



拉枝处理对‘翠冠’梨成花的影响及其调控机制

李晓龙,王超,李甲明,刘伦,吴俊*

(南京农业大学园艺学院,南京 210095)

摘要:以‘翠冠’梨为研究材料,对枝条进行90°拉枝处理,探明拉枝对梨成花及其相关基因(*LFY*、*TFL1*和*FT*)的表达以及内源激素和营养物质含量的影响。结果表明:(1)90°拉枝处理能够大幅度提高‘翠冠’梨的成花率。(2)与不拉枝处理相比,90°拉枝处理的花芽分化促进类激素——玉米素(ZT)和脱落酸(ABA)的含量上升,花芽分化抑制类激素——赤霉素(GA₃)和生长素(IAA)的含量下降,可溶性糖含量和淀粉含量在花芽分化期间大量积累,全氮含量(N)下降,C/N比显著提高,且成花促进基因(*LFY*和*FT*)的表达量上升,成花抑制基因(*TFL1*)的表达量下降。(3)相关分析显示,*LFY*、*FT*基因表达量与ZT、ABA含量呈显著正相关关系,与GA₃、IAA含量呈显著负相关关系,与可溶性糖含量、淀粉含量和C/N比呈显著正相关关系,与全氮含量呈显著负相关关系,而*TFL1*基因表达量与*LFY*、*FT*基因表达量呈显著负相关关系。研究认为,拉枝处理通过提高成花过程中花芽分化促进类内源激素含量和营养物质含量,上调成花促进基因表达水平,以及这些指标间相互影响共同调控提高‘翠冠’梨成花率。

关键词:梨;拉枝;基因表达;内源激素;营养物质

中图分类号:Q945.6; Q789 文献标志码:A

Effect and Regulation Mechanism of Branch-drooping on Flower Bud Formation of Cuiguan Pear

LI Xiaolong, WANG Chao, LI Jiaming, LIU Lun, WU Jun*

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The cultivar of ‘Cuiguan’ was selected as material to study the effects of branch-drooping on the flower bud formation, the expression of blossoming related genes *LFT*, *TFL1* and *FT*, and the content of endogenous hormones and nutrients. Results showed that: (1) 90° branch-drooping treatment significantly increased the flower bud formation rate of ‘Cuiguan’ pear by a large margin. (2) After the treatment of branch-drooping, the expression of flowering promoting genes *LFT* and *FT* increased, while the expression of flowering suppressor gene *TFL1* decreased. The contents of flower bud differentiation promoting hormones ZT and ABA increased, while the contents of inhibiting hormones GA₃ and IAA decreased. The ratio of C/N improved observably, while the content of nitrogen(N) descended. At the same time, the contents of soluble sugar and starch showed a large accumulation during flower bud differentiation. (3) Correlation analysis showed that *LFY* and *FT* gene expression had a positive correlation with the contents of ZT and ABA, soluble sugar, starch, and the ratio of C/N. And it had a negative correlation with the contents of GA₃, IAA, N, and *TFL1* gene expression. This study suggested that branch-drooping treatment increased flowering promoting gene expression level by increasing flower bud differentiation promoting class endogenous hormone contents and nutrient contents during the process of flower bud formation, as well as interactions between these indicators together to improve ‘Cuiguan’ pear flower rate.

Key words: pear; branch-drooping; gene expression; endogenous hormones; nutrition

收稿日期:2014-09-16;修改稿收到日期:2014-12-15

基金项目:江苏省科技支撑项目(BE2011320);教育部新世纪人才项目(NCET-13-0864);国家梨产业技术体系(CARS-29)

作者简介:李晓龙(1989—),男,在读硕士研究生,主要从事果树学研究。E-mail:2013104021@njau.edu.cn

*通信作者:吴俊,教授,博士生导师,主要从事果树分子育种研究。E-mail:wujun@njau.edu.cn

梨树的顶端优势十分明显,萌芽率高,成枝力弱,因此枝条较为稀少,树冠形成比较慢;而开张角度可以解除顶端优势,促进梨树的发枝,增加中短枝的组成,进而促进梨树成花。目前关于木本科果树开张角度方面的研究多集中在以下3个方面。一是拉枝调节幼树生长。多点多品种调查苹果密植园幼树拉枝与普通修剪结果表明,采用拉枝的果树较普通修剪树冠大、枝量多、短枝率高、成花早、成形快^[1];此外,梨幼树拉枝能加大枝条角度,削弱顶端优势,缓和生长势,增加中短枝叶量,改善光合条件,有利于花芽形成,提早结果^[2]。二是拉枝改变枝类组成。适度的拉枝能促进枇杷优良结果母枝的形成并使其花期集中^[3]。三是拉枝影响果实品质。拉枝对苹果果实品质影响的研究表明,除果实总酸含量外,果实单果重、花色素含量、硬度、总糖含量、维生素C(Vc)含量以及蛋白质含量等多个指标均随拉枝角度的增大而升高,并在拉枝110°时以上各组份含量达到最高,随后下降^[4-6]。综合以上报道来看,这些研究重在解析拉枝生理效果,并未对拉枝促成花的分子及调控机理进行深入探讨。此外,有研究表明赤霉素家族中GA₃类在桃成花过程中起抑制作用,并且具有一定时期性;GA₃处理抑制了成花关键基因PpLEAFY及MADS6正常表达^[7]。在刺梨花芽分化的各个时期,花芽中的淀粉和水溶性总糖含量都明显高于叶芽,而总氮含量却是叶芽高于花芽,其碳/氮比值显著高于叶芽^[8]。因此,本研究拟以砂梨主栽品种‘翠冠’为试材,考察拉枝处理对梨成花数量、成花相关基因表达、内源激素以及营养物质水平的影响,以期为解析拉枝促进梨树成花的分子和调控机制以及生产实践应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与处理

本试验在南京农业大学江浦农场梨园进行,试验材料以长势良好、无病虫害的5年生‘翠冠’梨树为研究对象。试验于2012年4月下旬进行,选取生长状态、负载量大致相同的‘翠冠’梨树10株,选粗细相同(直径大约为2 cm)、长度相同的无分枝侧枝进行拉枝处理,拉枝角度为90°,不拉枝的为对照。每个处理5株‘翠冠’梨树,每株梨树选取5个枝条进行拉枝。拉枝部位遵循方位一致和高度一致原则。分别于2012年5月20日(生理分化期)、6月20日(花芽开始分化期)、7月20日(花芽大量分化期)和8月20日(花器官原基分化期)取拉枝处理和

对照组的饱满顶芽,经液氮速冻后-80 °C保存。并于2013年3月统计拉枝(处理组)和不拉枝(对照组)梨树的成花率(花芽个数/总芽数)。

1.2 花芽内源激素和营养物质含量的测定

花芽内源激素的提取参考曹尚银等^[9]的方法。实验所用液相色谱仪型号为Waters 1525,用C₁₈柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相A泵用含0.6%冰乙酸的超纯水色谱甲醇,B泵使用色谱甲醇,上机之前一定要排除气泡,水相要进行抽滤排除杂质;进样流速为1 mL/min,柱温箱内的温度保持在35 °C,用Waters 2487紫外检测器在540 nm波长处检测;每次进样量保持恒定的5 μL,最后用标准曲线计算其含量。标样IAA、GA₃、ABA和ZT均购自Sigma公司,色谱甲醇来源于Fisher Chemical公司。用蒽酮比色法^[10]测定花芽内可溶性糖含量和淀粉含量,用凯式定氮法^[11]测定总氮含量。

1.3 花芽总RNA的提取和cDNA第一链的合成

采用改良的CTAB法^[12]提取梨花芽的总RNA,用1%琼脂糖胶检测RNA质量,并利用核酸分析仪NanoDrop(Thermo)检测其浓度,于-20 °C保存备用。以1 μL总RNA为模板,利用接头引物M13-20和dT(16)反转录合成cDNA第一链。10 μL合成体系为:2 μL 5×AMV缓冲液,4 μL dNTP(2.5 mmol/L),0.25 μL RNase inhibitor,0.5 μL Adaptor-dT(16),1 μL AMV和1 μg RNA;加RNase Free ddH₂O至10 μL。放入PCR仪中,设定程序为:30 °C 10 min,42 °C 60 min,99 °C 5 min,4 °C 5 min。将其瞬时离心后,于-20 °C保存备用。

1.4 实时荧光定量PCR反应

按照Real Master Mix(SYBR Green)PCR试剂盒(购自宝生物工程有限公司)操作指导,采用iCycler iQ real-time PCR(Bio-Rad,美国)仪器进行实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR, RT-qPCR)检测成花相关基因LEAFY(LFY)、TERMINAL FLOWER 1(TFL1)和FLOWERING LOCUS T(FT)的时空表达特性。

20 μL RT-qPCR反应体系为:10 μL SYBR Green Real-time Master Mix(TaKaRa,大连),1.5 μL的cDNA模板,0.2 μmol/L的待测基因和内参基因的特异引物。扩增目标基因引物见表1,选择EF1α(Accession No. AY338250)和TUB-b2(Accession No. AB239681)为内参基因。反应程序为:95 °C预变性2 min,94 °C变性15 s,60 °C退火15 s和72 °C延伸20 s,45个循环。每次反应均用ddH₂O和未

表 1 荧光定量所用引物

Table 1 Primers used for real-time PCR expression analysis

基因 Gene	PCR 产物长度 PCR product length/bp	引物序列(5'→3') Sequence (5'→3')	用途 Usage
LFY	226	F:AGGGAGCACCCGTTCATCGT R:GCCGCATCTTGGCTTGTG	qPCR
TFL1	144	F:GCCGCATCTTGGCTTGTG R:GCCGCATCTTGGCTTGTG	qPCR
FT	220	F:AGCCCAAGTGACCCCAACCT R:CGCGAAGTCTCTGGTATTGAAG	qPCR

经反转录 RNA 样品为模板,以相同的引物序列进行扩增,以检测试剂和样品中是否存在 DNA 污染。每个样品分别进行 3 次生物学重复和 3 次技术重复。利用 Bio-Rad IQ-5 Optical system Software 软件测定所得的数据,基因相对表达量分析采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算。

1.5 数据分析

用 SPSS 软件进行方差分析和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 拉枝对梨树成花率的影响

拉枝处理组和对照组梨树的成花率(花芽个数/总芽数)统计结果表明,处理组枝条的成花率为 84%,而对照组的成花率只有 17%。可见,梨树拉枝处理可以显著提高‘翠冠’梨树的成花率。

2.2 拉枝对梨花芽内源激素含量及其比值的影响

从图 1 中可以看出,拉枝处理组和对照组花芽中的内源激素 ZT 和 ABA 的含量变化趋势相同,而 GA₃ 和 IAA 的含量变化趋势相同。其中,在梨树生理分化期(5 月 20 日),花芽和叶芽并未表现出不同,所以处理和对照内源激素含量均差异不显著;但是在花芽分化过程中,处理和对照花芽内源激素含量出现差异,表现为 ZT 和 ABA 含量高于对照,而 GA₃ 和 IAA 含量低于对照,尤其是在花芽开始分化时(6 月 20 日),处理和对照的差异最为明显。

图 2 显示,花芽分化促进类激素 ZT、ABA 与抑制类激素 GA₃、IAA 的比值,在花芽分化期拉枝处理组的比值始终大于对照组,且 ZT/GA₃、ZT/IAA、ABA/GA₃ 和 ABA/IAA 变化趋势一致。其中,处理组花芽各激素比值在花芽分化期显著高于生理

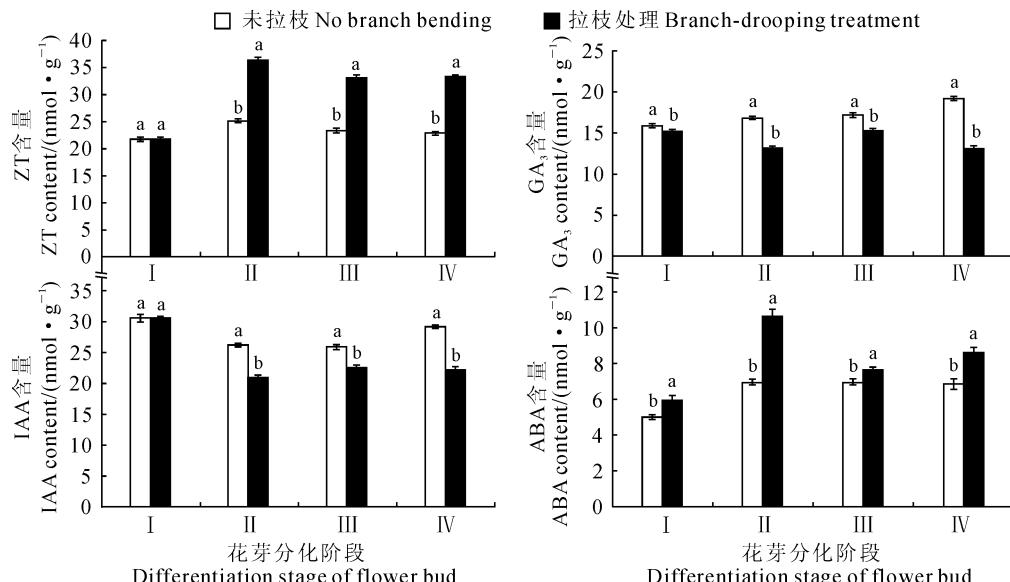


图 1 拉枝对梨花芽分化期各阶段内源激素的影响

不同小写字母表示同一时期不同处理之间在 0.05 水平存在显著性差异;

I. 生理分化期; II. 花芽开始分化期; III. 花芽大量分化期; IV. 花器官原基分化期; 下同

Fig. 1 The effect of branch bending on endogenous hormones in floral bud

The different normal letters indicate significant differences among treatments at the same period at 0.05 level;

I. Physiological differentiation phase; II. Early flower bud differentiation phase; III. Abundant flower bud

differentiation phase; IV. Floral organ primordium differentiation phase. The same as below

分化期，并在成花启动后显著下降。对照组的ZT/GA₃和ABA/GA₃在花芽大量分化之前(Ⅲ)比值都与生理分化期(I)差异都不显著，但在花器官原基形成的时期(VI)比值明显下降；ZT/IAA和ABA/IAA在花芽开始分化(Ⅱ)和大量分化(Ⅲ)时含量显著高于生理分化期，但是在花器官原基分化时期比值下降。这说明梨树花芽分化需要较高的ZT/GA₃、ZT/IAA、ABA/GA₃和ABA/IAA，拉枝处理能明显增加这些比值，从而促进花芽分化。

2.3 拉枝对梨树花芽内主要营养物质含量的影响

梨枝条处理组与对照组的花芽组织中可溶性糖含量在生理分化期没有差异，之后在形态分化期二者产生差异，且处理组均大于对照(图3,A)。其中，在花芽从生理分化期至形态分化期的过渡中，处理组和对照组的可溶性糖含量均急剧上升，但是处理组比对照组上升的速度更快；之后，处理组与对照组的可溶性糖含量均保持在花芽开始分化时期的水

平。同时，梨枝条处理组与对照组中的淀粉含量在生理分化期没有差异，之后的形态分化期二者产生差异，且处理组均高于对照组(图3,B)。处理组和对照组花芽淀粉含量均随发育时期呈逐渐上升趋势，但成花转变期间拉枝处理淀粉含量急剧上升，而对照组略有上升；它们在花芽大量分化期基本保持不变，但到花器官原基合成期间又略有缓慢上升。以上结果说明拉枝处理可以促进梨树花芽可溶性糖和淀粉积累，尤其是在成花转变时期效果更明显。

2.4 拉枝处理对梨树花芽全氮含量的影响

如图4,A所示，‘翠冠’梨拉枝处理组和对照组花芽中的全氮含量在生理分化期无显著差异。对照组花芽的全氮含量在整个花芽发育期始终变化不显著，而处理组在花芽分化期全氮含量先持续大幅下降，之后略有上升。花器官原基分化期花芽氮含量上升可能与此时新梢二次生长有关。这说明梨树花芽分化需要低水平的总氮含量。

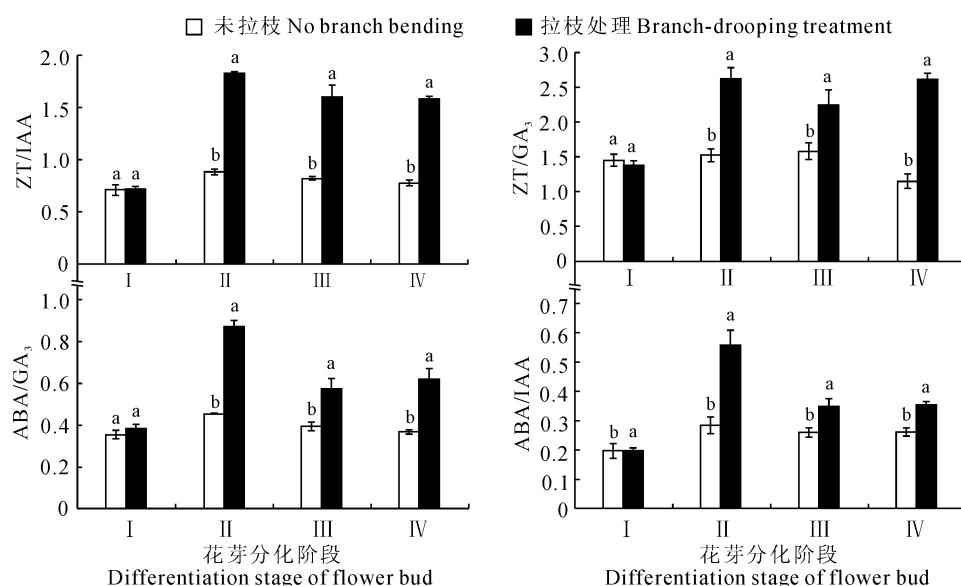


图2 拉枝对花芽分化期各阶段内源激素比值的影响

Fig. 2 The effect of branch bending on the ratios of endogenous hormones in floral bud

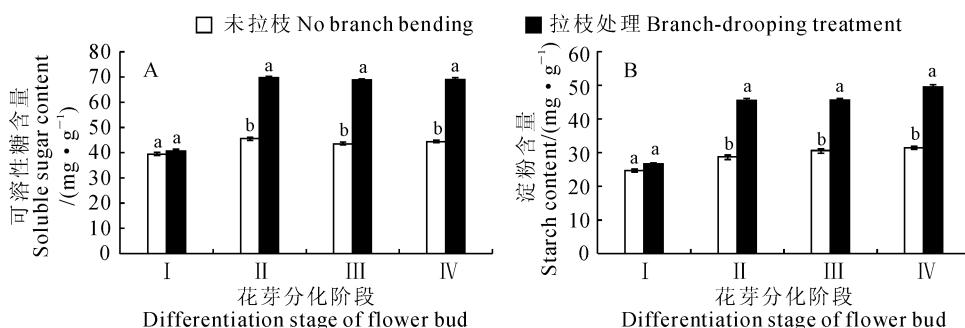


图3 ‘翠冠’梨花芽可溶性糖含量(A)和淀粉含量(B)的变化

Fig. 3 Changes of soluble sugar content(A) and starch content(B) in Cuiguan flower bud

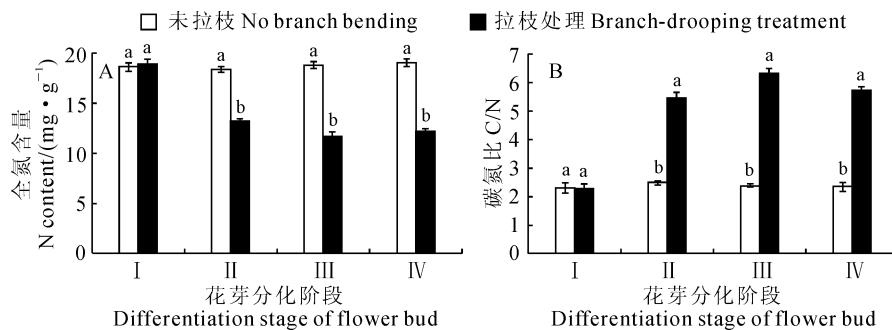


图4 ‘翠冠’梨花芽全氮含量(A)和碳氮比(B)的变化

Fig. 4 Changes of nitrogen content(A) and C/N(B) in Cuiguan flower bud

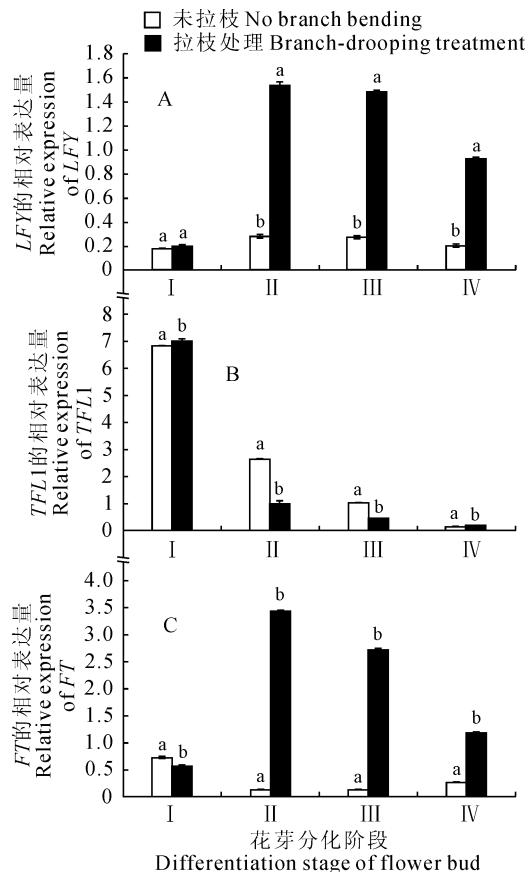
图4,B表明,‘翠冠’梨处理组和对照组花芽的C/N在生理分化期也无显著差异;在生理分化期至形态分化期的过渡过程中,处理组花芽的C/N急剧上升,直至花芽大量分化期达到峰值,之后略下降,而对照组花芽C/N在花芽开始分化时略有上升,并在之后的形态分化期没有明显变化。这说明梨树花芽形态分化期需要高的C/N。

2.5 拉枝对梨树成花相关基因 *LFY*、*TFL1* 和 *FT* 表达的影响

拉枝处理和对照组 *LFY* 基因的表达量在梨树花芽生理分化期差异不显著,但在整个花芽分化期拉枝处理显著远高于对照(图5,A)。其中,在花芽开始分化期,拉枝处理的 *LFY* 基因表达量骤升,但与花芽大量分化期 *LFY* 基因的表达量差异不显著,而这两个时期均明显高于花器官原基分化期。同时,在花芽开始分化期至花器官原基分化期,对照组 *LFY* 表达量的变化趋势与拉枝处理相同,但是 *LFY* 基因的表达量一直都很低。这说明梨花芽分化和花器官原基分化都需要高水平的 *LFY* 基因表达。

同期拉枝处理和对照梨树 *TFL1* 基因表达的变化趋势是一致的,即生理分化期 *TFL1* 基因的表达量最高,在花芽开始分化期骤然减少,之后一直维持下降趋势,并在器官原基分化期表达量最低。拉枝处理和对照虽然在生理分化期 *TFL1* 的表达量相同,但是在花芽分化期拉枝处理的 *TFL1* 基因表达量明显低于对照(图5,B)。

另外,梨树花芽生理分化期拉枝处理和对照 *FT* 基因的表达量差异也不显著,但是在整个花芽分化期拉枝处理的 *FT* 基因表达量要明显高于对照(图5,C)。拉枝处理梨树枝条 *FT* 基因的表达量在花芽开始分化期骤升,之后表达量下降,但是仍然始终维持高水平表达。而对照 *FT* 基因在花芽开始分化和大量分化时表达量较生理分化期骤降,且表达量极低,虽然到花器官原基分化期略有升高,但是其

图5 拉枝处理对 *LFY*、*TFL1* 和 *FT* 基因表达的影响Fig. 5 The effect on expression of *LFY*, *TFL1* and *FT* after bending branch

表达量依然明显低于同期拉枝处理。

以上结果说明,拉枝处理使成花促进基因 *LFY* 和 *FT* 的表达量上升,成花抑制基因 *TFL1* 的表达量下降,从而从分子水平解释了拉枝促进梨树成花的内在机理。

2.6 拉枝梨树花芽成花各因素间的相关分析

影响梨树成花的因素间的相关性分析结果如表2所示。首先,在拉枝梨树花芽分化过程中,基因 *LFY* 表达量与 *FT* 表达量呈正相关, *FT* 和 *LFY* 表

表 2 拉枝处理梨树成花各因素之间的相关性
Table 2 The correlation between the factors of affecting flowering by bending branch

	LFY	TFL1	FT	ZT	GA ₃	IAA	ABA	ZT/GA ₃	ZT/IAA	ABA/GA ₃	ABA/IAA	可溶性糖 Soluble sugar	淀粉 Starch	氮 N	碳氮比 C/N
LFY	1	-0.867	0.915	0.932	-0.849	-0.930	0.818	0.906	0.933	0.835	0.870	0.905	0.849	-0.885	0.899
TFL1	-0.867	1	-0.595	-0.946	0.966*	0.970*	-0.688	-0.947	-0.937	-0.756	-0.773	-0.985*	-0.997**	0.979*	-0.987*
FT	0.915	-0.595	1	0.760	-0.613	-0.733	0.808	0.721	0.771	0.779	0.817	0.679	0.575	-0.628	0.648
ZT	0.932	-0.946	0.760	1	-0.979*	-0.996**	0.884	0.998**	1.000**	0.923	0.936	0.988*	0.954*	-0.899	0.923
GA ₃	-0.849	0.966*	-0.613	-0.979*	1	0.983*	-0.823	-0.989*	-0.975*	-0.880	-0.883	-0.990*	-0.981*	0.898	-0.921
IAA	-0.930	0.970*	-0.733	-0.996**	0.983*	1	-0.841	-0.994**	-0.994**	-0.888	-0.903	-0.997**	-0.974*	0.931	-0.951*
ABA	0.818	-0.688	0.808	0.884	-0.823	-0.841	1	0.884	0.897	0.994**	0.992**	0.804	0.715	-0.597	0.642
ZT/GA ₃	0.906	-0.947	0.721	0.998*	-0.989*	-0.994**	0.884	1	0.997**	0.927	0.935	0.988*	0.959*	-0.887	0.913
ZT/IAA	0.933	-0.937	0.771	1.000**	-0.975*	-0.994**	0.897	0.997**	1	0.934	0.946	0.983*	0.945	-0.887	0.913
ABA/GA ₃	0.835	-0.756	0.779	0.923	-0.880	-0.888	0.994**	0.927	0.934	1	0.998**	0.839	0.784	-0.663	0.706
ABA/IAA	0.870	-0.773	0.817	0.936	-0.883	-0.903	0.992**	0.935	0.946	0.946	1	0.872	0.796	-0.693	0.733
可溶性糖 Soluble sugar	0.905	-0.985*	0.679	0.988*	-0.990*	-0.997*	0.804	0.988*	0.983*	0.859	0.872	1	0.989*	-0.945	0.962*
淀粉 Starch	0.849	-0.997**	0.575	0.954*	-0.981*	-0.974*	0.715	0.959*	0.945	0.784	0.796	0.989*	1	-0.959*	0.972*
氮 N	-0.885	0.979*	-0.628	-0.899	0.898	0.931	-0.597	-0.887	-0.887	-0.663	-0.693	-0.945	-0.959*	1	-0.998**
碳氮比 C/N	0.899	-0.987*	0.648	0.923	-0.921	-0.951*	0.642	0.913	0.913	0.706	0.733	0.962*	0.972*	-0.998**	1

注: * 表示 0.05 水平显著; ** 表示 0.01 水平极显著。

Note: * Correlation is significant at the 0.05 level; ** Correlation is significant at the 0.01 level.

达量与 *TFL1* 表达量呈负相关,说明 *FT* 和 *LFY* 基因共同作用促进梨树成花,而 *TFL1* 则抑制成花。

其次,花芽内源激素 ZT 含量与 GA_3 含量呈显著负相关,与 IAA 含量呈极显著负相关,而与 ABA 含量呈不显著正相关; GA_3 含量与 IAA 含量呈极显著正相关,与 ABA 含量呈不显著负相关; IAA 含量与 ABA 含量呈不显著负相关。可见,ZT 和 ABA 是花芽分化促进类激素, GA_3 和 IAA 是花芽分化抑制类激素,并且 GA_3 和 IAA 在花芽分化后期含量上升,促进枝条生长;花芽分化过程中内源激素之间有相互促进和相互制约的关系,即花芽分化促进类激素 ZT 和 ABA、花芽分化抑制类激素 GA_3 和 IAA,同类激素之间有相互促进的作用,异类激素有相互抑制的作用。

再次,梨花芽分化过程中的花芽可溶性糖含量与淀粉含量呈显著正相关,而与氮含量呈显著负相关,淀粉含量和氮含量呈显著负相关。这说明花芽分化需要营养物质的配合,可溶性糖和淀粉作为花芽分化的营养物质,而高含量的氮有促进生长的作用,所以只有这种生长作用的减缓或停止,才有利于花芽分化。

另外,内源激素 ZT 含量和 *LFY* 基因表达量与营养物质可溶性糖含量和淀粉含量呈显著正相关; GA_3 和 IAA 含量与 *TFL1* 基因表达量呈显著负相关,与营养物质可溶性糖含量呈极显著负相关,而与淀粉呈显著负相关; *TFL1* 基因表达与可溶性糖含量呈显著负相关,与淀粉含量呈极显著负相关,而与氮含量呈显著正相关。因此,成花相关基因、内源激素和营养物质对花芽分化的影响并不是孤立存在的,它们内部之间互相影响,各个因素之间也互相影响,促进类因子共同促进,抑制类因子共同抑制,通过此消彼长的调节来达到调控成花的目的。

3 讨 论

‘翠冠’梨是南方地区梨的主栽品种。从经济角度考虑,近年来水果生产成本和市场价格的比率开始增长,减少生产成本、提高产出对于果园管理十分重要,因此控制果树营养分配显得越来越重要。在传统的果园管理和农业生产实践中,拉枝处理已经被证明是控制生长,促进生殖生长和结果的最有效方法。拉枝处理在果园的生产实践中得到广泛应用,已被整合到 Solaxe 培训系统中^[13]。以往研究表明拉枝使‘翠冠’形成了良好的冠形^[14]。此外,在相同拉枝时间内水平拉枝和下垂拉枝抽生的中短枝比

例最高,在相同拉枝角度下拉枝时间越晚抽生的中短枝比例越低^[15]。富士苹果拉枝角度为 110°时,树体成花率最高,果实品质方面的相关指标也最优^[4]。结合梨树萌芽率和成枝力低的特点,110°拉枝处理容易造成树体早衰,因此本研究中对‘翠冠’梨的拉枝处理角度选择 90°,拉枝时间选在 4 月份。

研究表明,随着拉枝角度的增大,‘嘎啦’苹果顶芽的可溶性糖含量和淀粉含量增加,氮含量减少,C/N 增大^[16],本实验的研究结果与之一致,说明拉枝处理通过改变花芽中营养成分的含量来达到控制成花的目的。此外,‘富士’苹果顶芽的 N 含量在生理分化期明显高于形态分化期,可溶性糖含量和淀粉含量在花芽分化期含量最高^[17],本实验结果与其结论一致,这说明花芽分化需要大量的营养物质。

拉枝促进花芽分化是通过改变花芽内激素的平衡来达到目的。在花芽从生理分化向形态分化期过渡期间对暗柳橙去叶摘花,结果表明去叶明显减少了 ZR 的上升,减少了花芽的形成^[18]。此外,拉枝能够打破顶端优势,影响激素的分布变化规律,生长促进类激素 GA 和 IAA 含量降低,生长抑制类激素 ABA 和 ZT 含量升高,从而促进花芽分化,平衡营养生长和生殖生长^[19-20]。本研究表明拉枝对‘翠冠’梨花芽内源激素的影响规律与以往报道相一致。

Luckwill 等认为激素的平衡变化可以导致成花相关基因解除阻遏^[21]。Corbesier 等^[22]认为果树不能开花是由于成花相关基因处于封闭状态或基因处于开启状态,但却无法完成转录或在转录后的翻译过程中受阻。

开花归根结底是要启动成花相关基因,激素和营养物质对基因的开启有何作用是关键。生长素的基因表达学说认为:生长素可以使细胞伸长所需的一些基因脱阻遏,从而使其得到表达。有研究表明,生长素诱导的原初基因在 10 min 之内就可以检测到 mRNA 浓度的增加。在无外源生长素的情况下,原初基因在根、子房和发育的种子中有一定的表达,而在其它器官不表达。当在外界其他条件不变的情况下对植物施用外源生长素后,几乎所有器官中原初基因都有很高的表达,这说明基因表达的限制因子是生长素浓度不够高^[23]。GA 对 α -淀粉酶合成的作用位置是在盾片和糊粉层,外施 GA 于大麦种子后一段时间就能检测出 α -淀粉酶,而去除 GA 后 α -淀粉酶合成的速率就下降,若再加入 GA 则合成速率又立即增快。进一步研究表明, α -淀粉酶基因在 GA 的调控下进行转录生成 mRNA 前体,经过加

工修饰成为活化的 mRNA, mRNA 翻译成前体酶再加工成为活化的酶^[24]。另外, 组蛋白可以对基因的表达起到限制的作用, 从而影响到基因的转录。以上证据都表明, 植物激素可以通过调控转录和翻译过程从而调控蛋白质合成和酶活性, 最终达到调控果树花芽分化的目的。花芽分化除了需要基因启动和激素调控外, 外部条件也应具备。成花相关基因启动后, 外界需要提供充足的营养物质, 否则成花也会失败。这也是花芽分化需要营养生长和生殖生长的平衡、合适的 C/N、高含量的淀粉储备的原因。

综上所述, 本研究对‘翠冠’梨树进行拉枝处理

后, 花芽分化促进类激素 ZT 和 ABA 的含量上升, 花芽分化抑制类激素 GA₃ 和 IAA 含量下降; 可溶性糖含量和淀粉含量在花芽分化期上升; 成花促进基因 LFY 和 FT 的表达量上升, 成花抑制基因 TFL1 的表达量下降。同时, 对内源激素、营养物质和成花相关基因表达三者进行相关性分析, 结果也表明三者之间有显著相关性, 在调控花芽分化的过程中相互影响。从而解释清楚了拉枝处理提高‘翠冠’梨成花率的内在调控机理, 为拉枝提高梨的成花率提供了科学依据。

参考文献:

- [1] HE SH L(何世珑), ZHOU J(周军), MA E M(马恩明), et al. The effect observation report on branch young apple trees[J]. *Northern Horticulture*(北方园艺), 1994, (3): 26—27(in Chinese).
- [2] WU X L(吴鲜亮), HE ZH A(何志爱), YANG Y(杨勇). The effects of banding branch on development of apple-pear young trees[J]. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology*(内蒙古农业科技), 2008, (1): 54—55(in Chinese).
- [3] XU J H(许家辉), ZHANG Z H(张泽煌), CHEN CH ZH(陈长忠), et al. The effects of banding branch on growing and blossoming of Loquat branch[J]. *Southern Fruit of China*(中国南方果树), 2004, **33**(1): 34—35(in Chinese).
- [4] HAN M Y(韩明玉), LI Y W(李永武), FAN C H(范崇辉), et al. Effects of branch bending angle on physiological characteristics and fruit quality of Fuji Apple[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2008, **35**(9): 1 345—1 350(in Chinese).
- [5] LI Y W(李永武), HAN M Y(韩明玉), FAN C H(范崇辉), et al. Relationship between branch nutrients and fruit quality of different branch angle in Fuji[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*(西北农业学报), 2007, **16**(2): 161—164(in Chinese).
- [6] DU R(杜荣), QU J X(曲俊贤), ZHAO Z Q(赵增强), et al. Effects of branch drawing on the leaf growth-fruit quality and yield of Gala Apple[J]. *Journal of Northwest Forestry University*(西北林学院学报), 2009, **24**(2): 71—74(in Chinese).
- [7] AN L J(安丽君), JIN L(金亮), YANG CH Q(杨春琴), et al. Effect and functional mechanism of exogenous gibberellin on flowering of peach[J]. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学), 2009, **42**(2): 605—611(in Chinese).
- [8] FAN W G(樊卫国), LIU G Q(刘国琴), AN H M(安华明), et al. Study on the changes of endogenous hormones, carbohydrate and nitrogen nutrition at the flower bud differentiation stage of *Rosa roxburghii*[J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报), 2003, **20**(1): 40—43(in Chinese).
- [9] CAO SH Y(曹尚银), ZHANG J CH(张俊昌), WEI L H(魏立华). Studies on changes of endogenous hormones in the differentiation period of flower bud in apple trees[J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报), 2000, **17**(4): 244—248(in Chinese).
- [10] LI X X(李晓旭), LI J ZH(李家政). Determination of the content of soluble sugar in sweet corn with optimized anthrone colorimetric method[J]. *Storage and Process*(保鲜与加工), 2013, **13**(4): 24—27(in Chinese).
- [11] LU J ZH(鲁健章), SUN L H(孙丽华), ZHOU Y G(周彦钢). Interference factors of protein determination in fish using Kjeldahl method [J]. *Food Science*(食品科学), 2010, **31**(19): 453—456(in Chinese).
- [12] CHEN CH B(陈长宝), ZHU SH H(朱树华), ZHOU J(周杰). Improved CTAB method for total RNA extraction of mature Feicheng Peach fruit[J]. *Shandong Agricultural Sciences*(山东农业科学), 2009, (5): 102—104(in Chinese).
- [13] COLARIC M, STAMPAR F, HUDINA M. Content levels of various fruit metabolites in the ‘Conference’ pear response to branch bending[J]. *Scientia Horticulturae*, 2007, **113**(3): 261—266.
- [14] LIAO L A(廖立安), LI ZH G(李志光), CAO J M(曹建明). Introduction experiment of cuiguan pear and effect of trimming the branches on its economic properties[J]. *Journal of Central South Forestry University*(中南林学院学报), 2003, **23**(2): 79—81(in Chinese).
- [15] QIN L ZH(秦立者), WU Y X(吴颖欣), SHI H Q(石海强). Effects of branch bending phases and angles on the branch growth of apple with dwarfing intermediate stock[J]. *Journal of Hebei Agricultural Science*(河北农业科学), 2011, **15**(4): 13—15(in Chinese).
- [16] YU G X(余拱鑫), HAN M Y(韩明玉), ZHANG M R(张满让), et al. The effect of branch drawing oil carbon and nitrogen contents in

- buds and leaves of ‘Gala’ Apple[J]. *Northern Horticulture*(北方园艺), 2012, **36**(15): 9–12(in Chinese).
- [17] YANG Y(杨勇), HAN M Y(韩明玉), ZHANG M R(张满让), et al. Effects of branch bending angle on carbon and nitrogen contents in leaves and buds of Fuji[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*(西北农业学报), 2011, **20**(7): 123–126(in Chinese).
- [18] HUANG D H(黄迪辉), HUANG H B(黄辉白). Studies on the mechanism of citrus flower-bud formation[J]. *Journal of Fruit Science*(果树学报), 1992, **9**(1): 13–18(in Chinese).
- [19] ZHANG ZH H(张志华), LIU X C(刘新彩), LIU Y H(刘彦红), et al. Study on relationship between hormone and growth vigor of young *Juglans regia*[J]. *Scientia Silvae Sinicae*(林业科学), 2006, **42**(9): 131–133(in Chinese).
- [20] DAVENPORT T L, PEARCE D W, ROOD S B. Correlation of endogenous gibberellic acid with initiation of mango shoot growth[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2001, **20**(3): 308–315.
- [21] LUCKWILL L, SILVA J. The effects of daminozide and gibberellic acid on flower initiation, growth and fruiting of apple cv. Golden Delicious[J]. *Journal of Horticultural Science*, 1979, **54**(3): 217–224.
- [22] CORBESIER L, VINCENT C, SEARLE I, et al. Analysis of the expression pattern of FT protein during flowering[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology*, 2006, **143**(4): S166–S166.
- [23] SUN CH M(孙长明). The study about regulation of plant hormones on gene expression[J]. *Journal of Shandong TV University*(山东电大学报), 2000, (3): 32–33(in Chinese).
- [24] ZHU G L(朱广廉). GA induces the formation of α -amylase in the barley aleurone cells[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 1980, (4): 52–54(in Chinese).

(编辑:裴阿卫)

封面植物介绍——秦岭石蝴蝶

秦岭石蝴蝶(*Petrocosmea qinlingensis* W. T. Wang),隶属于苦苣苔科,石蝴蝶属,是本属分布最北缘的种,为多年生宿根草本。叶7~12枚,具长或短柄;叶片革质,宽卵形、菱状卵形或近圆形,长0.7~3 cm,宽0.7~2.8 cm,顶端圆形或钝,基部宽楔形,边缘浅波状或有不明显圆齿,两面疏被贴服短柔毛。花序2~6,顶生1花。花萼5裂达基部,外面疏被短柔毛;花冠淡紫色,外面疏被贴服短柔毛,内面在上唇被白色柔毛;花冠筒长约2.8 mm,上唇长约4.8 mm,2深裂,下唇与上唇近等长,3深裂,所有裂片近长圆形,顶端圆形。可育雄蕊2,着生于近花冠基部。雌蕊长约5 mm,子房与花柱被开展的白色柔毛,柱头小,球形。花期8~9月。秦岭石蝴蝶花冠筒内面被毛,与其近缘种中华石蝴蝶(*P. sinensis* Oliv.)的区别是后者花冠筒内面无毛。

秦岭石蝴蝶是由我国著名分类学家王文采教授在20世纪80年代描述并命名的新物种。模式标本产地为陕西省勉县茶店,之后近30年间的调查中,均未发现其野生居群。直到近年,在陕西省第二次野生植物资源调查和汉中市极小种群野生植物秦岭石蝴蝶、庙台槭资源调查中被重新发现。

秦岭石蝴蝶是秦岭地区特有的珍稀濒危野生植物,一般生长于阴湿山谷岩石上,群落上层为落叶阔叶林,郁闭度比较高。由于其野生居群地理分布极为狭窄,个体数量稀少,已经被列入第一批国家二级重点保护野生植物,具有较高的科研价值。

(图文分别由陕西理工学院 王勇、杨培君,略阳县野生动植物保护管理站 李长波和勉县野生动植物保护管理站 樊荣 提供)