, Agilent C18柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。测定IAA、 GA_3 、ABA的流动相为: 色谱甲醇-0.1 mol·L⁻¹乙酸的混合溶液(3:97=V:V), 柱温箱控制在

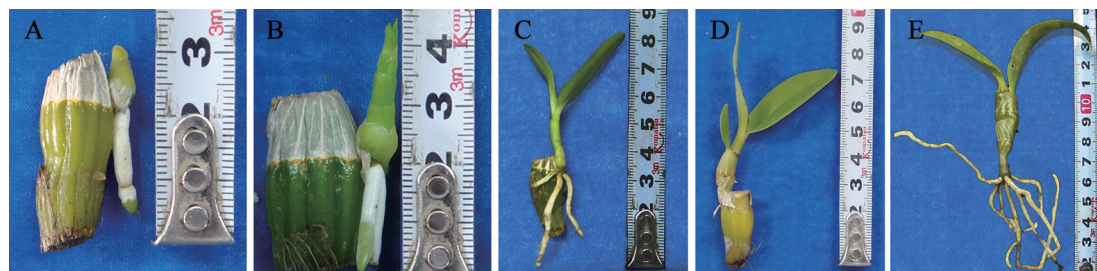


图1 春石斛一年生扦插苗的生长阶段

Fig.1 The growth stages of young cutting plant of nobile-type *Dendrobium*

A: 萌芽期; B: 展叶期; C: 旺盛生长期; D: 休止叶期; E: 休止叶后期。

30 °C, 二极管阵列检测器检测。激素的检测波长分别为: IAA-280 nm、ABA-260 nm、 GA_3 -210 nm, 流速为 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。激素含量皆在鲜重下测定。

2.3 数据处理及分析

采用Microsoft Excel及SPSS Statistics 18.0软件对数据进行处理及差异显著性分析(Duncan法), 用Origin软件绘图。

实验结果

1 2个品种扦插苗生长发育过程中 GA_3 含量变化

由图2-A得知, 在扦插苗整个生长发育过程中, 2个春石斛品种茎尖内 GA_3 含量的变化趋势相同, 均在旺盛生长期达到最高值。但成花品质较好的‘森禾H1’其 GA_3 含量始终高于成花品质较差的‘森禾4001’。两者的差值也在旺盛生长期达到最大。

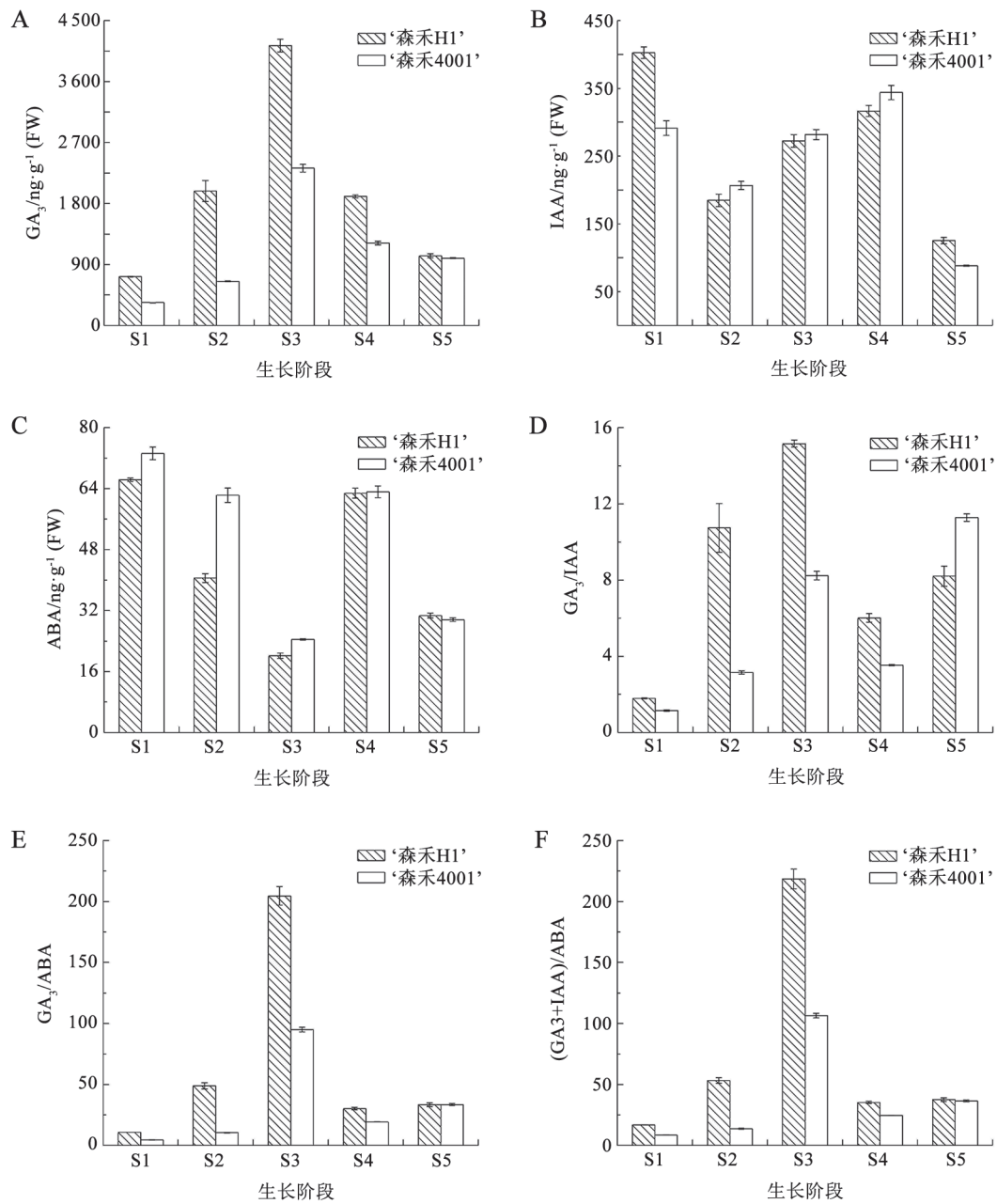


图2 2个春石斛品种一年生扦插苗生长过程中茎尖内源激素含量变化

Fig.2 Changes of endogenous hormone levels in shoot tips of two noble-type *Dendrobium* cultivars during the growth stages

S1: 萌芽期; S2: 展叶期; S3: 旺盛生长期; S4: 休止叶期; S5: 休止叶后期。

2 2个品种扦插苗生长发育过程中IAA含量变化

由图2-B得知,在扦插苗生长发育整个过程中,2个春石斛品种茎尖内IAA含量均呈现降-升-降的变化趋势,从展叶期逐渐升高,至休止叶期达到峰值,而后迅速下降到最低值。成花品质较好的品种‘森禾H1’茎尖内IAA含量在展叶期至休止叶期低于成花品质较差的‘森禾4001’。

3 2个品种扦插苗生长发育过程中ABA含量变化

由图2-C得知,在扦插苗整个生长发育过程中,2个春石斛品种茎尖内ABA含量变化同样呈现降-升-降的趋势,自扦插初期的最高值,迅速下降,在旺盛生长期达到最低值,而后逐渐上升,至休止叶期再次达到一个峰值。除休止叶后期外,其他时期‘森禾4001’茎尖内ABA含量均高于‘森禾H1’。

4 2个品种扦插苗不同激素比的变化

由图2-D~F可以看出,2个成花品质不同的春石斛品种,其扦插苗在生长发育过程中,茎尖 GA_3/IAA 、 GA_3/ABA 、 $(GA_3+IAA)/ABA$ 比值均呈现相同的单峰变化趋势,除了休止叶后期,成花品质较好的‘森禾H1’这几项比值一直明显高于成花品质较差的‘森禾4001’,这种差异在展叶期和旺盛生长期更为明显,特别是在旺盛生长期尤其显著。

讨 论

早期筛选的研究多集中在植物抗性、作物品质及产量、杂交优势等方面,多数通过观测分析不同指标之间的关系,找出可能的预测指标。一些研究,通过试管开花的方法成功预测出石斛兰的花朵大小、形态、颜色等特征(Wang等1997, 2009; Sim等2007)。但关于早期预测总体成花品质如开花量、开花节数、成花率等研究未见报道。本研究组在研究中注意到,春石斛品种‘森禾H1’的群体成花率、总花量、单株开花率等能够反应成花品质特征的指标均显著高于‘森禾4001’,且每节开花数以2~3节为主,而后者以每节1~2朵花居多。在整个生长发育过程中,成花品质较好的‘森禾H1’扦插苗根数均少于成花品质较差的‘森禾4001’;除扦插初期外,‘森禾H1’扦插苗的茎粗、株高、叶面积、节数、节长、根数、根长等形态指标均高于‘森禾4001’。认为扦插苗生长发育与其以后的成花品质存在相关性。

植物激素在植物代谢、生长、形态建成等各个方面起着非常重要的作用(蔡传杰和陈善娜2001; 林鸿宣2013)。关于植物激素对植物生长发育影响的研究报道较多(Santner等2009; Vanstraelen和Benková 2012; Wang和Irving 2011)。本研究发现,2个春石斛品种的扦插苗在整个生长发育过程中,其茎尖激素含量及不同激素比值均呈现相似的动态变化趋势,说明激素在春石斛扦插苗的生长发育过程中有调控作用,而不同品种含量高低不同表明了其生长发育的差异。

IAA是最主要的生长素,在植物生长发育中起重要作用(Woodward和Bartel 2005; Zhao 2010)。本研究中,扦插苗芽体萌动的同时也开始生根,此时IAA含量较高,说明IAA在芽体根的形成中起重要作用(Blakesley等1991)。在展叶期,真叶展开,但无茎节区分,IAA含量急速下降,推测IAA含量的急速降低利于植物展叶(潘根生等2000)。休止叶期及休止叶后期植株停止生长,叶片部分枯落,此时IAA含量达到最低。

GA_3 是一种常见的植物激素,在高等植物的各个生长发育阶段都具有重要的调控作用(张国华等2009),其最显著的效应是促进植物茎伸长(李保珠等2011)。本研究中,春石斛扦插苗旺盛生长期地上部分迅速生长,茎节显著伸长,此时 GA_3 含量达到整个生长发育期的最高值,表明 GA_3 促进植株增高及茎节伸长(Kende等1998; 蔡永萍等2004)。

ABA在植物的生长发育过程中起着重要的生理调控作用(Himmelbach 1998; 谭红和李志东1997)。本研究发现,在旺盛生长期,扦插苗地上部分迅速生长,ABA含量降至整个生长发育期的最低;进入休止叶期,植株封顶,株高不再有明显增加,茎节逐渐增粗成熟,出现落叶,在此期间ABA迅速升高。表明ABA抑制植物的生长发育,促进植株成熟(Rehm和Cline 1973)。

植物激素间的相互作用在植物生命周期中是必不可少的。IAA和赤霉素(GA)都能促进植物茎的伸长,活性GA和IAA可能各自正向调节对方的生物合成和水平,并通过控制不同过程共同促进茎的伸长(Yang等1996)。促进和抑制激素的平衡对植物生长有重要作用。蔡永萍等(2004)的研究发现,GA、ABA对生长势的控制是相互制约的,

GA/ABA比值是霍山石斛茎高生长的调控因子之一。Cox等(2004)的研究表明, GA/ABA调控深水水稻节间的伸长速率。(GA₃+IAA)/ABA的值则能反映植物的生长与休止状况(马海燕等2007)。本研究中, 扦插苗生长初期, GA₃/IAA、GA₃/ABA、(GA₃+IAA)/ABA三者均处于最低值, 随着叶片的展开, 逐渐升高, 至旺盛生长期达到最大值, 进入休止叶后期, 植株封顶, 三者均降至较低状态, 与前述促进激素和抑制激素的平衡调节植物生长的规律一致。

本研究中, 春石斛2个成花品质不同的品种, 其扦插苗在生长发育过程中, 激素含量及不同激素的比值有显著差异, 其中GA₃、GA₃/IAA、GA₃/ABA、(GA₃+IAA)/ABA与成花品质优劣表现出明显正相关性, 在展叶期和旺盛生长期尤其显著; ABA含量与成花品质呈现负相关性, 在萌动期到旺盛生长期尤其显著。因此, 扦插苗的这些指标高低与成花品质密切相关, 可作为品种早期筛选的参考指标, 而IAA没有显示出规律性变化。

参考文献

- 蔡传杰, 陈善娜(2001). 植物激素的研究进展. 云南大学学报, 23 (S1): 99~101
- 蔡永萍, 李玲, 林毅, 李合生, 骆炳山(2004). 霍山三种石斛的内源GA、ABA含量对茎高生长的影响. 激光生物学报, 13 (5): 345~348
- 曹显祖, 汤日圣, 王红(2002). MeJA对水稻种子萌发和秧苗生长的调控效应. 作物学报, 28 (3): 333~338
- 陈华君, 王天华, 金幼菊(1991). 用GC-MS-SIM测定植物中IAA含量方法的研究. 北京林业大学学报, 13 (3): 57~61
- 丁静, 沈镇德, 方亦雄, 冯秀香, 李琳, 倪晋山(1979). 植物内源激素的提取分离和生物鉴定. 植物生理学通讯, 15 (2): 27~39
- 贾梦雪, 徐瑾, 叶香娟, 刘芊, 王喆, 刘燕(2013). 春石斛优良品种‘森禾2006’组培快繁体系的建立. 植物生理学报, 49 (12): 1363~1367
- 李保珠, 赵翔, 安国勇(2011). 赤霉素的研究进展. 中国农学通报, 27 (1): 1~5
- 林鸿宣(2013). 植物激素领域最新力作——《植物激素作用的分子机理》. 植物生理学报, 49 (6): 598~599
- 马海燕, 王美丽, 张振文(2007). 葡萄新梢生长过程中内源激素含量的动态变化. 西北农业学报, 16 (4): 177~179
- 毛碧增, 李凤玉, 王春, 李德葆(2003). 春石斛组织培养技术研究. 浙江大学学报(理学版), 30 (5): 580~583
- 潘根生, 钱利生, 沈生荣, 吴伯千(2000). 茶树新梢生育的内源激素水平及其调控机理(第二报)茶树休眠与内源激素的关系. 茶叶, 26 (4): 200~204
- 钱桦, 刘燕, 郑勇平, 俞继英, 范文锋(2009). 施用6-BA对春石斛花芽分化及内源激素的影响. 北京林业大学学报, 31 (6): 27~31
- 谭红, 李志东(1997). 植物激素脱落酸的研究与应用. 中国科学院院刊, 12 (4): 289~290
- 王雁, 李振坚, 彭红明(2007). 石斛兰: 资源·生产·应用. 北京: 中国林业出版社, 74~75
- 张国华, 张艳洁, 丛日晨, 赵琦, 董克奇, 古润泽(2009). 赤霉素作用机制研究进展. 西北植物学报, 29 (2): 412~419
- 张孟锦, 陈文贞, 杨志娟, 江秀娜, 林汉锐(2011). 春石斛生物学特性及栽培技术研究进展. 中国农学通报, 27 (6): 35~39
- Alam MM, Naeem M, Idrees M, Khan MMA, Moinuddin (2012). Augmentation of photosynthesis, crop productivity, enzyme activities and alkaloids production in *Sadabahar (Catharanthus roseus L.)* through application of diverse plant growth regulators. J Crop Sci Biotech, 15 (2): 117~129
- Blakesley D, Weston GD, Hall JF (1991). The role of endogenous auxin in root initiation. Plant Growth Regul, 10 (4): 341~353
- Campos KO, Kerbauy GB (2004). Thermoperiodic effect on flowering and endogenous hormonal status in *Dendrobium* (Orchidaceae). J Plant Physiol, 161 (12): 1385~1387
- Cox MCH, Benschop JJ, Vreeburg RAM, Wagemaker CAM, Moritz T, Peeters AJM, Voesenek LACJ (2004). The roles of ethylene, auxin, abscisic acid, and gibberellin in the hyponastic growth of submerged *Rumex palustris* petioles. Plant Physiol, 136 (2): 2948~2960
- Davies PJ (2004). The plant hormones: their nature, occurrence and functions. In: Davies PJ (Ed), Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1~15
- de Melo Ferreira W, Kerbauy GB, Kraus JE, Pescador R, Suzuki RM (2006). Thidiazuron influences the endogenous levels of cytokinins and IAA during the flowering of isolated shoots of *Dendrobium*. J Plant Physiol, 163 (11): 1126~1134
- Himmelbach A, Iten M, Grill E (1998). Signalling of abscisic acid to regulate plant growth. Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci, 353 (1374): 1439~1444
- Jones RL (1973). Gibberellins: their physiological role. Ann Rev Plant Physiol, 24 (1): 571~598
- Kende H, van der Knaap E, Cho HT (1998). Deepwater rice: a model plant to study stem elongation. Plant Physiol, 118 (4): 1105~1110
- Potter TI, Zanewich KP, Rood SB (1993). Gibberellin physiology of safflower: endogenous gibberellins and response to gibberellic acid. Plant Growth Regul, 12 (1): 133~140
- Ray SD (1986). GA, ABA, phenol interaction in the control of growth: phenolic compounds as effective modulators of GA-ABA interaction in radish seedlings. Biol Plant, 28 (5): 361~369
- Rehm MM, Cline MG (1973). Rapid growth inhibition of *Avena* coleoptile segments by abscisic acid. Plant Physiol, 51 (1): 93~96
- Santner A, Calderon-Villalobos LIA, Estelle M (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. Nat Chem Biol, 5 (5): 301~307
- Sim GE, Goh CJ, Loh CS (2008). Induction of *in vitro* flowering in *Dendrobium* Madame Thong-In (Orchidaceae) seedlings is associated with increase in endogenous N⁶-(Δ²-isopentenyl)-adenine (iP) and N⁶-(Δ²-isopentenyl)-adenosine (iPA) levels. Plant Cell Rep, 27 (8): 1281~1289

- Sim GE, Loh CS, Goh CJ (2007). High frequency early *in vitro* flowering of *Dendrobium* Madame Thong-In (Orchidaceae). *Plant Cell Rep*, 26 (4): 383~393
- Steber CM, McCourt P (2001). A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 125 (2): 763~769
- Teale WD, Paponov IA, Palme K (2006). Auxin in action: signalling transport and the control of plant growth and development. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 7 (11): 847~859
- Vanstraelen M, Benková E (2012). Hormonal interactions in the regulation of plant development. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 28: 463~487
- Wang GY, Xu ZH, Chia TF, Chua NH (1997). *In vitro* flowering of *Dendrobium candidum*. *Sci China Life Sci*, 40 (1): 35~42
- Wang YH, Irving HR (2011). Developing a model of plant hormone interactions. *Plant Signal Behav*, 6 (4): 494~500
- Wang ZH, Wang L, Ye QS (2009). High frequency early flowering from *in vitro* seedlings of *Dendrobium nobile*. *Sci Hortic-Amsterdam*, 122 (2): 328~331
- Woodward AW, Bartel B (2005). Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann Bot-London*, 95 (5): 707~735
- Yang T, Davies PJ, Reid JB (1996). Genetic dissection of the relative roles of auxin and gibberellin in the regulation of stem elongation in intact light-grown peas. *Plant Physiol*, 110 (3): 1029~1034
- Zhao Y (2010). Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Ann Rev Plant Biol*, 61: 49~64