

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2013-0611



细叶百合鳞茎花芽分化过程观察

王家艳¹, 刘芳^{1,2}, 苏欣¹, 卢政岩³, 周蕴薇¹

(1. 东北林业大学园林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163319;
3. 内蒙古大兴安岭林业管理局第一办事处, 内蒙古 牙克石 022150)

摘要:以细叶百合(*Lilium pumilum*)鳞茎为试材,利用石蜡切片和扫描电子显微技术,对细叶百合鳞茎花芽分化全过程进行形态学和组织细胞学观察,研究细叶百合鳞茎在自然越冬状态下花芽的发生、发育进程。结果表明,细叶百合鳞茎芽顶端生长点9月中旬开始由营养茎端向生殖茎端转变,11月中旬封冻前,芽顶端生长点最下面1~2个小花原基已完成花被原基的分化,翌年春季解冻后,继续进行花芽分化,至5月中旬前,整个花序分化完成。整个花序分化历时8个月左右,形成4~7个花蕾,并可将百合花芽分化划分为未分化期、分化初期、小花原基分化期、花被原基分化期、雄蕊和雌蕊原基分化期、整个花序形成期6个时期。

关键词:细叶百合;鳞茎;花芽分化;形态学;细胞学

中图分类号:S644.101;Q944

文献标识码:A

文章编号:1001-0629(2014)05-0878-06

Morphological and histological observation of flower bud differentiation in the bulbs of *Lilium pumilum*

WANG Jia-yan¹, LIU Fang^{1,2}, SU Xin¹, LU Zheng-yan³, ZHOU Yun-wei¹

(1. College of Landscape Architecture, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

2. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;

3. The Forest Administration, Inner Mongolia First Office of Greater Hinggan Mountains

Forestry Administration, Yakeshi 022150, China)

Abstract: Anatomic observations with the paraffin sections and scanning electron microscope (SEM) were explored in the terminal bud of *Lilium pumilum* during flower bud differentiation period to investigate the flower bud development process of *L. pumilum* bulbs which had come through winter without any special protection. The results showed that morphological characteristics of the stem apex growing point changed from growing cone to reproductive cone in the middle of September. In mid-November, the bottom of inflorescence primordium of the one or two foret primordium had completed the differentiation of perianth primordium, and flower bud continued to differentiate in the following spring. Then the whole inflorescence finished the differentiation before mid-May. The differentiation of inflorescence lasted 8 months, and formed 4-7 flower buds. The flower bud differentiation of *L. pumilum* could be divided into six stages, which were undifferentiation phase, initial differentiation phase, foret primordium differentiation phase, perianth primordium differentiation phase, stamens primordium and pistil primordium differentiation phase and the whole inflorescence formation phase, respectively.

收稿日期:2013-10-30 接受日期:2014-02-22

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金(DL13CA14);黑龙江省自然科学基金项目(C201137);黑龙江省博士后科研启动金项目(LBH-Q09188)

第一作者:王家艳(1986-),女,山东沂水人,在读硕士生,主要从事园林植物种质资源研究。E-mail:wjynuli@126.com

通信作者:周蕴薇(1970-),女,吉林九台人,教授,博士,主要从事园林植物种质资源研究。E-mail:dlzhyw@126.com

Key words: *Lilium pumilum*; bulb; flower bud differentiation; morphology; cytology

Corresponding author: ZHOU Yun-wei E-mail: dlzhyw@126.com

在高等植物生活史上,开花是植物生殖发育过程中的重要标志^[1]。植物生长到一定阶段,植物的叶芽生理和组织状态便转化为花芽生理和组织状态,继而发育成花器官雏形,这个过程便称为花芽分化^[2]。植物的花芽分化研究已成为植物发育生物学和植物生理学的研究焦点,同时又是花期调控研究的基础^[3]。百合(*Lilium*)历来深受国内人民的喜爱,具有较高的食用、药用、观赏和装饰价值^[4],研究百合花芽形态分化的起始日期及其整个进程,对百合商品种球生产及鲜切花周年市场供应具有重要意义^[5]。

黄济明等^[6]、Fukai 和 Goi^[7]分别对麝香百合(*L. longiflorum*)花芽分化过程进行了观察,描述了麝香百合花芽分化的形态特征。李智辉等^[8]对新铁炮百合(*L. formolongi*)品种“Sayaka”的花芽分化进程进行了深入研究,划分了花芽分化的阶段,并进行了相应的形态学描述。虽然前人对百合的花芽分化在形态学方面做了一定研究,但是不同种的百合花芽分化的起始时间、持续时间及时期的划分并不一致。本研究的细叶百合(*L. pumilum*)花下垂,花瓣反卷,花被鲜红色,具有较高观赏性^[9];是百合属中分布区最广,分布纬度偏北的种之一,其适应范围广,极耐寒,耐干旱,耐盐碱,是百合抗性育种的重要亲本^[10]。国内外有关细叶百合鳞茎花芽分化过程的形态学研究鲜有报道,本研究基于前人的研究基础,利用扫描电子显微镜和石蜡切片技术,对细叶百合鳞茎在自然越冬状态下花芽的发生、发育全过程进行形态学和组织细胞学观察,以期为细叶百合的促成栽培、花期调控和杂交育种提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以东北林业大学花圃中引种 3~4 年龄的野生种细叶百合为试验材料。

1.2 方法

2011 年 10 月上旬自辽宁省开原市靠山镇花木、种子经销处购得 2~3 年龄生细叶百合种球,起球一周后露地种植于东北林业大学花圃地内,行间

距 20 cm×20 cm,播深 18~20 cm,常规管理。从 2012 年 9 月上旬开始取样,每 10 d 取样一次,直至封冻。翌年春天 4 月中旬解冻后继续取样观察,每周取样一次,直至完成花芽分化。每次随机选取 20 个周径为 7~9 cm 的独头鳞茎,清洗干净,10 个用于石蜡切片样品的制备,10 个用于扫描电镜样品的制备。

石蜡切片样品的制备:将清洗干净的鳞茎剥下鳞片后,切取顶芽上半部分约 1 cm,迅速投入新配的 FAA 固定液中固定 24 h,常规石蜡制片法制片,爱氏苏木精整染,切片厚度 8 μm,Leica DM 2500 显微镜观察并照相。

扫描电镜样品的制备:剥去鳞片,保留鳞茎顶芽,在解剖镜下剥去小鳞叶,切取顶芽生长点 3~5 mm,迅速投入已 4 °C 预冷的 2.5% 戊二醛固定液中,固定 24 h 后,用 pH 6.8 的磷酸缓冲液(PBS)冲洗 3 次,再分别用浓度为 50%、70% 和 90% 的乙醇各脱水一次,每次 15 min,100% 乙醇脱水两次,每次 10 min。临界点干燥和喷金后,在 Hitachi S-3400N 型扫描电镜下观察并照相^[11]。

取样的同时查询哈尔滨当地气温,记录取样期间每天最高气温(A)和最低气温(B)并计算出日平均气温(C)。秋季各取样期平均气温的计算方法为取样所在旬的平均气温,即平均高温=(A₁+A₂+...+A₁₀)/10,平均低温=(B₁+B₂+...+B₁₀)/10,平均气温=(C₁+C₂+...+C₁₀)/10;春季取样期平均气温的计算方法为取样所在周的平均气温,即平均高温=(A₁+A₂+...+A₇)/7,平均低温=(B₁+B₂+...+B₇)/7,平均气温=(C₁+C₂+...+C₇)/7。

2 结果与分析

2.1 秋季百合鳞茎芽顶端生长点显微结构观察

9 月 5 日(平均高温 23.5 °C,平均低温 14.0 °C,平均气温 18.8 °C),观察鳞茎芽纵切片发现,此时百合没有开始花芽分化,仍处于营养生长状态,并且顶芽细胞形状相似,芽生长锥呈近似圆锥形,而芽基组织细胞则与生长锥细胞不同,其细胞一般排列不规则,个体较大且呈肋状的分生组织排列于两侧。由扫描电镜图可以看出,叶原基往往出现在鳞茎顶

芽的基部,不断地形成,促使鳞茎芽的顶端发生有规律的形体变化(图 1a)。从石蜡切片还可以得出,生长锥具有原体与原套结构,这也是它的典型特征之一。通常未分化期顶芽表面 3~4 层排列规则的细胞称作原套,而被原套包围的一团形状和排列均不规则的细胞称为原体(图 1b)。

9月15日(平均高温 21.7℃,平均低温 10.8℃,平均气温 16.3℃),大部分百合鳞茎芽顶端生长点开始由营养茎端向生殖茎端转变。可观察到生长锥顶端逐渐变圆阔,顶端较未分化期变宽,呈扁平圆丘状(图 1c、d)。

9月25日(平均高温 19.9℃,平均低温 10.6℃,平均气温 15.3℃),大部分鳞茎芽顶端生长点已清楚观察到两个突起,两个突起的形状相似,其中一个体积较大,一个体积较小(图 1e)。该突起与未分化期相比虽然均由原体和原套组成,但其细胞层数却相对较少,一般为两层,细胞的排列间隙明显较大(图 1f)。

10月5日(平均高温 17.4℃,平均低温 6.6℃,平均气温 12.0℃),百合鳞茎芽顶端生长点已清楚观察到 2~3 个突起,各突起形状相似,呈扁圆球形(图 1g、h)。

10月15日(平均高温 9.3℃,平均低温 0.7℃,平均气温 5.0℃),百合鳞茎芽顶端生长点已能清楚观察到 4~5 个突起,花序最边缘 3 个大小相似的突起,扁圆球状;中间的突起最大,近似圆球状,在空间上高于周边的 3 个突起(图 1i、j)。

10月25日(平均高温 7.6℃,平均低温 0.3℃,平均气温 4.0℃),百合鳞茎芽顶端生长点已有 4~7 个突起,花序最下面一个突起已进一步发育,突起顶端逐渐变扁平的同时,边缘分化出 3 个很小的突起,这 3 个很小的突起就是外轮花被原基(图 1k、l)。

11月5日(平均高温 4.5℃,平均低温 -4.3℃,平均气温 0.1℃),百合鳞茎芽顶端生长点最下面 1 个小花原基进一步发育,该小花原基上的 3 个外轮花被原基逐渐生长、变大,形状变的扁平,同时 3 个外轮花被原基内部顶端逐渐变平后,继续分化出 3 个小突起,即内轮花被原基。其他 3~5 个小突起,仍未开始花被原基的分化(图 1m、n)。

11月15日(平均高温 -0.5℃,平均低温 -5.8℃,平均气温 -3.2℃),此时花序原基最下面一个

小花进一步发育,3 个外轮花被原基及 3 个内轮花被原基逐渐生长、变大,同时花序原基之上的第 2 个小花原基也进一步发育,分化出外轮花被原基,同时 3 个外轮花被原基内部顶端逐渐变平,继续分化出 3 个内轮花被原基(图 1o、p)。

2.2 春季百合鳞茎芽顶端生长点显微结构观察

4月18日(平均高温 7.4℃,平均低温 -2.0℃,平均气温 2.7℃),与 11 月中旬封冻前相比,百合鳞茎芽分化程度变化不大,大部分鳞茎芽顶端生长点仍能观察到 4~7 个突起,花序最下面 1~2 个突起已完成花被原基的分化,其上 4~5 个小突起,仍未开始花被原基的分化(图 2a、b)。

4月25日(平均高温 16.3℃,平均低温 4.9℃,平均气温 10.6℃),在扫描电镜下清晰可见百合鳞茎芽顶端生长点最下面 1~2 个小花原基花被内侧出现形状类似豆瓣的 6 个小突起,该小突起即为雄蕊原基。此时,在雄蕊原基中央分化形成一个较大的三角状突起,该突起继续发育成雌蕊原基。同时,花被也在不断地生长、变大(图 2c、d)。

5月2日(平均高温 18.0℃,平均低温 7.4℃,平均气温 12.7℃),大部分鳞茎芽顶端生长点最下面 1~2 个小花的雄蕊原基经细胞分裂、分化,逐渐伸长,雌蕊原基也继续分化、生长,形成 3 个排列成三角形的下陷小孔。其上 3~5 个小花原基也不断分化、生长,相继分化出花被原基、雄蕊原基和雌蕊原基(图 2e、f)。

5月9日(平均高温 23.4℃,平均低温 12.3℃,平均气温 17.9℃),随着分化的继续进行,细叶百合每朵小花的雄蕊原基细胞继续分裂、分化并逐渐伸长,其顶端继续发育成花药,基部发育成花丝,雌蕊原基 3 个下陷的小孔逐渐愈合,形成合心皮雌蕊。细叶百合 3~4 年龄鳞茎在黑龙江地区自然越冬情况下,5 月中旬前每朵小花的花被、雄蕊和雌蕊都分化完成,每株能分化出 4~7 个花蕾,至此,整个花序分化完成(图 2g、h)。

3 讨论与结论

3.1 百合花芽分化时期的划分

花芽的分化和形成是植物从营养生长进入生殖生长的关键,也是植物个体发育的重大转折,研究百合花芽分化可以为制定百合合理的栽培措施、实施鲜切花周年供应及实现植物的遗传调控提供科学的

指导^[12-13]。黄济明等^[6]将麝香百合的花芽分化过程分为茎端未见分化、花原基形成、外层花瓣原基形成、内层花瓣原基形成和雌雄蕊形成 5 个时期。宁云芬等^[5]在新铁炮百合花芽分化过程的研究中将花芽分化进程分为未分化期、分化初期、花序原基和小

花原基分化期、花器官分化期、花序形成期 5 个时期。李智辉等^[8]将新铁炮百合品种“Sayaka”花芽分化分为 5 个时期,花原基分化期、外花被原基分化期、内花被原基分化期、雄蕊原基分化期和雌蕊原基分化期。

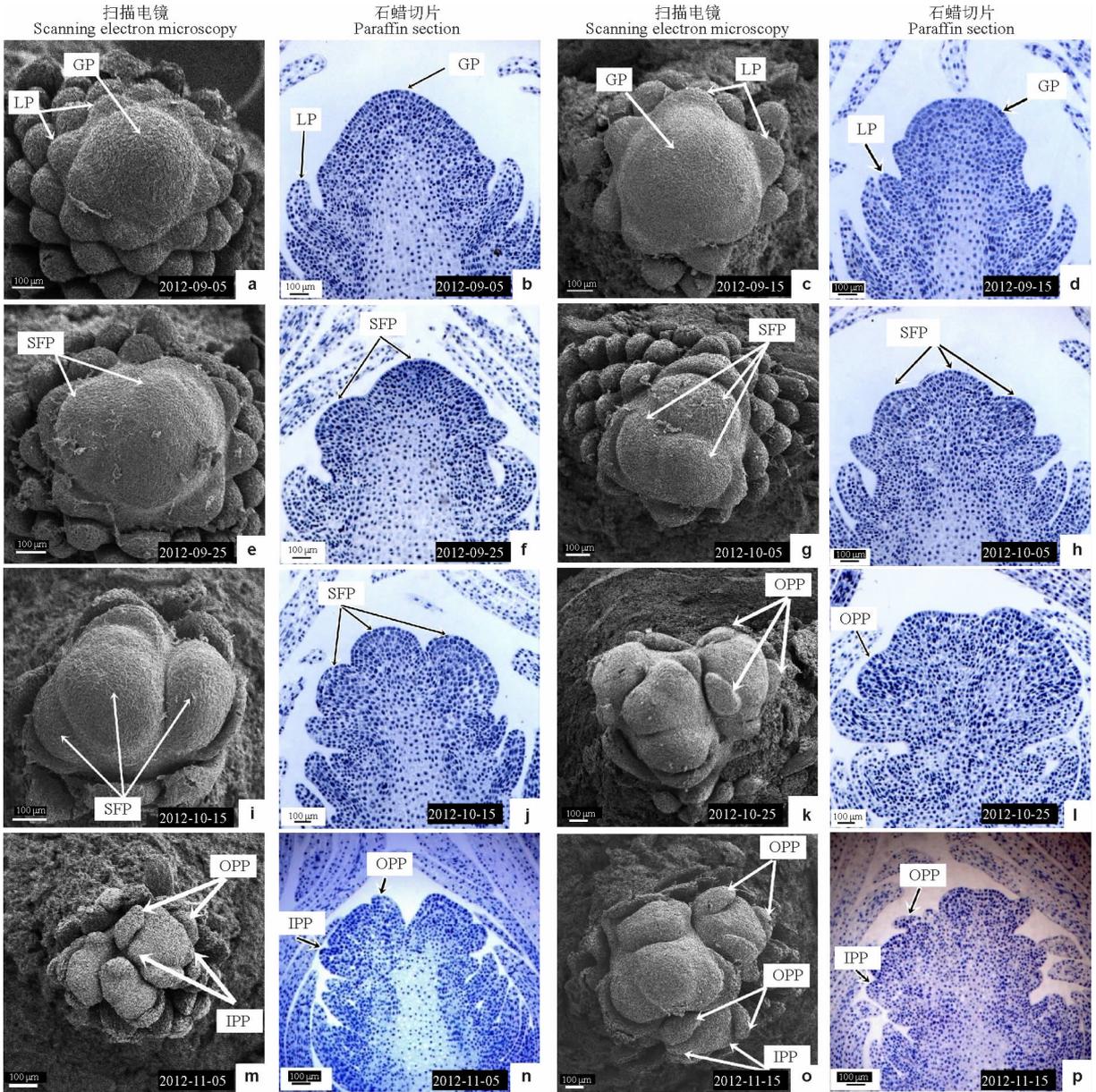


图 1 秋季百合鳞茎芽顶端生长点显微结构观察

Fig. 1 The top bud growing point microstructure observation of *Lilium pumilum* in autumn

注:a、b为未分化期;c、d为分化初期;e~j为小花原基分化期;k~p为花被原基分化期。GP,生长点;LP,叶原基;SFP,小花原基;OPP,外轮花被原基;IPP,内轮花被原基。

Note:a、b,Undifferentiation phase;c、d,Initial differentiation phase;e~j,Floret primordium differentiation phase;k~p,Perianth primordium differentiation phase.GP,Growing point;LP,Leaf primordium;SFP,Small floral primordium;OPP,Outer perianth primordium;IPP,Inner perianth primordium.

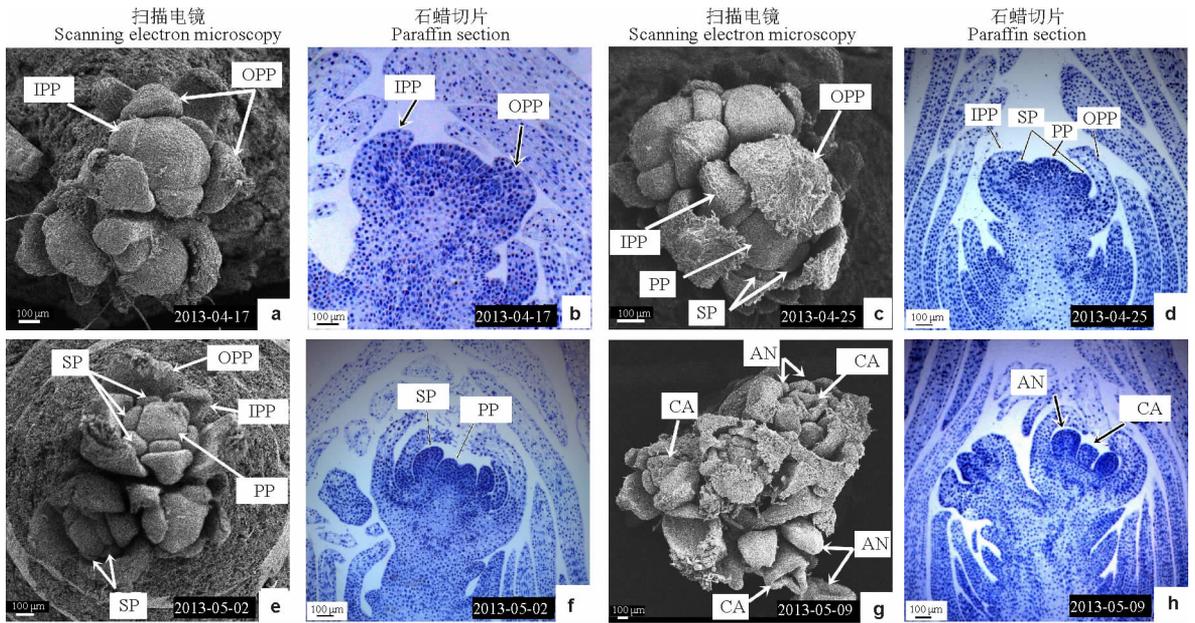


图2 春季百合鳞茎芽顶端生长点显微结构观察

Fig. 2 The top bud growing point microstructure observation of *Lilium pumilum* in spring

注: a、b, 花被原基分化期; c~f, 雄蕊和雌蕊原基分化期; g、h, 整个花序形成期。OPP, 外轮花被原基; IPP, 内轮花被原基; SP, 雄蕊原基; PP, 雌蕊原基; AN, 花药; CA, 心皮。

Note: a and b, Perianth primordium differentiation phase; c~f, Differentiation phase of stamens primordium and pistil primordium; g and h, The whole inflorescence formation phase. OPP, Outer perianth primordium; IPP, Inner perianth primordium; SP, Stamen primordium; PP, Pistil primordium; AN, Anther; CA, Carpel.

基于前人研究和本研究的结果,将细叶百合整个花芽分化过程划分为未分化期、分化初期、小花原基分化期、花被原基分化期、雄蕊和雌蕊原基分化期以及整个花序形成期6个时期。细叶百合花芽分化的起始时间和持续时间与其他百合不同,具体表现为:1)未分化期,9月上旬百合鳞茎芽顶端生长点呈近似圆锥形,具有原体与原套的典型结构,鳞茎芽的顶端保持营养生长状态;2)分化初期,9月中旬,鳞茎芽顶端生长点细胞进行着旺盛的有丝分裂,生长锥顶端较未分化期变宽,逐渐变阔圆,呈圆丘状,此时生长点开始由营养茎端向生殖茎端转变;3)小花原基分化期,9月下旬至10月中旬,鳞茎芽顶端生长点体积继续增大,顶端变阔圆,并逐渐形成4~7个明显的近似圆球状突起,开始转化为小花原基;4)花被原基分化期,10月下旬至11月中旬,花被原基由外向内分化,小花原基顶端逐渐变平,边缘分化出3个突起,即为外轮花被原基,在3个外轮花被原基的内部间隙处继续分化3个突起即为内轮花被原基;5)雄蕊和雌蕊原基分化期,翌年春季解冻后花被内侧逐渐出现6个形似豆瓣的雄蕊原基,继雄蕊原基分化后,在花原基中央分化形成一个较大的三角

形突起,即为雌蕊原基;6)整个花序形成期,花序形成是指从花序上最下面一朵小花原基开始分化到最后一朵小花的所有花器官分化完成为止^[5]。细叶百合鳞茎9月中旬开始进入花芽分化初期,11月下旬封冻后进入休眠状态,翌年春季解冻后花芽分化继续进行,相继分化出雄蕊原基、雌蕊原基,至5月中旬前,整个花序分化完成。百合不同种的花芽分化所需时间及形成花蕾数是不同的,麝香百合杂种系“雪皇后”花芽分化需要30d左右,形成2~3个花蕾;东方百合杂种系“西伯利亚”花序形成需要55d左右,形成1~2个花蕾;亚洲百合杂种系“哥德琳娜”整个花序形成需要45d左右,形成7~10个花蕾^[14]。而本试验中的3~4年龄细叶百合整个花序形成需要8个月左右,形成4~7个花蕾。

3.2 温度对百合花芽分化的影响

近年来有关百合花芽形态学方面的研究时有报道,但百合不同品系及其种球冷藏时间和定植季节的不同,其花芽分化存在很大差异。露地栽培的麝香百合^[6]4月开始花芽分化,新铁炮百合“雷山”^[5]低温贮藏期间鳞茎内顶端生长点尚未开始分化,栽植后20~30d花芽分化开始进行,而露地栽植的毛

百合(*L. dauricum*)^[15]花芽分化始于8月中旬至8月末,9月中旬至10月中旬为雌雄蕊原基分化期。张英杰等^[16]研究发现,亚洲百合“Loreto”和“Tresor”属于采收后定植前花芽分化模式,其花芽分化的较早。本研究表明,细叶百合花芽分化在晚秋开始,至翌年春天出土前完成。

百合鳞茎自然休眠的特性导致未解除休眠的鳞茎种植后发生发芽率低和盲花的现象,低温处理可以有效解除百合鳞茎休眠,促进花芽分化,缩短生育期并可通过长期冷藏达到人为调控百合花期的目的^[17-20]。百合野生种自然状态下花芽分化的研究不多见,本研究发现,细叶百合花芽分化9月中旬(平

均高温 21.7℃,平均低温 10.8℃,平均气温 16.3℃)开始,9月下旬(平均高温 19.9℃,平均低温 10.6℃,平均气温 15.3℃)进入小花原基分化期,10月下旬(平均高温 7.6℃,平均低温 0.3℃,平均气温 4.0℃)花被分化已经开始,11月中旬封冻前(平均高温 -0.5℃,平均低温 -5.8℃,平均气温 -3.2℃)仍处于花被原基分化期,封冻后百合鳞茎进入休眠状态,翌年4月下旬(平均高温 7.4℃,平均低温 -2.0℃,平均气温 2.7℃)解冻后花芽分化继续进行,相继分化出雄蕊原基、雌蕊原基,至5月中旬前(平均高温 23.4℃,平均低温 12.3℃,平均气温 17.9℃)花芽分化完成。

参考文献

- [1] 郜爱玲,李建安,刘儒,何志祥,孙颖. 高等植物花芽分化机理研究进展[J]. 经济林研究,2010,28(2):131-135.
- [2] 吴莉英,唐前瑞,尹恒,陈丽. 观赏植物花芽分化研究进展[J]. 生物技术通讯,2007,18(6):1064-1067.
- [3] 王磊,汤庚国,刘彤. 石蒜花芽分化期内源激素和核酸含量的变化[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2008,32(4):67-70.
- [4] Sun L, Zhou Z, Cheng K. Plant micropropagation from in vitro cultured bulb scales of *Lilium lancifolium* [J]. Life Science Journal, 2013, 10(2): 2689-2692.
- [5] 宁云芬,龙明华,陶劲,杨美纯,韦鹏霄. 新铁炮百合花芽分化过程的形态学观察[J]. 园艺学报,2008,35(9):1368-1372.
- [6] 黄济明,杨建瑛,林国栋. 麝香百合花芽分化过程的观察[J]. 园艺学报,1985,12(3):203-206.
- [7] Fukai S, Goi M. Floral initiation and development in *Lilium longiflorum* Thunb [J]. Technical Bulletin of Faculty of Agriculture-Kagawa University, 2001, 53: 31-34.
- [8] 李智辉,王新颖,李天来,罗凤霞,陈鸿. 新铁炮百合花芽分化及发育的研究[J]. 沈阳农业大学学报,2008,39(2):228-230.
- [9] 刘芳,王家艳,王晓丽,周蕴薇. 细叶百合鳞茎在低温解除休眠过程中茎尖细胞超微结构的变化[J]. 园艺学报,2013,40(6):1110-1118.
- [10] 杨利平,孙晓玉. 细叶百合的生殖特性和繁育规律研究[J]. 园艺学报,2005,32(5):918-92
- [11] 宁云芬,龙明华,陶劲,叶明琴,杨美纯. 百合低温贮藏和花芽分化过程中鳞片细胞淀粉粒的显微观察[J]. 园艺学报,2011,38(9):1770-1774.
- [12] 涂淑萍,穆鼎,刘春. 不同百合品种花芽分化期的生理生化变化[J]. 中国农学通报,2005,21(7):207-209.
- [13] 马月萍,戴思兰. 植物花芽分化机理研究进展[J]. 分子植物育种,2003,1(4):539-545.
- [14] 郭蕊,赵祥云,王文和,陈伟之. 百合花芽分化的形态学观察[J]. 沈阳农业大学学报,2006,37(1):31-34.
- [15] 冯富娟. 毛百合花芽分化及其后期发育的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,1999.
- [16] 张英杰,李雯琪,吴沙沙,刘晓华,陈丽娜,吕英民. 不同品系百合成花进程研究[A]. 中国观赏园艺研究进展[C]. 银川:中国园艺学会观赏园艺专业委员会,国家花卉工程技术研究中心,2011:456-462.
- [17] 何东,彭尽晖,邱波,彭亮,胡凌霄,胡瑶,赵盈盈. 温度对观赏植物花芽分化影响的研究进展[J]. 中国园艺文摘,2013,29(3):40-42.
- [18] 侯玲玲,夏宜平,何桂芳. 低温作用影响百合鳞茎休眠的研究进[J]. 青海大学学报(自然科学版),2006,24(5):60-62.
- [19] 杨琳,张延龙,牛立新. 低温对百合种球休眠的影响[J]. 陕西农业科学,2005(3):49-51.
- [20] 周晓音,王路永,沈洪涛,戴红霞,叶君勇. 切花百合鳞茎低温处理效应初探[J]. 浙江农业科学,2001(5):240-242.