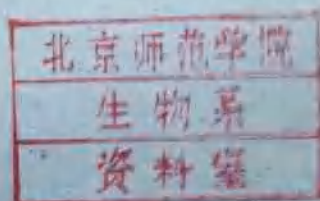


77.4.14

开花生理的研究概述

傅家瑞



中国植物生理学会

全国学术讨论会

一九七九年八月

开花生理的研究概述

中山大学生物学系 傅家瑞

(一) 前言

开花生理是植物生理学中一个重要研究领域。人们在农业生产长期实践中，认识到农作物从营养生长转向生殖生长过程的重大意义，并对这一个生物学的基本问题十分重视。

在五十年代初，我们从亚麻的光周期反应特性入手开始了开花生理的研究工作（于志佛等，1956）。其后，对一些主要作物开花与光周期关系进行研究（傅家瑞，1964）。对黄麻早播出现早花的问题，我们从光周期理论上给予回答（于志佛等，1961）。接着，还对黄麻开花诱导问题做了一些较深入的工作（傅家瑞等，1964，1964，1966）。

60年代至70年代初，国际上开花生理的研究发展迅速。自1965—1971年期间，关于开花生理的论文超过1200篇（Evans, 1971）。1952—1976年在植物生理学年评上发表了9篇阶段性的综述论文；另外还出版了不少专著（Zeevalk, 1976）。但因开花过程复杂，在研究中碰到不少困难，许多问题仍有待今后解决，显然，开花生理的研究正处于重大突破的前夜。

(二) 开花理论的历史进程

开花生理研究中的两种不同观点源自十九世纪后半叶已开始形成。Vochting (1878) 认为减弱光强对开花的不良影响是由于同化物的减少所致；而 Sachs (1882) 则认为在同化物之

外还有另一些微营养物质是开花所必须的，并提出“器官形成物质”的假说。这就是开花基于特殊物质抑或一般代谢物平衡的两种截然不同的观点。

到了20世纪，在近代科学的基础上，两种观点又有了新的进展。Klebs (1918) 通过实验得出结论，指出碳水化合物和无机营养的平衡是开花的决定性原因，而Kraus & Kraybill (1918) 更具体地提出碳氮比学说。Garner & Allard (1920, 1923) 发表了光周期学说的经典性论文，阐明光周期的基本原理，并从大波斯菊的试验中 (1925) 发现光周期效应局限在叶子上，而刺激则传递至顶芽。由于生长素的发现，Sachs 的特殊物质的观点又重新被提出。Moshkov (1936), Chailakhyan (1936) 几乎同时提出有一特殊激素使植物转向开花。其后人们发现赤霉素对抽苔有显著作用，因此 Chailakhyan (1958) 又修正他的成花素假说，把成花素说成是由 GA 和 Anthesin 两部分组成的。

近代开花生理认为光、温条件是开花的主要环境因素，但对环境因素和内部变化的联系则存在不同的观点。一种观点认为开花所要求的环境条件必须出现于适宜的时间，其中有查素科 (1928, 1935) 的阶段发育理论，提出冬作物在春化阶段中要求低温，而在光照阶段中要求长日照，还有 Bünning (1944) 的内部昼夜节奏学说，提出内在节奏明显地引起两种生理状态的相互交替，形成植物对光周期反应的计时过程。从

缩写字: SDP 短日性植物	SD 在短日照下	CK 细胞分裂素
LDP 长日性植物	LD 在长日照下	ABA 脱落酸
LSDP 长/短日性植物	GA 赤霉素	6-BA 苄基腺嘌呤

光周期效应的解释上看, Bunning 理论仍具有较大意义。另一种观点认为环境因子诱导代谢产生特殊的开花物质, 即开花刺激物是一种激素。

本文主要讨论后一种观点。

(三) 开花刺激物与光周期诱导

感受光周期的部位在叶, 花芽分化的部位在基端分生组织, 因而这种诱导必须经过信号传递, 这种信号就称为开花刺激物、开花激素或开花物质。三十多年来, 上千次的实验, 试图从植物体中提取出开花物质, 迄今为止, 尚未获得肯定的结果 (de Fossard, 1974)。

1. 开花刺激物的产生和移动

虽然开花刺激物的提取分离鉴定尚未成功, 但从去叶及嫁接等试验已能充分证明它由诱导部位移动至基端的真实性。

Carr (1967) 认为从诱导叶发生的原始刺激物不同于通过 (见下表), 认为不同类型植物的原始刺激物是不同的, 而次生刺激物则是共同的。

运转速度 (厘米/小时)	<i>Lolium</i> 黑麦草属 (LDP)	<i>Pharbitis</i> 牵牛 (SD)
开花刺激物	2	24-37
光合产物	77-105	33-37

在不同科植物的嫁接中, 虽未形成维管束连结 (Wellensiek, 1970), 但经长时间接触, 受体接穗仍可诱导成花, 这表明在没有韧皮部连接时, 刺激物可通过细胞间传递。

落地生根是高凉菜的有效供体，而藜也是 *Blitum* 的有效供体，可是反过未用高凉菜或 *Blitum* 为供体，则只获得弱的开花感应。*van de Poel* (1972) 推论高凉菜与 *Blitum* 所需刺激物的量较低，而落地生根与藜则较高。另外，早熟的高凉菜品系要求开花刺激物的量也比迟熟品种少。

据柴拉轩的观点，开花素包括 GA 及 *Anthesin*，对 SDP，*Anthesin* 是限制因子，而对 LDP，则是 GA。从这一假说而发理当预期 LDP 与 SDP 嫁接后可以开花，但成功例子亦多。其中一例是 LDP *Nicotiana sylvestris* (受体) 可在营养生长状态 SDP M. M. 烟草 (供体) 的影响下成花。另一例是 LDP 大叶落地生根，当它嫁接的枝 (受体) 位于 LD 与 SD 组织之间 (供体)，3 个月后可现花芽，而用诱导的供体则需时不足一个月。*Chailakhyan* (1971) 认为 GA 来自 LD 组织而 *Anthesin* 来自 SD 组织，因此在两个营养生长的组织之间嫁接可以成花。但 *Zeevaart* (1973) 则认为，在 LD 砧木的叶内产生大量 GA，向上转移至 SD 接穗中，提高那里的 GA 水平，引致开花素的产生，因而受体枝开花。与 GA 在落地生根上能诱导开花相反，应用 GA 于夜香树却抑制开花 (*Sachs*, 1969)。根据所获得的事实，GA 本身不是诱导开花的物质，而是通过开花刺激物的产生间接地起作用 (*van de Poel*, 1972; *Wellensiek*, 1966; *Zeevaart* 等, 1962; *Zeevaart*, 1976)。

2. 开花刺激物的提取

Lincoln 等 (1961) 作了一个很有意义的实验。他们用甲醇为溶剂，从开花的苍耳叶中提出了一种粗提物，混在羊毛脂里涂到营养生长的苍耳叶背，可引起约 50% 植株花的顶端。后又从中间性植物向日葵开花植株叶中提取了粗提物，也可使 20% 营养生长的苍耳开花。这种活性物质具酸性，称之为开花

素酸 (florigenic acid) (Lincoln 等, 1964)。1970 年 Hodson & Hamner 从苍耳开花株取得的粗提物, 不论加入或不加入 GA_3 , 或单独使用 GA_3 , 均无诱导开花活性。从生长中幼叶或除去老叶的芽中所获得的制备物活性最大。另外, 从可可花瘤中分离出来的一种真菌 (*Calonectria*), 它的培养滤液对苍耳 (Lincoln 等, 1966) 及浮萍 (Hodson, 1970) 也有活性。苍耳粗提物工作至少已在两个实验室得到证实 (Carr, 1967; Gibby, 1973), 但在别的实验室则否 (Cleland, — Mukherjee & Zeevaart)。Gibby 的初次实验成功, 但后来却不能重复 (1973)。

1974 年, Cleland 利用蚜虫收集苍耳的韧皮部汁液, 这些汁液可引起 LDP *Lemna gibba* G3 开花, 活性物质鉴定为水杨酸。但水杨酸单独使用, 或与 GA_3 及 KN 混合使用均不能诱导苍耳开花。

1972 年, Kopcewicz 等研究了在 LDP 天仙子和一串红以及在 SDP *Perilla pycnantha* 和藜芦种植物体内雌激素类似物在营养株中不存在。当诱导开始时, 雌激素类似物出现在花芽形成与开花时, 含量达到高峰。后来, 他们 (1974) 又从一个一串红分离出雌激素类似物的组分, 并可引起非诱导株 50% 开花。另外, 他 (1970) 用雌二酮诱导一串红获得 36% 开花诱导菊苣获得 85% 开花。

(四) 开花诱导中的抑制物

Zeevaart 早在 1962 年就指出, 在非诱导状态下产生有传递能力的开花抑制物, 并引用了 Gutteridge (1959) 草莓试验。将具有长匍匐茎相连两株草莓分别置于诱导与非诱导状态下, SD 株的开花受到阻碍, 但生长却促进。推论是在 LD

下产生一种可传递的抑制物，既能抑制开花又能促进营养生长。Thompson & Guttridge (1960) 继续指示，完全的草莓处于连续黑暗中或去叶草莓处于连续光照中均能开花，而在连续光照中的完整株则不能开花。可见草莓本来可在任何光周期下开花，只因在光下 (LD) 叶产生抑制物并运转至芽，从而阻碍开花。SD 处理可能终止抑制物的产生。

将 *Perilla* 顶芽培育在 SD 下可发育成正常的花，而在 LD 下只获得发育不全的花 (Raghavan 等, 1961)。可见 *Perilla* 花的发端不受光周期影响。此外还伴着生小叶，花的发端为 SD 促进而为 LD 阻止，如同完整株一样。这表明 *Perilla* 的开花为促进物与抑制物的平衡所控制。Evans (1960) 发现燕麦 LD 叶产生促进物的过程不受缺氧条件影响，而 SD 叶产生抑制物则需要氧，是一个氧化的合成过程。Searle (1965) 认为抑制物主要作用于芽而不是用于成花素的合成，更多地作用于花的早期发育而不是在分化期。

菟丝子和大豆试验是个很有趣的例子。当菟丝子同时寄生于两株大豆上，原先其中一株处于诱导状态中，而另一株处于非诱导状态中，此时由于非诱导状态 (LD) 而使大豆叶产生抑制物，通过菟丝子传递至诱导株，使诱导株 (SD) 开花过程也受到抑制。但一旦除去非诱导株的叶片时，也就介除抑制开花的作用 (Frattianne, 1965)。这一例子很有说服力，但是否具普遍性，人们是有疑问的。

70 年代初，对开花抑制物的作用有了进一步研究。Gibby & Salisbury (1971) 发现要抑制苍耳开花，必须在 SD 组织与芽之间存在 LD 组织，即一叶的上半部处于 SD 而下半部处于 LD。如果 LD 叶居于 SD 叶与芽之间，则不能抑制开花，因迅速开花的 LD 叶成为 SD 同化物与开花刺激物运输的平衡

拔 (King, 1973)。至于 LDP *Sinapis*, 甚至位于 LD 叶下部的非诱导叶也能削弱开花感应 (Kinet 等 1971)。

(五) 开花诱导中的茎端变化

1. 经诱导后茎端的早期变化

唤起 (evocation) 是茎端从营养生长状转换为花的发端动态的表现。

营养生长的茎端是相对地不活跃的器官, 它的有丝分裂指数通常是 1% 左右, 有丝分裂的周期也较长 (Jacqmar, 1970; Saint-Côme, 1969)。在幼令茎端, 中央区细胞的 RNA 含量低 (Seidlova 等, 1968), 在非诱导状态下, 随时间而增加 RNA 含量, 接近活性较高的周围区 (Nougarede 等, 1965; Pedurand, 1969)。这样的茎端是处于中间状态, 虽然中央区活性接近周围区, 但仍比诱导株为低, 在非诱导条件下继续营养生长。

从营养生长转向开花状态之际, 茎端分生组织的有丝分裂活性增加。如 *Sinapis* 的营养生长茎端几乎一半细胞处于 G_2 期。在开花刺激物到达后这些细胞进行有丝分裂, LD 诱导开始后 26—30 小时有丝分裂活性高峰出现 (Jacqmar 等, 1971)。任何试图诱导 *Sinapis* 开花而不诱导茎端早期有丝分裂增加均告失败 (Bernier 等, 1974)。在 LD 诱导开始后 34—38 小时, 可以观察到 DNA 合成高峰, 在 LD 诱导开始后 62 小时出现有丝分裂活性的第二个高峰, 与第一个花芽发端相联系。在 LD 诱导开始后 34 小时, 组蛋白达到最小量, 其后增加速度比 DNA 快; 总蛋白与组蛋白平行 (Jacqmar 等, 1972)。

茎端唤起的茎端转变过程较慢 (Bernier 等, 1974)。

从开花刺激物到达，至有丝分裂活性开始增加的迟滞期，苍耳是24小时，*Sinapis*为4小时。

呼吸对基端唤起是必要的 (Qota, 1965)，糖的水平起一定促进作用 (Chouard等, 1970; Margara 等, 1966; Nitsch 等, 1967; Paulet, 1965)。Teltscherova 等 (1966) 发现小麦在唤起后，基端呼吸增强并更加依赖于TCA途径。

Zeevaart (1962) 用两种核酸抑制剂 5—氟尿嘧啶和 5—氟脱氧尿核苷完全抑制牵牛成花，作用部位限于基端。用DNA前体如胸腺嘧啶核苷、胸腺核苷酸和脱氧尿核苷均可完全逆转，表明DNA的合成受到这些抑制剂影响。在开花刺激物到达基端前后极短暂时间内施用抑制剂最有效，而在刺激物到达基端前40小时施用，抑制开花不明显，因抑制剂在40小时内被代谢而消除，于是DNA合成重新进行。在诱导暗期结束后30小时以上施用，因那时基端已发生变化，也起不到抑制花的发生。Bosmer等 (1962) 用5—氟尿嘧啶也能同样地抑制苍耳的开花诱导。要有效地抑制苍耳开花，必须在诱导暗期的前期施药，这表明在诱导暗期前8个小时中苍耳基端已发生一些变化，包括RNA合成过程。后来，Talandier (1971) 在LD诱导开始后10—14小时施用5—氟脱氧尿核苷到 *Anagallis* (海绿属) 基端，即能抑制成花过程，也能抑制DNA合成高峰。可见从营养生长的基端转化为成花的基端唤起，核酸代谢是一个重要因素。

2. 组织培养技术的应用

在研究开花诱导中，常用完整的或去叶的营养株，可是营养株由于产生抑制物，则会消减其发端潜能。因此，1967年间 de Fossard 等人分别提出用组织培养来研究开花刺激物与抑

制物的理论依据。

要获得对外加的开花物质明确反应必须有三个条件：(1) 实验材料必须生长在诱导条件中以避免天然抑制物的形成；(2) 实验材料必须去叶以减少天然开花刺激物产生的数量；(3) 实验材料要用对开花物质反应的组织，如茎端分生组织，而避免应用物的间接反应 (de Fossard 1967)。

de Fossard 采用很小的茎端为实验材料，从3—4天龄的幼苗上取1/4毫米长的茎端，其上要有两个长约50 μ 的叶原基和次顶端组织、下胚轴—子叶节组织 (de Fossard, 1974)。在外植体上的叶原基常呈叶的功能，因此，应尽量把外植体缩小到感受刺激物的那一部分。但茎端太小会影响生活力。另外一些工作者则用较大的茎端，如紫拉轩 (1959) 用3—4毫米长的 *Parilla* 芽外植体；Raghavan & Jacobs (1961) 用8—10毫米长的白芥茎端；Deltour (1967) 用 *Sinapis alba* 1.5毫米长茎端；Harada (1967) 用2—3毫米长的牵牛与菊属的茎端；Nitsch 等 (1967) 用7毫米长4毫米直径的白花丹属 SDP 的节间切段为实验材料 (要防止预先形成的芽)。

外植体的茎端诱导受母株状态的影响。莢的茎端来自非诱导株，在约第一周内对光长不敏感，因这时正是叶原基发育期。其后置于SD下，叶原基产生开花刺激物 (de Fossard, 1974)。

培养一种鳶尾鳞茎小外植体要预先13℃的贮藏，否则不能诱导开花。如外植体具较多的初生叶，则培养在13℃中即可开花。小外植体连同鳞叶一起在13℃中培养能诱导开花，可以解释为鳞叶中产生的物质通过“琼脂桥”而使鳞茎转向生殖。(Rodrigues Pereira, 1965)。

从烟草茎顶到茎基的切段培养，存在产生花芽不同能力的

梯度(Aghion *prat*, 1965)。烟草开花梯度与DNA含量相平行, 在开花株的最上部茎组织中, 每克鲜重含DNA量, 比茎下部超过10倍(Wardell, 等1973)。用花序部分所分离出来的DNA施于去顶株的无叶腋芽上, 可使成花; 反之, 从营养株制备的DNA则无诱导开花的活性。经温度变性的DNA可增加诱导开花的活性, 而经DNase处理的则完全消除活性(Wardell, 1976)。

来自烟草茎基部和顶部的愈伤组织能分别保持产生营养芽与花芽的能力, 这一不同来源的差别至少可以通过三次继代培养(Chailakhyan 等, 1974, 1975; Wardell 1973)。这一结果意味着部分的分化状态可以通过有丝分裂周期而传递(Heslop Harrison, 1967)。

(六) 植物激素在开花诱导中的作用

花的发端可为植物激素所诱导, 但内源激素对成花的控制机理还不甚了解。

Miginiao 等用玄参属的一种 *Scrofularia arguta* (LDP) 和藜属的一种 *Chenopodium polyspermum* (SDV) 进行试验, 发现它们腋芽的生殖发育可为根及茎尖所控制。根对花芽分化的抑制作用, 可为CK所代替(1972); 而茎尖对花芽分化的促进作用, 可为生长素及ABA所代替(1973)。

乙烯诱导凤梨科植物开花已广泛为人们所熟悉。此外, 乙烯还可刺激苹果花的发端(Williams, 1972), 芒果花的发端(Chacko 等, 1974), 以及增加春化冬小麦抽穗(Chrominski 等, 1973)。可是, 对另一些植物却抑制成花。Suge (1972)指出, 乙烯在牵牛子叶中的作用是在16小时诱导暗期

中的后半部。

在SD下可增加CK的提取量(Heide等, 1967)。菊花的成花过程可为6-BA促进(Pharis, 1972)。九重葛花序发育可为CK所促进, Tse等(1974)认为这是由于茎端同化物的累积。从开花茎节中流出的蚜虫密液比营养株含有较高水平的CK(Phillips等, 1972), 但抽提物则否。

GA能诱导一些莲座叶丛的LDP在SD下开花, 也可以诱导那些要求低温的植物不经过低温而开花。Harada等(1959)发现要求低温的菊花品种和金光菊的抽苔与类GA物数量存在一正相关。对一般的SDp, GA诱导开花尚缺乏例子, 在有些情况下GA可令SDp在SD下减弱开花(Harder等, 1956)。在莲座叶丛, 茎节只能产生少数花, 此时用GA可增强开花感应。(Lincoln等, 1958)。

柏科、杉科植物的幼令状态可用GA使之迅速结束, 最近使用GA₄, GA₅, GA₇, GA₉, 使松科植物的令期提早结束(Pharis等, 1976; Romberg等, 1974)。在裸子植物中, 幼令期的GA水平甚低, 但被子植物如芽蘖子却甚高(Schwabe等, 1973)。对大多数双子叶木本植物, 应用GA₃反而抑制花芽形成(Jackson等, 1972; Sachs等, 1969)。柑橙类、桃、杏、樱桃、梅、苹果、梨等开花要求低GA水平(Goldschmidt等, 1972), 它们的营养枝内流类GA物最高, 而生迹枝内则最低。Sage(1971)指出: 水稻在诱导后3天出现GA含量高峰, 随后又降低。总之, GA的存在是所有植物茎端感应的先决条件, 对LDP来说, GA水平通常是限制因子。

GA—诱导的茎伸长和成花为两个不同基因所决定(Wellensiek, 1973)。生长延缓剂能部分地(Kochantov, 1971)或完全地(Cleland等, 1970; Peterson等, 1972)抑制茎

伸长而成花却正常发生。LDP从SD移入LD,引起GA生物合成及代谢速率的增加(Zeevaart, 1974)。

目前已知,在严格的非诱导状态下,应用(±)-ABA不能诱导SDP成花,但能使稍为诱导的牵牛(Harada等, 1971; Nakayama, 1973,)和藜(Krekule等, 1971, 1972)开花反应加强;而抑制高凉菜成花(Schwaba, 1972)。混合(±)-ABA和生长延缓剂可使浮萍在LD下有一弱的开花反应(Kandeler等, 1973)。

(七) 结 束 语

多年来科学工作者尽了很大努力探求开花过程的物质基础可是迄今为止,对开花物质的了解多为生理作用,而很少能解决它的产生及化学性质。至于茎端在开花物质到达后所引起的早期变化,对一些基本问题仍未解决。根据近代生物学观点,开花过程不过是可开花的基因与环境(例如光周期)之间一种交互作用的结果。因而,花的发端必然涉及核酸代谢问题。预期在测定RNA及蛋白质有效技术的改善下,对某些基本问题会获得答案。

单一的成花物质控制开花的观点已渐被抛弃,某些学者提出成花是特定的激素之间平衡作用于茎端的结果。这一假说在本年多年生植物上迅速应用,但对草本植物的成花解释却不诱人。

除抽提法外,收集韧皮部汁液的工作很有意义。如果成花所要求的是一个特殊的激素复合体或激素顺序体,则对单一物质的活性寻找肯定是困难的。无疑,开花刺激物与抑制物的发现不但对开花理论十分重要,而且对应用科学和生产实践也是

十分有意义的。

在开花过程中，植物激素所起的作用已为不少实验所阐明。植物激素之间的相互作用在核酸、蛋白质合成与酶系统活性的调节控制上起着重要作用，而内源激素又经常受环境因素所影响，不但在含量上发生变化，而且各种激素之间的比例也在不断改变中。由此可以推论，植物激素在引发司开花基因的机理中，将会扮演重要角色。植物激素之间的相互作用与开花刺激物、抑制物之间相互作用很可能存在密切联系，这将有待于今后研究揭露！