

三裂叶豚草雄花序分化期 ABA、GAs 和 IAA 的含量动态

张 微, 赵小红, 陈旭辉, 翟 强, 苗 青, 曲 波
沈阳农业大学生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110866

摘要:【背景】三裂叶豚草为我国外来入侵有害植物,是世界公认的危害性杂草,不仅影响农牧业的生产,而且其花粉含有致敏蛋白,能引起人体一系列的过敏反应,危害人类健康。植物内源激素与植物生长发育的基本规律和代谢过程的调节控制密切相关。【方法】本文利用高效液相色谱法,研究了三裂叶豚草雄花序分化过程中3种内源激素的含量动态。【结果】在三裂叶豚草雄花芽分化过程中,赤霉素(GAs)的含量在分化初期比较平稳,从花蕾分化期开始急剧下降,雄蕊分化期又上升;吲哚乙酸(IAA)的含量始终处于缓慢上升的趋势;脱落酸(ABA)在花瓣分化期出现且迅速上升,在雄蕊分化末期达到峰值。3种激素中,ABA含量与三裂叶豚草花芽分化的相关性较明显。【结论与意义】ABA的出现及其含量是决定三裂叶豚草雄花序分化能否完成的一个关键因素。本研究为利用化学方法防治三裂叶豚草提供了依据。

关键词: 三裂叶豚草; 雄花序; 花芽分化; 内源激素; 高效液相色谱

Changes of three plant hormones during male inflorescence differentiation of *Ambrosia trifida*

Wei ZHANG, Xiao-hong ZHAO, Xu-hui CHEN, Qiang ZHAI, Qing MIAO, Bo QU
College of Biological Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866, China

Abstract:【Background】*Ambrosia trifida* L. is a harmful weed all over the world, causing harm to human health, farming as well as animal husbandry.【Method】The contents of three endogenous hormones gibberellic acid (GAs), indoles-3-acetic acid (IAA), and abscisic acid (ABA) were examined by high-performance liquid chromatography (HPLC).【Result】During the flower bud differentiation, and during the middle of flower bud differentiation, the content of GAs lowered and increased at the later stage. The content of IAA increased constantly. The amount of ABA increased fast at the later stage.【Conclusion and significance】ABA seemed to be the most important hormone during flower bud differentiation. The study will provide reference for chemical control of the ragweed.

Key words: *Ambrosia trifida*; male inflorescence; endogenous hormones; flower bud differentiation; HPLC

三裂叶豚草 *Ambrosia trifida* L. 属于菊科向日葵族豚草属,为一年生草本植物,原产于美国西南部和墨西哥北部的索诺兰沙漠地区,于20世纪50年代传入我国(关广清,1985)。目前,在我国三裂叶豚草主要分布于黑龙江、吉林、辽宁、北京、内蒙古、江西、山东等地区(王梅香等,2009)。

三裂叶豚草是世界公认的危害性杂草,主要原因之一是其在花期散发的大量花粉是引起人体一系列过敏性变态症状——秋季花粉症(枯草热)的主要致敏源(刘绍芹和吕国忠,2005)。据估计,一株三裂叶豚草能产生上亿个花粉粒,花粉粒可随空

气飘到603 km以外的地方,当空气中三裂叶豚草花粉粒的密度达到 $40 \sim 50$ 粒 \cdot m $^{-3}$ 时就能引起人们感染枯草热、过敏性皮炎和支气管哮喘病等(王建军等,2006)。据不完全统计,2000年在南京、沈阳、武汉、丹东等地医院门诊中发现和确诊了数百例豚草 *Ambrosia artemisiifolia* L. 花粉引起的过敏性疾病。南京市哮喘病人中,对豚草花粉阳性反应者占60%以上(李秀梅,1997)。

植物内源激素的研究是植物生理学研究的重要内容之一,植物内源激素与植物生长发育的基本规律和代谢过程的调节控制密切相关,内源激素的

准确测定对植物生命活动和作物遗传育种栽培领域的研究有重要意义(邓烈等,1991)。高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)是比较理想的植物内源激素的分析方法之一,但同时测定多种激素困难较大,如会出现分离度差、峰形不好等现象,因此,选择合适的提取方法和色谱条件是准确测定内源激素的关键。国内关于应用 HPLC 研究植物激素的报道多见于水稻 *Oryza sativa* L. 和玉米 *Zea mays* L. 等主要农作物,用于其他作物及外来入侵植物激素的研究很少(郝敬虹等,2008;林晓东,1997;舒仕瑜,2002;唐玉海等,2002;杨柏云等,2007;杨途熙等,2007)。王庆亚和李扬汉(1993)报道,在花序生长 2.5 cm 后喷施 2% 乙烯利能导致花的败育,使其表现为无雄蕊型和花粉败育型。但有关三裂叶豚草中内源激素的分离、测定在国内外尚未见报道。本试验以不同分化时期的三裂叶豚草雄花序为试验材料,提取其中的赤霉素(GAs)、吲哚乙酸(IAA)、脱落酸(ABA),采用 HPLC 分离、测定其含量,从而探讨雄花序分化关键时期相关激素的变化规律,为采取相关措施控制其花芽分化提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 样品来源 试验材料为不同时期的三裂叶豚草雄花序,按照其分化特征(具体特征另文报道),将其分为 10 个时期,分别剪取长 0.5 cm 的三裂叶豚草各时期雄花序芽于液氮中冷冻后贮于 -40 °C 下备用。

1.1.2 仪器 安捷伦 1200 型高效液相色谱仪、旋转蒸发仪、真空抽滤仪、滤纸、旋转蒸发瓶、试管、研钵、布氏漏斗、分液漏斗、0.45 μm 微孔滤膜、1 mL 注射器、滤器、微量进样器等。

1.1.3 试剂 甲醇(色谱级)、冰乙酸(色谱级)、石油醚、乙酸乙酯、PVPP(聚乙烯吡咯烷酮)、HCl 1 mol · L⁻¹、NaOH 1 mol · L⁻¹、ABA、GAs、IAA 标准品,试验用水均为超纯水。

1.2 标准溶液的配制

以甲醇-0.5% 冰醋酸水溶液(45:55)为溶剂,分别配制 1 mg · mL⁻¹ ABA、GAs、IAA 标准溶液,以流动相为溶剂,再将上述 3 种溶液配制成系列浓度的混合标准液,待测。

1.3 色谱条件

色谱柱:Kromasil ODS-C18 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:流动相为甲醇-0.5% 冰醋酸水溶液(45:55);柱温:30 °C;流速:0.5 mL · min⁻¹ 恒流洗脱;检测波长:254 nm;进样量:20 μL 。全波长扫描,以保留时间定性,外标法定量。

1.4 样品处理

准确称取 2.0 g 三裂叶豚草雄花序芽,迅速用液氮速冻并研磨成粉末,加入 15 mL 80% 冷甲醇,用保鲜膜密封,置于冰箱(4 °C)中浸提 12 h。将浸提液抽滤,取上清液,用 10 mL 80% 冷甲醇研磨残渣,4 °C 浸提 6 h。再次抽滤浸提液,取上清液,用 5 mL 80% 冷甲醇研磨残渣,4 °C 浸提 2 h,抽滤,合并上清液,弃去残渣。40 °C 下减压蒸发至没有甲醇残余。将剩余水相完全转移到分液漏斗中(试管中)。加入等体积的石油醚萃取、脱色 3 次,至石油醚无色为止,弃去醚相。将水相 pH 调至 6.4,加 0.5 g PVPP 超声 30 min,抽滤。将滤液 pH 调至 2.9,用等体积的乙酸乙酯萃取 3 次,合并酯相,40 °C 下减压蒸干。用流动相溶解残渣并定容至 2 mL,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后上机待测(郭蕊和孙国惠,2007;林晓东,1997;王庆亚和李扬汉,1993;杨途熙等,2007)。洗脱程序:以甲醇:0.5% 冰乙酸:超纯水 = 45:0.5:54.5 的水溶液为流动相,流速设置为 0.5 mL · min⁻¹。试验重复 3 次。

用 Excel 软件对所得数据进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 三裂叶豚草雄花序分化期间 GAs 含量的变化

由图 1 可以看出,在三裂叶豚草雄花序分化初期,即未分化期(198.98 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)至雄花序原基初期(186.15 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),其 GAs 浓度的变化比较平稳,且在一个比较高的水平上;但在雄花序原基中后期 GAs 浓度大幅下降,始终维持在一个很低的水平上;随后在侧花序原基初期 GAs 浓度又急剧上升,达到分化初期的水平,此后在侧花序原基中期虽有小幅下降,但在侧花序原基末期再次大幅上升,此时 GAs 的浓度达到一个峰值,为 257.54 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;在分化完成时,即雄花序成熟期再次下降至分化初期的水平。

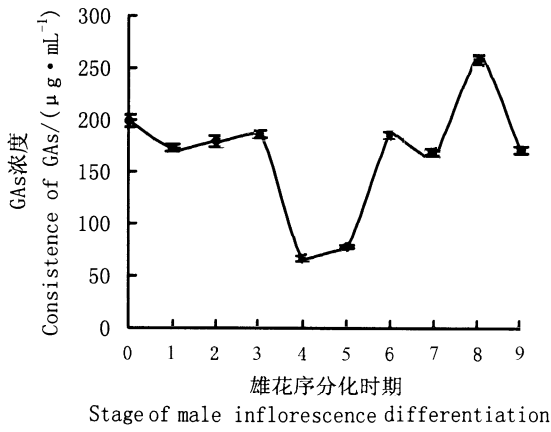


图1 三裂叶豚草雄花序分化期间 GAs 浓度的变化
 Fig.1 Change of GAs of the ragweed male inflorescence differentiation

0:雄花序花芽未分化期; 1:雄花序生长点分化初始期; 2:雄花序分化初期; 3:雄花序原基初期; 4:雄花序原基中期; 5:雄花序原基末期; 6:侧花序原基初期; 7:侧花序原基中期; 8:侧花序原基末期; 9:雄花序分化成熟期。下同。
 0: Non-differentiation period; 1: Initial period of growing point differentiation; 2: Initial period of male inflorescence differentiation; 3: Initial period of male inflorescence blastema; 4: Medium period of male inflorescence blastema; 5: Last period of male inflorescence blastema; 6: Initial period of lateral inflorescence blastema; 7: Medium period of lateral inflorescence blastema; 8: Last period of lateral inflorescence blastema; 9: Maturation period of male inflorescence differentiation. The same as below.

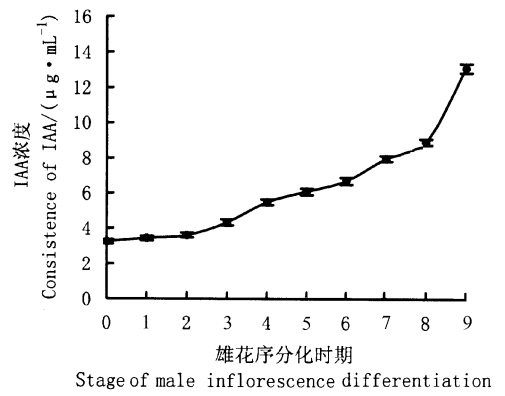


图2 三裂叶豚草雄花序分化期间 IAA 浓度的变化
 Fig.2 Change of IAA of the ragweed male inflorescence differentiation

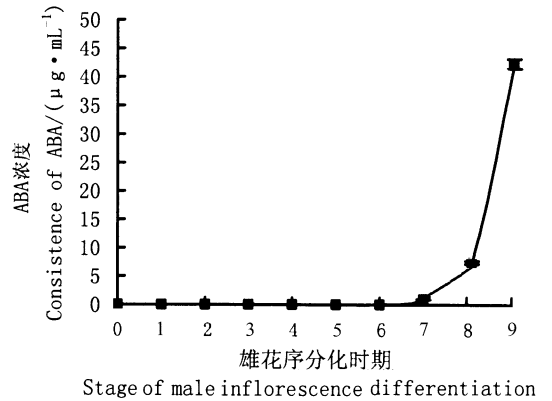


图3 三裂叶豚草雄花序分化期间 ABA 浓度的变化
 Fig.3 Change of ABA of the ragweed male inflorescence differentiation

2.2 三裂叶豚草雄花序分化期间 IAA 含量的变化

由图 2 可以看出, IAA 浓度在未分化期为 3.23 μg · mL⁻¹; 生长点分化初始期为 3.43 μg · mL⁻¹; 雄花序分化初期为 3.61 μg · mL⁻¹; 雄花序原基初期为 4.32 μg · mL⁻¹; 雄花序原基中期为 5.47 μg · mL⁻¹; 雄花序原基末期为 6.07 μg · mL⁻¹; 侧花序原基初期为 6.68 μg · mL⁻¹; 侧花序原基中期为 7.96 μg · mL⁻¹; 侧花序原基末期为 8.89 μg · mL⁻¹, IAA 浓度以一个十分平稳的速度上升; 但在分化接近完成的雄花序成熟期急剧上升至 13.09 μg · mL⁻¹, 此时达到最大值。

2.3 三裂叶豚草雄花序分化期间 ABA 含量的变化

由图 3 可以看出, ABA 浓度在侧花序原基分化前始终未被检测出, 说明此时三裂叶豚草雄花序中 ABA 含量极低; 到侧花序分化期 ABA 才被检测出, 侧花序原基分化中期 ABA 浓度仅为 0.94 μg · mL⁻¹; 随后 ABA 浓度迅速升高, 在侧花序原基末期为 7.54 μg · mL⁻¹; 而在雄花序成熟期 ABA 浓度再次大幅度上升并达到一个峰值, 为 42.46 μg · mL⁻¹。

3 讨论

三裂叶豚草雄花序分化会受到多种因子的影响。一方面, 环境条件, 即光照、温度、矿质营养、水分等条件的改变可能对三裂叶豚草的雄花序分化产生直接或间接的影响; 另一方面, 内源激素也影响着三裂叶豚草的雄花序分化。

目前已知的五大类激素对植物开花都有一定的作用, 但最有影响的是 GAs、生长素、ABA 等。相关学者普遍认为, GAs 对果树及木本植物花的发生起抑制作用, 这在许多果树中已得到证明 (邓烈, 1991; 王玉华, 2002)。而 GAs 对植物成花的影响, 还可能与处理时期有关。研究表明, GAs 最大的抑花效应是在芽端端的初期, 此时低 GAs 含量可能有利于花芽由营养状况向生殖状况转变, 在花芽分化后作用逐渐减弱。GAs 对花芽的影响具有阶段性, 在花芽分化前, GAs 量减少是分化所必需的, 而在后期花器官发育, GAs 对其有促进作用, 正如其他幼

嫩器官发育都含丰富的 GAs 类物质一样(林晓东, 1997)。还有一种观点认为,低浓度的 GAs 对花芽分化具有促进作用,而高浓度的 GAs 则会抑制花芽分化,这在许多植物中均已得到证实,但主要表现在草本植物中(曲波等,2010)。ABA 可以诱导某些短日植物开花。如 ABA 可以诱导草莓 *Fragaria ananassa* Duch. 开花,但不能使长日照植物开花。关于 ABA 是否参与成花过程备受争议(郭蕊和孙国惠,2007)。但也有学者在研究花芽分化期间的内源激素变化动态时发现,在苹果 *Malus domestica* Mill.、柑橘 *Citrus reticulata* Banco.、荔枝 *Litchi chinensis* Sonner 等花芽中,都有一个短暂的 ABA 上升积累过程。本试验也得到了与之一致的结论。IAA 对成花的作用最早被认识到,但一直是一个有争议的问题。一种观点认为,IAA 可能是花芽形成的抑制因子(王玉华等,2002);而 Williams & Edgerton (1981)认为,用 IAA 作疏果剂常常促进苹果的花芽分化。目前普遍认为,低浓度生长素是花发生所必需的,但高浓度则抑制开花(罗平源等,2006)。

本试验中,通过对三裂叶豚草雄花序分化不同时期的内源激素 GAs、IAA 和 ABA 含量的测定,发现在三裂叶豚草雄花序分化初期,即未分化期至雄花序分化初期,其 GAs 浓度的变化比较平稳,且在一个比较高的水平上,但在雄花序原基中后期 GAs 浓度大幅下降,维持在一个很低的水平上,随后在侧花序原基前中期 GAs 浓度又急剧上升,达到分化初期的水平,但在侧花序原基分化末期再次大幅上升,此时 GAs 的浓度达到峰值,为 $257.54 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,并在雄花序分化成熟期,再次下降至分化初期的水平。总体来说,GAs 的含量在三裂叶豚草雄花序分化中期有十分明显的变化,但在分布上未表现一致性。IAA 的含量在整个分化过程中基本处于缓慢上升的趋势,只是在雄花序分化成熟期急剧上升,达到峰值。ABA 直到侧花序分化期才出现且含量急剧上升,在雄花序分化成熟期达到峰值。由此可见,ABA 的出现及其含量可能是决定三裂叶豚草雄花序分化过程能否完成的一个关键因素,ABA 含量不足可能会导致三裂叶豚草雄花序无法分化,从而使其不能开花、授粉,继而影响其产籽率。因此,在今后的研究中还需对其进行外施激素试验,以进一步证明该结论的正确性。

参考文献

- 邓烈,李学柱,何绍兰. 1991. 柑桔花芽分化与内源激素及淀粉酶活性的关系. 西南农业大学学报,13(1):87-91.
- 关广清. 1985. 豚草和三裂叶豚草的形态特征和变异类型. 沈阳农学院学报,16(4):9-17.
- 郭蕊,孙国惠. 2007. 百合内源激素与鳞茎休眠及花芽分化关系的研究. 辽宁林业科技,(5):41-44.
- 郝敬虹,齐红岩,阎妮,王昊祥. 2008. 园艺作物花芽分化的研究进展. 农业科技与装备,175(2):7-9.
- 李秀梅. 1997. 恶性害草豚草的综合防治研究进展. 杂草科学,(1):7-10.
- 林晓东. 1997. 激素调节花芽分化的研究进展. 果树科学,14(4):269-274.
- 刘绍芹,吕国忠. 2005. 豚草及豚草的综合治理. 西北农林科技大学学报:自然科学版,(增刊):237-242.
- 罗平源,史继孔,张万萍. 2006. 银杏雌花芽分化期间内源激素、碳水化合物和矿质营养的变化. 浙江林学院学报,23(5):532-537.
- 曲波,张微,陈旭辉,李楠,崔娜,李天来. 2010. 植物花芽分化进展. 中国农学通报,26(24):109-114.
- 舒仕瑜. 2002. 白藜芦醇苷生物活性及药理作用. 儿科医学杂志,8(1):9-11.
- 唐玉海,靳菊情,刘芸. 2002. 电化学发光法测定虎杖中的白藜芦醇苷含量的研究. 西北药学研究,17(1):6-8.
- 王建军,赵宝玉,李明涛,李蓉. 2006. 生态入侵植物豚草及其综合防治. 草业科学,23(4):71-75.
- 王梅香,黎祺祥,孙中兴,温景添,李国华. 2009. 豚草的危害与防控. 广东农业科学,(10):110-111.
- 王庆亚,李扬汉. 1993. 乙烯利诱导豚草雄蕊败育的细胞形态学观察. 南京农业大学学报,16(3):20-26.
- 王玉华,范崇辉,沈向,曲桂敏,史继东. 2002. 大樱桃花芽分化期内源激素含量的变化. 西北农业学报,11(1):64-67.
- 杨柏云,郭燕华,罗丽萍,高荫榆. 2007. 百合鳞茎内源激素的 HPLC 测定法. 南昌大学学报:理科版,31(6):570-571.
- 杨途熙,魏安智,郑元,杨恒,杨向娜,张睿. 2007. 高效液相色谱法同时分离测定仁用杏花芽中 8 种植物激素. 分析化学研究简报,35(9):1359-1361.
- Williams M W and Edgerton L J. 1981. *Fruit Thinning of Apples and Pears with Chemicals*. Washington, D. C. : U. S. Department of Agriculture, Science and Education Administration.

(责任编辑:杨郁霞)