

# 蓝莓多次开花现象研究

和潭<sup>1</sup>, 杨正松<sup>1,2</sup>, 杨燕林<sup>1</sup>, 和志娇<sup>1</sup>, 王朝文<sup>1</sup>, 毕海林<sup>1</sup>, 和文佳<sup>1</sup>, 杨洪涛<sup>1</sup>, 和加卫<sup>1\*</sup>

(1. 云南省农业科学院高山经济植物研究所, 云南丽江 674199; 2. 丽江蓝玛生物科技开发有限责任公司, 云南丽江 674199)

**摘要** 在温带和亚热带地区, 大部分果树一年内通常只进行一次花芽分化, 开花结果一次。云南具有丰富的生态多样性, 独特的气候造成了特殊的现象。与国内其他蓝莓产区不同, 一些蓝莓品种在云南出现一年中多次开花结果的特征, 可以在秋冬季节提供鲜果, 时逢蓝莓鲜果淡季, 经济价值高。从形态学、生理学和分子生物学的角度, 初步探讨了蓝莓多次开花的机理。

**关键词** 蓝莓; 多次开花; 机理; 云南

中图分类号 S663.9 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)04-0034-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.04.008



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

## Study on the Phenomenon of Multiple Flowering of Blueberry

HE Tan<sup>1</sup>, YANG Zheng-song<sup>1,2</sup>, YANG Yan-lin<sup>1</sup> et al (1. Alpine Economic Plant Research Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Lijiang, Yunnan 674199; 2. Lijiang Lanma Biological Technology Development Co., Ltd., Lijiang, Yunnan 674199)

**Abstract** In temperate and subtropical regions, most fruit trees usually only undergo flower bud differentiation, and the flowering and fruiting once within one year. Yunnan is rich in ecological diversity, and the unique climate has created a special phenomenon. Different from other blueberry producing areas in China, some blueberry varieties have the characteristics of multiple flowering and fruiting in Yunnan within one year. Fresh fruit can be provided in the autumn and winter seasons, when the blueberry fresh fruit is off season, the economic value is high. The mechanism of multiple flowering of blueberries was discussed from the perspective of morphology, physiology and molecular biology.

**Key words** Blueberry; Multiple flowering; Mechanism; Yunnan

蓝莓(blueberry), 又称为越桔、越橘、蓝浆果, 为杜鹃花科(Ericaceae) 越桔亚科(Vaccinioideae) 越桔属(Vaccinium L.) 植物, 为多年生落叶或常绿灌木或小灌木树种<sup>[1-3]</sup>, 是一类重要的小浆果资源, 原产于美国、加拿大、苏格兰、俄罗斯及我国东北和西南地区。果实风味甜酸适口, 除了富含糖、酸和维生素 C 外, 还含有花色苷、黄酮、黄酮醇、多酚、原花青素、维生素 A、维生素 B<sub>1</sub>、维生素 E、熊果苷等其他果品中少有的特殊成分, 也含有丰富的钾、铁、锌、锰等微量元素<sup>[2-4]</sup>。蓝莓以其独特的保健功能和营养价值在国外引起广泛的重视和应用, 成为目前世界上流行的新兴小浆果类水果之一。同时, 蓝莓的深加工产品也广泛应用在食品、饮料、化工、美容、保健、医疗等行业<sup>[1-2]</sup>。

大多数的蓝莓品种与其他植物一样, 在其生长发育周期中, 于春季开花, 夏秋季新的花芽分化, 秋季落叶, 冬季休眠。但在实际生产中, 也常出现“夏花秋实”“秋花冬实”的现象, 即在秋季采收果实后, 果树出现再次或多次开花结果的现象<sup>[5]</sup>。植物二次开花或多次开花的原因很多, 例如天气异常、病虫害、肥水管理不当及品种影响等<sup>[6-15]</sup>。开花结实是果树年生长周期和生命周期中最重要的过程。在温带和亚热带地区, 大部分果树一年内通常只进行一次花芽分化, 开花结果一次。云南是我国特殊的蓝莓生产基地, 这里生产的蓝莓不仅早熟、果实品质好, 而且由于具有低纬度高原的

气候特点, 一些蓝莓品种在云南出现 2 次或多次开花结果的特征, 可以在秋冬季节提供鲜果, 时逢蓝莓鲜果淡季, 经济价值高。笔者从形态学、生理学和分子生物学的角度, 初步探讨蓝莓多次开花的机理。

## 1 形态学

蓝莓的花期因气候和品种而异, 我国南方 2 月上中旬开花, 而北方为 4—5 月, 花期一般为 15~20 d, 最长可达 40 d。同一气候条件下, 不同蓝莓品种的花期有所不同<sup>[16-18]</sup>。王庆贺等<sup>[19]</sup>研究发现, 积温、无霜期、年平均温度是影响花芽分化和花芽量的主要因子。蓝莓花芽形成于当年生枝的先端, 从枝条顶端开始, 以向基的方式进行分化<sup>[17]</sup>。秋季短日照条件下, 2 个老鳞片分开时, 形成绿色的新鳞片; 花芽沿着枝轴在几周内向基部发育, 迅速膨大形成明显的花芽并进入冬休眠; 进入休眠阶段后, 形成花序轴。方仲相<sup>[20]</sup>和万洪波等<sup>[21]</sup>研究发现, 蓝莓花芽形态分化共分 6 个阶段, 分别是开始分化期、花序原基分化期、萼片原基分化期、花瓣原基分化期、雄蕊原基分化期和心皮原基分化期, 观察发现花芽的形态分化基本在即将进入秋季的短日照条件下开始, 可观察到花芽形态分化的全过程, 历时不到 60 d。陈英敏等<sup>[22]</sup>以云南昆明蓝莓基地的 12 个高丛蓝莓和 6 个兔眼蓝莓品种为研究材料, 对 3、4 年生幼树的花芽形成量和二次开花情况进行了调查, 一年 2 次开花的蓝莓在一年中抽发多次梢, 不同批次枝梢成花能力与成花数量有差别, 其成因不仅受物候、季节的影响, 还受相同或不同批次枝梢之间养分竞争、着生部位和所处环境等因素的调节。

## 2 生理学

果树花芽形态分化之前先进行花芽孕育(或诱导)和发端, 花芽孕育是一个成花因素积累的过程, 受到多种环境因

**基金项目** 国家自然科学基金项目(31660550); 云南省现代农业水果产业技术体系项目(2017KJTX0012-04); 科技惠民-云南省农业科学院科技创新及成果转化专项(2017RA01411); 云南省农业科学院科技创新及成果转化项目(2018BB02904)。

**作者简介** 和潭(1989—), 女, 云南昆明人, 研究实习员, 从事果树种质资源研究。\*通信作者, 研究员, 硕士, 从事小浆果栽培及资源研究。

**收稿日期** 2018-09-26; **修回日期** 2018-10-17

子和内部因子的调控<sup>[23]</sup>,对木本植物成花机理的多项研究表明,作为结构物质和能量物质的蛋白质、淀粉和碳水化合物在花芽分化过程中起着重要作用。碳氮比学说自提出后不断地被引用和证实,环割促花机理之一是提高了叶片中的碳水化合物含量,降低了叶片中氮的含量,从而提高了叶片碳氮比,成花量与碳氮比密切相关<sup>[24]</sup>。洪继旺等<sup>[25]</sup>在反季节龙眼成花差异的碳素研究中发现,龙眼成熟叶片的碳素含量只有达到一定的数量才形成花,因此碳素在成花过程中有重要作用。

虽然碳水化合物的积累与花芽分化密切相关,但是碳水化合物并不是花芽分化的唯一决定因子<sup>[26]</sup>。果树花芽分化也与植物激素密切相关<sup>[27]</sup>,植物体内源激素的含量与植物的花芽分化以及开花过程关系密切。近期的研究表明,果树花芽分化不仅与CTK/GA平衡密切相关,还与CTK/IAA、ABA/GA、(ZR+IAA)/GA3等平衡有关<sup>[28-30]</sup>。朱振家等<sup>[30]</sup>研究发现,油橄榄花芽形成过程中,不同类型激素间的平衡状况比单一激素的作用更重要,成花诱导及花芽分化过程可能与各激素间的平衡有关。长期研究柑橘花芽孕育与激素的关系时发现,花芽孕育是各种激素在时间、空间上的相互作用产生的综合结果<sup>[29]</sup>。宋杨等<sup>[31]</sup>研究了5个蓝莓品种在花芽形成期间花芽中4种内源激素含量,以及对蓝莓花芽分化的影响,结果发现,各种激素在花芽形成过程中以不同含量和比例的变化来调控成花,它们的动态平衡对蓝莓的花芽形成起了关键的作用。花芽孕育是各种激素在时间、空间上的相互作用产生的综合结果。但激素平衡假说只是提出花芽孕育所需的状态环境,并没有说明在花芽孕育过程中的动态作用。

### 3 分子生物学

随着分子生物学技术的发展,人们提出了植物成花的基因网络调控模型<sup>[32]</sup>,目前认为植物成花有4条主要的调控途径,即光周期途径、春化途径、自主发生途径和赤霉素诱导途径,不同的植物种类在进化的过程中可能选择了不同的途径<sup>[33-34]</sup>。目前,成花决定的关键基因如*LEAFY (LFY)*、*TERMINAL FLOWER1 (TFL1)*和*FLOWERING LOCUS C (FT)*等的同源基因都已从童期较长的蓝莓、苹果、柑橘、银杏、杨树、杜鹃花等多年生木本植物中分离获得,并已证明它们与拟南芥及其他草本植物中相关同源基因有较高的保守性<sup>[35-36]</sup>。不同植物*LFY*同源基因的表达部位差异较大。一些植物的*LFY*同源基因在所有花器官和叶原基中都有表达,也有少数仅在部分花器官中有表达。如苹果的*AFL2*仅在萼片和心皮表达<sup>[37]</sup>,桃的*Pp LFY*仅在花瓣表达<sup>[38]</sup>,甘野菊的*DFL*仅在苞片、花瓣和雄蕊表达<sup>[21]</sup>。苹果的*AFL1*仅在果台枝顶芽转向生殖生长以后才表达,而*AFL2*在生长期6—10月的果台枝顶芽中都有表达<sup>[39]</sup>。

方仲相<sup>[20]</sup>根据已知杜鹃花科植物的*LFY*基因保守区设计特异引物和简并引物,通过PCR扩增克隆到1个*LFY*基因片段,长度为1141 bp;根据获得的*LFY*基因片段设计引物,并利用3' RACE技术扩增得到了*St LFY*基因的3'端序

列,长度为827 bp,末端具有poly A尾巴的结构;二者拼接结果为1660 bp;蓝莓*St LFY*基因在蓝莓不同部位的表达量有差异,在花芽中表达最高,其次是叶,而在茎、根以及花朵中略有表达,且在根和花朵中的表达量极低;*St LFY*基因对蓝莓花器官形成期,尤其对其中后期具有促进作用,且低水平*St LFY*基因表达量有利于蓝莓花芽向休眠期的转变;另外,*St LFY*基因对蓝莓的花芽萌发起促进作用。

### 4 展望

在温带地区的大多数蓝莓种类,花芽孕育期一般在冬季(南半球5—6月)形态分化前的3~4周,即需要有一个相对低温的诱导过程<sup>[1,40]</sup>。而在云南中低海拔地区种植的蓝莓不受低温诱导控制,在蓝莓同一单株上,新梢、花、幼果及成熟果可同时存在,蓝莓一边长出新梢,同时在新梢上形成芽,一年多次开花(国内其他产地一年仅一批次花果)。蓝莓不同批次的花,其果实成熟期不同,分别是:①春花夏熟称为夏季果(4—5月);②夏花秋熟称为秋季果(9—10月);③秋花春熟称为春季果(1—2月)。在这3批次果实之中,大部分蓝莓以春花夏熟果为主,占65%左右,夏花秋熟果占25%左右,秋花春熟果占10%左右。蓝莓本身是属于需要低温成花的植物,即使有促花措施也需要在秋冬季低温后启动花芽分化<sup>[41]</sup>,而在云南特殊的气候条件下蓝莓不需要低温春化就能形成花芽。蓝莓春季自剪之后立刻进入花芽分化,其二批次、三批次花的花芽分化期分别处于晚春和盛夏,当时的温度较高,不存在低温的诱导,但它显然又属于温度不敏感型。存在即是合理的,云南蓝莓有与国内其他种植地区不一样的成花模式一定有其必然意义。

研究结果证明,一些木本植物中目前已知的成花调控关键基因与模式植物相比都是保守的。故可以假设:既然成花的关键基因在木本植物和草本植物中都是保守的,在木本植物中具有的同源基因应该具有相同作用。对有花植物来说,成花过程中的一些关键基因的作用是保守的,随着表达量的增强,达到或超过一定阈值后都能启动多年生木本植物开花。对于蓝莓的一年多次开花,可能是关键成花基因不断受到外界环境因子的诱导和本身内部特异生物钟的调控,开花调控的促进基因(*LFY*)表达量一年内在蓝莓的不同部位呈现几个周期性的上调。一般较嫩的组织对外界诱导较为敏感,所以蓝莓的春梢、夏梢和秋梢按照发育顺序依次响应,继而导致一年多次开花。因此探索蓝莓成花重要基因*LFY*的时空表达是研究蓝莓一年多次成花和调控蓝莓开花的关键之一。

蓝莓一年多次开花来源于我国西南边疆少数民族地区蓝莓产业发展中的实际。近年来,云南一些地区已经有小批量的鲜果在秋冬季节供应市场,由于品质较好,价格是从南美智利进口鲜果的2~3倍,具有明显的区域特色。如果能通过研究蓝莓多次成花机理并加以调控,实现蓝莓的可控栽培,从而获得良好的经济效益。蓝莓花果调控研究是一个生产技术问题,同时也是一个基础理论问题,弄清花芽分化的生理和分子机制,不仅是在理论上明确并完善蓝莓这种一年

多次成花、特别是夏花秋果的成花调控的生理机制,而且在实践上也可大幅提高蓝莓的生产效益提供理论依据,对促进我国西南边疆少数民族地区的经济和社会发展都具有重要的意义。

### 参考文献

- [1] 顾娟,贺善安.蓝浆果与蔓越桔[M].北京:中国农业出版社,2001:7-39.
- [2] 李亚东.小浆果栽培技术[M].北京:金盾出版社,2010:1-21.
- [3] 和加卫,杨正松,唐开学.蓝莓栽培技术[M].昆明:云南科技出版社,2011:4-36.
- [4] 贺博,梁进,吴林生,等.蓝莓花色苷的稳定性及微胶囊化研究进展[J].中国农学通报,2015,31(5):127-131.
- [5] 朱建华,黄凤珠,徐宁,等.‘四季蜜’龙眼成花调控技术研究[J].中国农学通报,2011,27(25):288-293.
- [6] 郑鹏华,刘国琴,滕元文.植物生长调节剂对“翠冠”梨秋季二次开返花返青的控制效果[J].中国南方果树,2015,44(5):95-97.
- [7] 王俊杰,汪琪华.木本植物二次开花现象初探[J].甘肃林业科技,2009,34(4):10-15,59.
- [8] 周俊辉.果树的多次开花结实现象[J].江西农业学报,1999,11(4):64-68.
- [9] 张全军,钟必凤,李文贵,等.‘丰水’梨二次开花过程中枝芽多胺含量的变化[J].西南农业学报,2016,29(9):2221-2224.
- [10] 钟必凤,张全军,李文贵,等.南方砂梨返花过程中内源激素含量变化及其与秋季返花的关系[J].西北植物学报,2014,34(12):2453-2458.
- [11] 张全军,李文贵,钟必凤,等.南方砂梨返花返青发生特性及其与早期落叶的关系[J].西南农业学报,2013,26(3):1160-1163.
- [12] 张义民,夏刚,魏高艳.冰糖橘二次开花结果的危害及矫正[J].果农之友,2012(12):15.
- [13] 张全军,钟必凤,李文贵,等.‘丰水’梨二次开花过程中矿质养分变化规律[J].安徽农业科学,2017,45(31):45-47.
- [14] 金苹.果树二次开花的原因及预防[J].农业灾害研究,2012,2(7):31-34,37.
- [15] 付传明,黄宁珍,赵志国,等.南方早熟梨二次开花的成因及防治研究进展[J].南方农业学报,2011,42(4):422-425.
- [16] 莫建国,于飞,张帅,等.气象条件对蓝莓品质影响研究[J].中国农学通报,2016,32(22):170-175.
- [17] 王瑞芳.三个越橘品种染色体核型分析及花芽分化物候期的观察研究[D].重庆:西南大学,2008:9-33.
- [18] 李菊馨,汤狄华,黄桂香,等.蓝莓结果母枝性状与成花的相关性分析[J].南方农业学报,2017,48(3):465-469.
- [19] 王庆贺,李亚东,张志东,等.生态条件对越橘花芽分化的影响[J].吉林农业大学学报,2009,31(6):705-710.
- [20] 方仲相.蓝莓成花机理初步研究[D].杭州:浙江农林大学,2014:16-50.
- [21] 万洪波,胡宝忠,李凤兰.蓝莓品种美登花芽分化的观察[J].湖北农业科学,2009,48(6):1414-1416.
- [22] 陈英敏,徐国辉,王贺新,等.不同蓝莓品种花芽形成及二次开花特征[J].北方果树,2016(4):6-10.
- [23] 王明洁,吴雨蹊,焦奎宝,等.主要气象因子对蓝莓花芽分化的影响[J].北方园艺,2014(23):33-35.
- [24] LI C Y, WEISS D, GOLDSCHMIDT E E. Girdling affects carbohydrate-related gene expression in leaves, bark and roots of alternate-bearing citrus trees[J]. Annals of botany, 2003, 92(1): 137-143.
- [25] 洪继旺,李松刚,张蕾,等.反季节龙眼成花差异的碳素分析[J].广东农业科学,2014,41(16):37-39,44.
- [26] LI X J, YANG Y G, ZHENG W J, et al. On flower-bud induction in fruit trees[J]. Chinese bulletin of botany, 2002, 19(4): 385-395.
- [27] RAMÍREZ F, DAVENPORT T L. Mango (*Mangifera indica* L.) flowering physiology[J]. Scientia horticulturae, 2010, 126(2): 65-72.
- [28] KOSHITA Y, TAKAHARA T. Effect of water stress on flower-bud formation and plant hormone content of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) [J]. Scientia horticulturae, 2004, 99(3/4): 301-307.
- [29] MEIJÓN M, CAÑAL M J, FERNÁNDEZ H et al. Hormonal profile in vegetative and floral buds of azalea: Levels of polyamines, gibberellins, and cytokinins[J]. Journal of plant growth regulation, 2011, 30(1): 74-82.
- [30] 朱振家,姜成英,史艳虎,等.油橄榄成花诱导与花芽分化期间侧芽内源激素含量变化[J].林业科学,2015,51(11):32-39.
- [31] 宋杨,窦连登,张红军.蓝莓不同品种花芽形成过程中内源激素的变化[J].中国南方果树,2014,43(5):106-108,114.
- [32] MIMIDA N, KOTODA N, UEDA T, et al. Four TFL1/CEN-like genes on distinct linkage groups show different expression patterns to regulate vegetative and reproductive development in apple (*Malus domestica* Borkh.) [J]. Plant and cell physiology, 2009, 50(2): 394-412.
- [33] BLÁZQUEZ M A, WEIGEL D. Integration of floral inductive signals in *Arabidopsis* [J]. Nature, 2000, 404: 889-892.
- [34] HE Y H, AMASINO R M. Role of chromatin modification in flowering-time control [J]. Trends in plant science, 2005, 10(1): 30-35.
- [35] BÖHLENIUS H, HUANG T, CHARBONNEL-CAMPAA L, et al. CO/FT regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees [J]. Science, 2006, 312: 1040-1043.
- [36] WADA M, CAO Q F, KOTODA N, et al. Apple has two orthologues of *FLORICAULA/LEAFY* involved in flowering [J]. Plant molecular biology, 2002, 49: 567-577.
- [37] 安丽君,李天红.桃成花基因 PPLFY 的克隆与表达及多克隆抗体制备[J].园艺学报,2008,35(11):1573-1580.
- [38] MA Y P, FANG X H, CHEN F et al. *DFL*, a *FLORICAULA/LEAFY* homologue gene from *Dendranthema lav* and *ulifolium* is expressed both in the vegetative and reproductive tissues [J]. Plant Cell Rep, 2008, 27(4): 647-654.
- [39] WADA M, CAO Q F, KOTODA N, et al. Apple has two orthologues of *FLORICAULA/LEAFY* involved in flowering [J]. Plant molecular biology, 2002, 49(6): 567-577.
- [40] LI B, XIA X Y, LIU S. Changes in physiological and biochemical properties and variation in DNA methylation patterns during dormancy and dormancy release in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) [J]. Plant physiology journal, 2015, 51(7): 1133-1141.
- [41] 马艳萍.蓝莓的生物学特性、栽培技术与营养保健功能[J].中国水土保持,2006(2):47-49.