

大豆成花的光周期诱导研究*

I. 真叶内植物激素及同化物的变化

李秀菊 孟繁静

(中国农业大学生物学院,北京 100094)

摘要: 大豆短日(SD)诱导期间,真叶内的玉米赤霉烯酮(ZEN)含量始终比连续光照(CL)下的高;诱导前期叶片内总细胞分裂素(CTK)含量保持较低水平;脱落酸(ABA)则在前期差异不大,后期保持较低水平;短日下生长的真叶内游离氨基酸含量先升后降,含量一直较CL下的高;短日诱导下的真叶内同化物含量(可溶糖、蔗糖及淀粉)一直保持较低的水平。大豆光周期诱导期间,叶片内的某些植物激素及同化物可能协同ZEN发生了与成花转变有关的变化。

关键词: 短日诱导; 植物激素; 同化物; 大豆; 真叶

中图分类号: Q946

植物成花过程通常划分为以下3个阶段:①花的启始,包括导致茎尖分生组织产生花序原基或花原基的所有反应;②花的形态建成,指顶端分生组织产生可识别的花原基或花器官的过程;③生殖结构出现后至以开花的发育过程^[1]。在植物成花过程中,环境因子对许多植物生殖结构的启始和发育有调控作用,光照条件是影响植物成花的重要环境因子之一。因此,本研究以较典型的短日经济作物大豆为材料,探讨其在光周期诱导期间,光周期信号的接收器官——真叶内的植物激素及同化物变化,为阐明高等植物成花机理提供线索。

1 材料与方法

1.1 材料 将筛选的饱满大豆(*Glycine max* L.)早12种子用0.1% HgCl₂进行表面消毒15 min,流水冲洗后在25℃的恒温培养箱内催芽48 h,选萌发一致的种子播于温室内盛有蛭石的塑料盆中,以Hoagland完全营养液培养,定期浇灌营养液,待子叶出土后,将幼苗分成两份,一份进行短日(SD)诱导(光/暗9 h/15 h)处理,一份幼苗保持在连续光(CL—晚上或阴天以生物效应灯补充光照)下作为对照,在光周期诱导的第2,4,6,8,10 d取基生真叶进行各项的分析,整个试验重复3次。

1.2 样品提取及测定

1.2.1 玉米赤霉烯酮的提取与测定 称取一定重量的植物材料(约0.1 g),用约0.5 mL的乙酸乙酯研磨提取,提取液及残渣转入离心管,用乙酸乙酯冲洗研钵将冲洗液并入离心管,提取液在-20℃下保存待测。测定前在3 000 g下离心,吸出上清液后定容,吸取0.5 mL溶液于指形管,N₂吹干,TBS复溶后进行测定。按陈新建等^[2]的直接酶联免疫分析法测定ZEN的含量。

1.2.2 细胞分裂素及脱落酸的提取与测定 称取一定重量的植物材料(约0.1 g),用约0.5 mL的80%冷甲醇研磨提取,提取液及残渣转入离心管,80%甲醇冲洗研钵,将冲洗液并入

离心管,提取液在 -20°C 下保存待测。测定前在 $3\,000\text{g}$ 下离心,吸出上清液后定容,吸取 0.5mL 溶液于指形管, N_2 吹干,TBS复溶后进行测定。采用直接酶联免疫分析法测定CTK及ABA的含量,测定程序同ZEN,封板抗体及竞争反应中所用的酶标抗原分别与所测激素相对应。

1.2.3 可溶糖、蔗糖及淀粉的提取与测定——蒽酮法 称取 0.5g 的植物材料,研磨后盛入有蒸馏水的试管中,沸水提取 10min ,离心后上清液用于测定可溶糖及蔗糖; $9.6\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 高氯酸将残渣水解后,用于分析淀粉含量^[3,4]。

1.2.4 总游离氨基酸含量的提取与测定——茚三酮显色法 称取 0.4g 的植物组织,用 $\text{pH}5.4$ 醋酸缓冲液研磨提取,提取液转入离心管,离心后取一定量的上清液,加酸性茚三酮显色^[5]。

2 实验结果

2.1 光周期诱导期间玉米赤霉烯酮含量变化 大豆出苗后在连续光照下生长,待真叶长出后,进行不同的光周期处理,研究表明,实验所用品种9SD即可完成其光周期诱导过程,在SD诱导条件下生长的大豆较细弱,叶片小,叶色浅;CL下的大豆则表现为植株粗壮,叶片大,叶色深绿,这种形态上的差异在诱导结束时很明显^[6]。

对分别生长在SD和CL下的大豆真叶内ZEN含量测定结果表明(图1),光周期诱导的开始阶段,ZEN含量均较高,随诱导的进行,CL、SD处理的ZEN含量均下降,但SD处理的真叶内ZEN含量一直高于CL下的。SD下ZEN含量较高可能有利于光周期诱导的完成。

2.2 光周期诱导期间细胞分裂素含量变化

对分别生长在短日和连续光照下的大豆真叶内的iPAs、ZR_s、DHZR_s含量测定结果表明(图2),在光周期处理的开始阶段,3种CTK的含量均较低,之后逐渐增加,但不同光周期下真叶内iPAs、ZR_s、DHZR_s含量变化幅度不同,在光周期诱导过程中,CL下生长的真叶内iPAs含量一直高于SD下的,第2天iPAs含量最高,可达 $3.01\text{fmol}/\text{mg}\text{FW}$;叶片内ZR_s、DHZR_s的绝对含量较高,第4天ZR_s的含量达到最高,为开始时的3.6倍;DHZR_s则在第2天有一含量高峰出现。因此,开始的前4天在长日照下生长的大豆叶片内CTK含量明显高于SD下的。真叶内CTK含量较高可能是CL下大豆植株生长较快的原因之一。

2.3 光周期诱导期间脱落酸含量变化 对生长在不同光周期诱导条件下真叶内ABA含量的分析结果表明(图3),在短日下生长的大豆真叶ABA含量在诱导开始时含量较高,且与CL下的接近,随诱导过程的进行,SD下的大豆幼苗叶片内的ABA含量下降,从短日诱导的第4天开始,ABA含量维持较稳定水平,并且始终低于CL下的。生长在CL下的大豆真叶内源ABA表现为先降后升。

2.4 光周期诱导期间真叶内游离氨基酸含量的变化 图4为生长在不同光周期下真叶内游离氨基酸含量的测定结果,叶内游离氨基酸在转入SD后第2天含量上升,之后逐渐下降,在

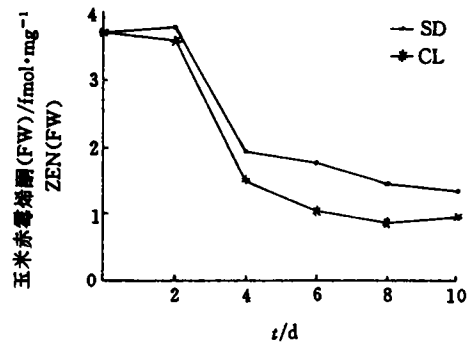


图1 光周期诱导期间真叶内ZEN含量的变化
Fig.1 Changes of ZEN content in the first leaf during photoperiodic induction period

整个诱导过程中,SD 下生长的大豆真叶内游离氨基酸含量明显较 CL 下的高,表明 SD 诱导下的大豆植株氨基酸代谢较活跃。长日照下生长的大豆幼苗游离氨基酸含量一直呈逐渐下降的趋势。

2.5 光周期诱导期间可溶糖、蔗糖及淀粉含量的变化 对不同光周期处理真叶内的可溶糖、蔗糖以及淀粉含量的分析结果表明(表 1)光周期处理的第 2 天,SD 下的真叶可溶糖和蔗糖含量略高于 CL 下的,随后,CL 下生长的大豆真叶可溶糖逐渐上升,且一直高于 SD 下的。真叶内淀粉的测定结果表现为 CL 下的一直高于 SD 下的。从表 1 可见,连续照光下的真叶由于进行光合作用时间长,累积同化物较多。

3 讨论

叶片是光周期诱导期间植物光照信号的主要感受器官,探讨光周期诱导过程中叶片内的 ZEN 及植物激素等的变化,将为阐明高等植物成花机理提供有益资料。

自王辉等^[7]提出 ZEN 参与冬小麦光周期诱导以后,又对短日青萍 6746^[8]和长日青萍 G₃^[9]光周期诱导过程中的内源 ZEN 进行了检测,发现短日青萍诱导前期有 ZEN 峰值出现,而长日青萍则在第一朵花出现后维持较高含量水平。本实验首次以短日植物大豆的叶片为材料进行研究,发现诱导条件下真叶内源 ZEN 含量始终较 CL 下的高,有可能叶片作 ZEN 的临时贮存库,参与顶芽或侧芽花器官的启始过程,但目前尚无这方面的直接证据。孟繁静和张箴^[10]报导,随春化过程的日益加深,冬小麦分蘖节内的 ZEN 逐渐减少以至消失,而生长锥中却有相当数量的 ZEN 出现,说明 ZEN 在植物体内发生动态分配。在子叶出土后

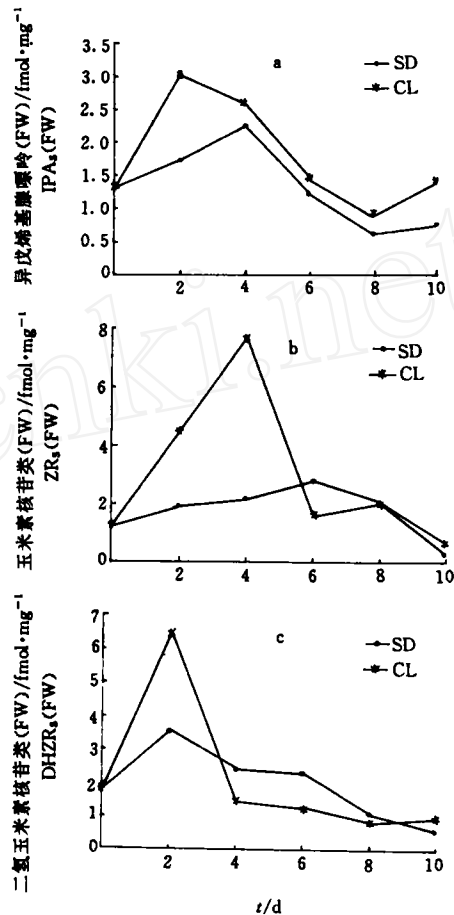


图 2 光周期诱导期间叶内 iPAs(a)、ZRs(b) 和 DHZR(c) 含量的变化

Fig. 2 Changes of iPAs(a), ZRs(b) and DHZR(c) content in the first leaf during photoperiodic induction period

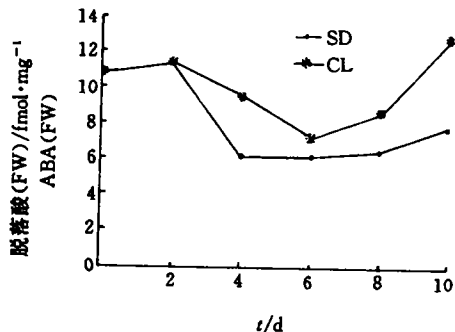


图 3 光周期诱导期间真叶内 ABA 含量的变化
Fig. 3 Changes of ABA content in the first leaf during photoperiodic induction period

的前2次取样时,叶片内的ZEN含量很高,推测与种子内结合态ZEN的大量释放有关。

表1 光周期诱导期叶片内可溶糖、蔗糖及淀粉含量变化 mg/g FW

Table 1 Changes of soluble sugar, sucrose and starch content in the first leaf during photoperiodic induction period

项 目 Item	处理天数/d Treatment day					
	0	2	4	6	8	10
SD 可溶糖 Soluble sugar	8.93	4.42	2.73	2.48	7.27	7.31
蔗糖 Sucrose	621.68	511.51	364.43	362.09	293.90	262.49
淀粉 Starch	3.19	1.35	1.7	1.73	1.81	4.33
CL 可溶糖 Soluble sugar	8.93	3.75	4.09	6.05	10.33	10.59
蔗糖 Sucrose	621.68	410.90	406.52	455.65	533.97	430.34
淀粉 Starch	3.19	1.50	3.13	3.73	3.88	5.67

傅永福和孟繁静^[11]的研究表明,外源ZEN可部分代替冬小麦的低温春化和短日诱导,若同时外施ZEN及GA₃或ZEN及IAA,可促进生长锥分化至雌雄蕊分化期,说明ZEN与其它因子间有协同作用。近年来研究发现,秋海棠、紫苏和白芥成花诱导后,叶片或顶芽外渗液中,CTK含量增加^[12~14],证明细胞分裂素作为成花诱导信号系统的一成员,参与植物的成花过程^[1];对光周期诱导过程中幼嫩真叶细胞分裂素的研究发现(图2),SD诱导前期,3种CTK含量逐渐增加,但明显的比CL下生长的大豆真叶中的CTK含量低;叶片内CTK的这种变化可能与叶片的生长状态

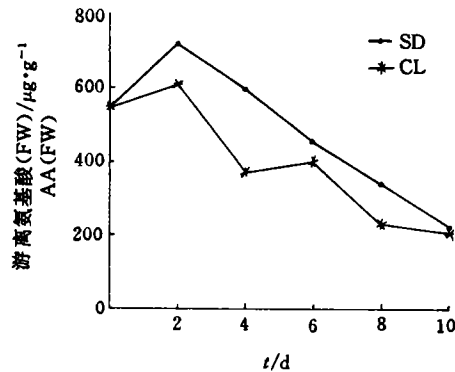


图4 光周期诱导期间真叶内游离氨基酸含量的变化
Fig.4 Changes of free amino acid content in the first leaf during photoperiodic induction period

有关,在连续光照下生长的大豆叶片迅速扩大生长,叶色较绿,营养生长较旺盛,到达花期时,LD下生长的大豆叶面积、株高等指标均明显高于SD下的大豆^[6]。CTK可能通过调节植物的生长速度影响营养生长与生殖生长的相关性。

在光周期诱导期间,连续光照下幼嫩及完全展开真叶中的ABA含量均较SD下的高,CL下高含量的ABA可能与叶片的ABA的主要合成部位有关,诱导植物中叶片内ABA保持在较低水平可能对光周期诱导有利,利用ABA缺乏突变体证明,拟南芥中ABA缺乏时花的形成提前^[1],说明ABA不利于植物的成花过程。但ABA与成花的关系尚无肯定结论。

与植物激素变化相对应,光周期诱导过程中物质代谢也发生了很大变化。诱导条件下真叶内游离氨基酸含量较高,可溶糖、蔗糖除诱导的第二天,含量较CL下的高外,其它时间的测定结果均表现为CL下的含量高,尽管SD下同化物含量较低,但并未影响生殖器官的发育,可见,CL下生长的大豆碳代谢较活跃,使得植株营养生长较强,而生殖生长却受到抑制。

综上所述,光周期诱导期间。真叶内ZEN及其它某些植物激素的代谢物质均发生了深刻的变化,ZEN和CTK、ABA协同控制了大豆光周期诱导过程的进行,协调的碳氮代谢水平又为诱导过程的完成提供了必需的物质基础。

参 考 文 献

- 1 Bernier G. Physiological signals that induce flowering. *The Plant Cell*, 1993,5:1147~1155
- 2 陈新建,刘泓川,孟繁静. 玉米赤霉烯酮的直接酶联免疫分析. *植物生理学通讯*,1989,(5):61~63
- 3 王韶唐. 植物组织中可溶糖及淀粉的测定. *植物生理学实验指导*,西安陕西科学技术出版社,1986,113~115
- 4 张振清. 蔗糖的微量测定. *植物生理学实验手册*. 薛应龙 主编. 上海:上海科学技术出版社,1985,137~138
- 5 汪沛洪. 蛋白质含量的测定-考马期亮兰 G-250 法. 西安:陕西科学技术出版社,1986,66~67
- 6 李秀菊. 植物激素及同化物变化与大豆生殖器官的建成与败退,北京农业大学博士学位论文,1995
- 7 王辉,于静娟,孟繁静. 冬小麦不同发育时期内源玉米赤霉烯酮含量变化对抽穗的影响. *北京农业大学学报*,1992,18(1):46
- 8 韩玉珍,孟繁静. 玉米赤霉烯酮影响微青萍生长发育有研究. *科学通报*,1990,22:1744~1746
- 9 傅永福,孟繁静. 玉米赤霉烯酮对膨胀青萍 G3 生长与发育的影响. *植物生理学报*,1993,19(4):395~398
- 10 孟繁静,张箴. 玉米赤霉烯酮的研究(续). *北京农业大学学报*,1981(2):101~103
- 11 傅永福,孟繁静. 玉米赤霉烯酮与冬小麦的生长与发育. *作物学报*,1994,20:271~276
- 12 Hansen CE, Kopperud C, Heide OM. Identity of cytokinins in *Begonia* leaves and their variation on relation to photoperiod and temperature. *Physiol Plant*, 1988,73:387~391
- 13 Guayling A, Hanke DE. Cytokinins in exudates from leaves and roots of red *Perillia*. *Phytochemistry*, 1992,31:1863~1968
- 14 Lejeune P, Bernier G, Requier M C, et al. Cytokinins in phloem and xylem sap of *Sinapis alba* L. during floral induction. *Physiol Plant*, 1994,90:522~528

Study on the Photoperiod -induced Flowering in Soybean

I. Change of Contents of Plant Hormones and Assimilates in the First Leaves

Li Xiuju Meng Fanjing

(College of Biological Sciences, CAU, Beijing 100094)

Abstract: During the induction of photoperiodism by short day of soybean (*Glycine max* L.), the content of zearalenone(ZEN) in the first leaves is higher than that grown under the continuous long days; the content of cytokinins(CTKS) is low during the earlier period of induction; the content of abscisic acid (ABA) in the earlier period is not significantly different from the long day treatment, but it maintains lower during the later period; the content of free amino acids in the first leaves increases first and then decreases later, although it is higher than that grown under long days; the content of sugar and starch maintains lower during the short day induction period. Thus, the change of plant hormones and assimilates along with the change of ZEN content in the first leaves of soybean under short day condition may play important role in the photoperiodic induction period of soybean.

Key words: soybean; photoperiodic induction; zearalenone; phytohormones; assimilates