

文心兰花芽分化的形态解剖特征及营养物质的动态变化

彭芳^{1,2}, 田敏¹, 王彩霞¹, 韦鹏霄²

(1. 中国林业科学研究院 亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2. 广西大学 农学院, 广西南宁 530004)

摘要: 以文心兰‘百万金币’*Oncidium* ‘Milliongold’s’为材料, 采用石蜡切片法观察了花芽分化过程中的形态学特征, 比较了花芽分化过程中叶片可溶性糖、蛋白质和核酸质量分数的变化。研究表明: 文心兰花芽的分化进程可以分为未分化期、花蕾原基分化期、萼片原基分化期、花瓣原基分化期、合蕊柱及花粉块分化期 6 个时期; 花芽分化过程中可溶性糖在新芽初生期质量分数最高, 之后呈下降趋势, 在花芽分化完成时达到另一峰值; 可溶性蛋白质质量分数呈先降后升的趋势, 蛋白质在新芽初生期质量分数最高; 总核酸质量分数总体呈下降趋势。图 2 表 1 参 12

关键词: 植物学; 文心兰; 花芽; 形态分化; 营养物质

中图分类号: Q945.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2012)01-0007-05

Morphological and anatomical characteristics along with nutrient content changes during flower bud differentiation in *Oncidium*

PENG Fang^{1,2}, TIAN Min¹, WANG Cai-xia¹, WEI Peng-xiao²

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China;

2. Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530004, Guangxi, China)

Abstract: The flower bud differentiation process of *Oncidium* ‘Milliongold’s’ was studied using the paraffin cut method with changes of soluble sugar, soluble protein, and nucleic acid contents in leaves being determined. Results showed that the flower budding process could be divided into six differentiation phases: undifferentiated, inflorescence primordium, flower primordium, sepal primordium, petal primordium, and column and pollinia. Also, in leaves, soluble sugar decreased sharply till reaching a minimum at the flower bud differentiation period followed by a stable increase; soluble protein decreased sharply and then increased; maximum protein content occurred in the new bud sprouting period; and nucleic acid content declined overall. [Ch, 2 fig. 1 tab. 12 ref.]

Key words: botany; *Oncidium*; flower bud; morphological differentiation; nutrient

文心兰 *Oncidium* 属复茎性气生兰类。其花形美丽独特, 是一类具有很高观赏性和经济价值的兰花, 是世界花卉市场上重要的切花和盆栽观赏植物。文心兰的盛花期主要集中在 9-11 月, 与元旦、春节等花卉消费旺季错位, 因此, 文心兰的花期调控在其商品化生产中显得尤为重要^[1]。目前, 对文心兰的研究主要集中在组织培养和栽培管理等方面, 而关于文心兰花芽分化规律的研究至今未见报道。植物花芽分化标志着植物从营养生长向生殖生长的过渡, 是一个关键的形态建成过程, 研究其机制对花期调控具有指导意义, 可溶性糖、蛋白质和核酸是植物生理变化过程中的重要代谢产物, 也是花芽分化进程中的重要生理指标^[2]。为了进一步了解文心兰花芽分化时期的生物学特性, 我们对其形态分化和相关的生理

收稿日期: 2011-04-13; 修回日期: 2011-05-31

基金项目: 国家林业局引进国际先进农业科学技术计划(948 计划)项目(2008-4-25); 浙江省花卉产业创新团队项目(2009R50034)

作者简介: 彭芳, 从事植物遗传育种及生物技术研究。E-mail: pengfang0709@163.com。通信作者: 田敏, 副研究员, 博士, 从事园林花卉育种及生物技术研究。E-mail: tmin115@163.com

指标做了观察和测定,确定了文心兰花芽分化的时期和特点,探讨了在花芽分化过程中营养物质的变化规律,为花期调控技术优化和制定合理的栽培管理提供了一定的理论参考依据。

1 材料和方法

1.1 花芽分化过程的观察

供试文心兰‘百万金币’*Oncidium* ‘Milliongold’s’取自于中国林业科学研究院亚热带林业研究所种苗基地绿园园艺公司。试验时间为2009年7-11月。选用生长一致、健壮的文心兰,隔7d取样1次,同时用游标卡尺测量并记录假鳞茎直径、假鳞茎长和花芽长,直至观察到花芽分化完成为止,取植株5株·次⁻¹,剥取花芽,立即用甲醛-乙醇-醋酸混合固定液(FAA)固定,常规石蜡制片法制片^[3],切片厚度为8 μm,番红-固绿对染,中性树胶封片,Olympus CX41型显微镜观察、拍照。

1.2 相关代谢产物测定

根据文心兰生长发育的进程,分别在以下5个时期进行采样测定^[4],即:新芽初生期(新芽萌动,逐渐膨大,随后在叶鞘的包裹下抽出叶片)、花芽分化前期(新叶继续生长,用手轻捏假鳞茎基本已形成,拨开叶鞘,基部有新芽萌发)、花芽分化期(叶鞘基部新芽变为花芽,花枝整体形态基本形成可见)、花芽分化完成期(假鳞茎基部抽出花枝已基本现花蕾)和开花期(植株处于开花盛期)。选择生长一致,生长势强,有代表性的植株为试验材料,每次取样5株,取新叶用去离子水冲洗擦干,经液氮速冻后转入-80℃冰箱保存备用。采用蒽酮比色法测定可溶性糖^[5],采用考马斯亮蓝G-250染色法测定可溶性蛋白质^[6],总核酸测定参考朱广廉等^[7]的方法。以上试验均重复3次,取平均值,数据用Excel和SPSS13.0统计分析软件分析。

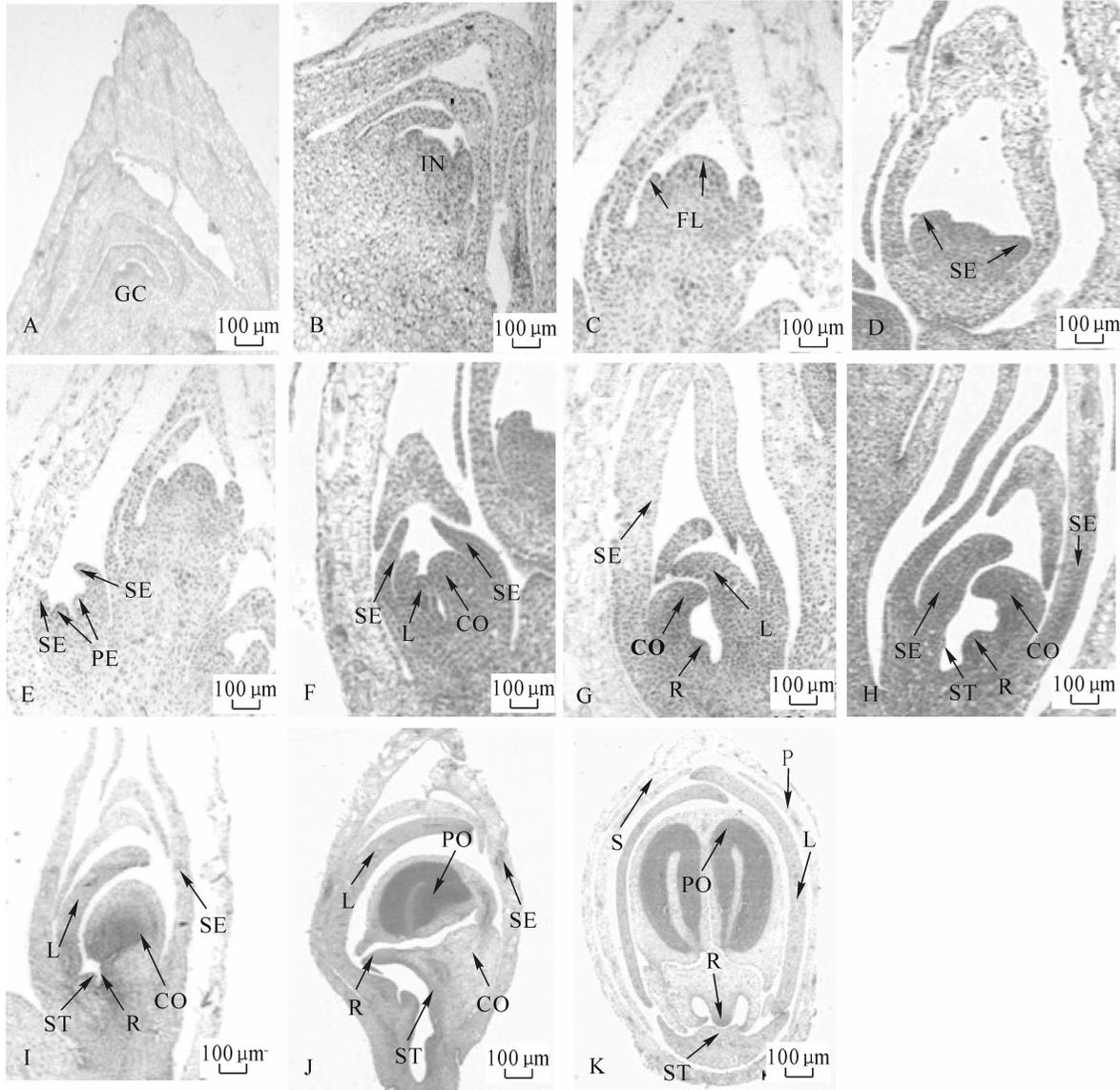
2 结果与分析

2.1 文心兰花芽分化时期及主要特征

文心兰植株新芽由原假鳞茎基部萌发,并逐渐形成新假鳞茎,假鳞茎成熟后原基部腋芽就开始分化成花茎,便完成了从营养生长到生殖生长的转变,开始了生殖器官一花的发生和发育。根据文心兰花芽发生和发育的特点,可以划分为6个时期:①分化初始期。7月中旬,芽点从假鳞茎基部叶腋处发出,此时的花芽非常小。茎端生长锥呈半圆球状,生长锥宽度大于高度,并呈钝三角形突起,生长锥顶端分生组织细胞个体较小,排列紧密,细胞质浓厚,而芽下基部的细胞排列却较疏松(图1-A)。②花序原基分化期。随着植株不断生长,茎端分生组织开始由营养茎端向生殖茎端改变,生长锥顶端向上伸长,基部加宽,细胞大而圆,排列疏松,以后生长点继续伸长增长,两端出现指状突起(图1-B)。③花蕾原基分化期。生长锥在进入花序原基分化期后继续升高,在其下部周围隆起并逐渐形成新的突起(图1-C),即为花蕾原基。随后,花序原基继续向上分化,依次分化出各朵小花,形成总状花序。花蕾原基最早出现在8月中旬,分化盛期在8月下旬。④花萼原基分化期。伸长后的生长点顶端逐渐由圆变宽而平坦,在花蕾原基和苞片形成的“保护套”内,形成新的指状突起(图1-D),逐渐伸长,进入花萼原基分化期。萼片原基最早出现在8月初,8月中旬达分化盛期。⑤花瓣原基分化期。随着萼片原基的不断分化生长,花萼原基内侧的花蕾原基逐渐变平变宽,向内凹陷,形成“V”字形缺口,逐后缺口处产生新的突起(图1-E),形成花瓣原基,花瓣原基生长很快,逐渐发育成条状花瓣。⑥合蕊柱及花粉块分化期。在花瓣原基继续生长发育的过程中,不断生长伸长的花瓣原基内侧又分化出新的突起,分化出合蕊柱原基,花芽进入合蕊柱及花粉块分化期。合蕊柱原基的基部逐渐突起,并与合蕊柱原基形成凹陷,最终形成蕊喙原基(图1-F~H),合蕊柱顶端逐渐变尖,中部变宽,此为花药的着生处(图1-I~K)。与此同时,唇瓣逐渐伸长,基部形成突起,此为柱头原基。随后,柱头原基和蕊喙原基逐渐生长,形成合蕊柱。合蕊柱和花粉块的分化需要较长一段时间,自8月中旬一直持续到9月中旬,到此完成了整个花芽形态的分化过程。

2.2 文心兰花芽分化与假鳞茎生长的关系

文心兰植株新芽由原假鳞茎基部萌发,并逐渐形成新假鳞茎,待假鳞茎成熟后原基部腋芽分化成花茎,一般一个假鳞茎上只有一个花茎,也有可能一些生出2个花茎。同一品种的不同植株花芽各分化时



GC: 生长锥; IN: 花序原基; FL: 花蕾原基; SE: 花萼原基; PE: 花瓣原基; CO: 合蕊柱原基; L: 唇瓣; ST: 柱头原基; PO: 花粉块; S: 花萼; P: 花瓣; R: 蕊喙

图 1 文心兰的花芽分化过程(A.分化初始期; B.花序原基分化期; C.花蕾原基分化期; D.花萼原基分化期; E.花瓣原基分化期; F~K.合蕊柱及花粉块分化期, K 为背面)

Figure 1 Process of floral bud differentiation in *Oncidium* 'Milliongolts' (A. initial differentiation phase; B. inflorescence primordium differentiation phase; C. flower primordium differentiation phase; D. sepal primordium differentiation phase; E. petal primordium differentiation phase; F-K. column and pollinia differentiation phase, K is overside)

期与假鳞茎生长的高度有一定的相关性。本试验把切片中花芽分化时期与假鳞茎生长联系起来，总结出花芽形态分化与植株生长的关系(表 1)。从表中可以看出，文心兰花芽分化过程中各时期假鳞茎长没有显著性差异；假鳞茎的直径在花序原基分化期与其他各时期差异性显著，但其他各时期间差异不明显；花芽长在花萼和花瓣原基分化期差异不明显，其他各时期

表 1 文心兰花芽形态分化与植株生长的关系

Table 1 Relationship between the flower bud morphological differentiation and the plant growth in *Oncidium* 'Milliongolts'

花芽形态分化期	假鳞茎直径/mm	假鳞茎长/cm	花芽长/mm
花序原基分化期	21.07±0.80 a	8.84±0.38 a	0.88±0.06 a
花蕾原基分化期	23.64±1.43 b	9.62±0.65 a	1.16±0.15 b
花萼原基分化期	24.48±1.72 b	9.37±0.58 a	1.49±0.05 c
花瓣原基分化期	23.72±2.50 b	9.16±0.25 a	1.61±0.13 c
合蕊柱及花粉块分化期	24.54±1.55 b	9.28±0.18 a	1.90±0.16 d

说明：测试样品 5 株，花芽形态分化期以花序中最大的花朵分化时期计算。

间差异显著。6月初,文心兰新芽开始生长时,假鳞茎和叶片都由叶鞘包裹,生长缓慢。7月初,叶鞘外面新叶伸出,生长加快,每周生长约3 cm。8月中旬,假鳞茎已形成,新生花茎从基部隐约可见,开始花芽分化,此时叶片着生在假鳞茎顶部,新生植株已长成。此后,叶片和假鳞茎的长度便不再变化,植株生长已经结束,只进行内部花芽分化的过程。

2.3 文心兰花芽分化进程中几种代谢产物质量分数的变化

花芽分化是有花植物生理发育过程的重要阶段。本试验对花芽分化进程中的3个重要生理指标:可溶性糖、可溶性蛋白质和核酸进行了测定。文心兰自新芽初生期开始到开花期,叶片中可溶性糖质量分数呈现高一低一高一低的趋势(图2-A)。新芽初生期随着新叶的展开和生长,可溶性糖达到一个最高峰($41.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$),之后下降,在花芽分化期达到最低值 $10.20 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,然后逐渐上升,在花芽分化完成后升高到 $26.27 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。表明在成花诱导的过程中可溶性糖质量分数是下降的,进入花器官分化后期后可溶性糖质量分数升高。文心兰叶片中可溶性蛋白质呈现先降后升的趋势(图2-B)。在新芽初生期可溶性蛋白质质量分数达 $4.74 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,然后逐渐下降,在花芽分化期达到最低点($1.28 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)。此后,蛋白质质量分数逐渐升高,在开花期蛋白质含量达到又一峰值($2.97 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)。

叶片中核酸的质量分数总体呈下降趋势(图2-C),在新芽初生期最高,然后下降,在花芽分化期时核酸质量分数较前期又稍有升高,接着在花芽分化期间又降低至最低点($0.35 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$),而在花芽分化完成后又逐渐升高。

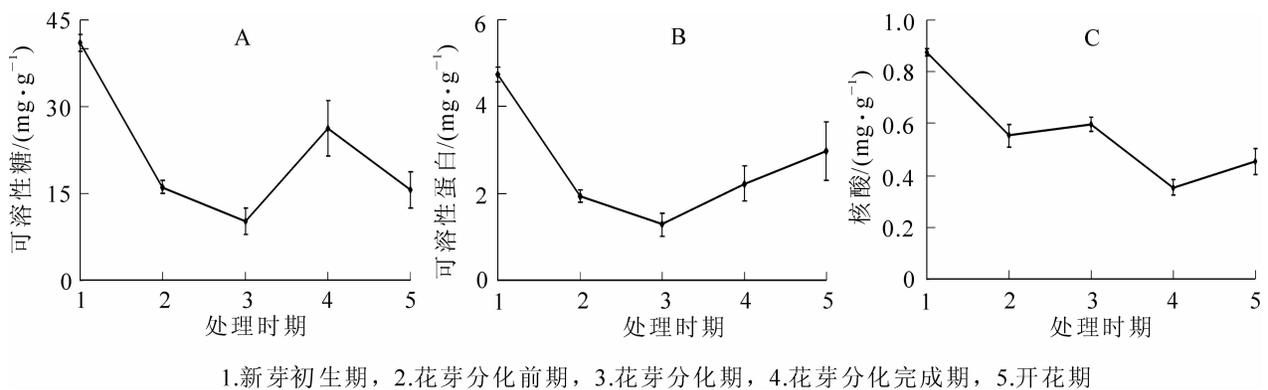


图2 文心兰花芽分化期叶片中几种代谢产物质量分数的变化

Figure 2 Changes in several metabolites content of *Oncidium* 'Milliongold' leaves during floral bud differentiation

3 讨论

花芽分化一般分为花芽分化初始期、花序原基分化期、花蕾原基分化期、花萼原基分化期、花瓣原基分化期、雄蕊原基分化期、雌蕊原基分化期等7个时期。兰科 *Orchidaceae* 植物的花器官具有独特的结构特征,它的雌雄两性器官合二为一形成特殊的生殖器官——合蕊柱。所以,本研究中把文心兰花芽分化过程划分为6个时期,分别是分化初始期、花序原基分化期、花蕾原基分化期、花萼原基分化期、花瓣原基分化期和合蕊柱及花粉块分化期。这与卡特兰花芽发育过程相似^[8]。

文心兰植株新芽于每年2个月左右由原假鳞茎基部萌发,假鳞茎成熟后原基部腋芽分化成花茎,花茎7月后急速生长,于10月中旬开花^[9]。文心兰整个花芽分化过程持续约2个月。从花芽分化的进程来看,分化速率呈现出快—慢—快—慢的特点,即花序原基分化快;花蕾原基分化慢;萼片原基、花瓣原基分化较快且连续性强;合蕊柱及花粉块分化慢。文心兰花芽分化过程各时期的时间长短不一,可能与外界环境和生殖器官结构复杂有关。

本实验研究表明:在生理分化的花芽孕育中期,叶片的可溶性总糖呈下降趋势,进入形态分化后则有所升高,这说明叶片中可溶性糖的储备为花芽萌出和花器官的形成做好了准备。常钟阳等^[10]对德国鸢尾 *Iris germanica* 的研究中提出:可溶性蛋白质是花器官形态建成的物质基础。本实验也表明:在花芽分化前期,叶片中可溶性蛋白质质量分数开始明显下降,花器官分化开始时,叶片中可溶性蛋白质质量分数逐渐增加并达到较高水平,之后继续上升,这可能是由于在花器官的分化和发育需要大量的营养物

质来供给。

核酸含量的变化一直是研究花芽分化机制非常重要的一个方面。相关研究显示,核酸的合成在由营养生长转向生殖生长的过程中起着关键作用。营养生长的茎端组织分化为成花茎端,核酸代谢关系重大,这已在菊花 *Dendranthema morifolium*^[11], 梨 *Pyrus pyrifolia*^[12]等植物中得到证实。从本实验结果可以看出,在花芽分化期开始时核酸含量下降,之后稍有上升接着下降至最低,在花芽分化完成时开始上升。这与菊花花芽分化时核酸变化规律相似。Bernierd 的开花诱导“多因子模型”提出,植物在启动开花之前,体内的各种有用生长调节物质和代谢产物作为成花的促进因子或抑制因子,必须在特定的时间,达到合适的浓度。它们之间的相互作用最终导致茎尖分生组织由营养生长向生殖生长。由此认为:叶片中核酸物质的代谢是文心兰花芽分化的一个生理基础。

参考文献:

- [1] 程潇筱,尹俊梅,杨光穗.文心兰花期调控技术的现状与展望[J].华南热带农业大学学报,2007,13(4):55-57.
CHENG Xiaoxiao, YIN Junmei, YANG Guangsui. Status quo and prospect of florescence controlling techniques of *Oncidium* in China [J]. *J South China Univ Trop Agric*, 2007, 13(4): 55-57.
- [2] 潘瑞焱,董愚得.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2001:144.
- [3] 李正理.植物组织制片学[M].北京:北京大学出版社,1996:130-139.
- [4] 郑宝强.卡特兰花期调控及其关键栽培技术研究[D].北京:中国林业科学研究院,2009.
ZHENG Baoqiang. *Study on Flowering Regulation and Key Cluture Technology on Cattleya* [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2009.
- [5] 郝建军,康宗利,于洋.植物生理学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2006:141-142.
- [6] 李合生.植物生理生化原理与技术[M].北京:高等教育出版社,2000:184.
- [7] 朱广廉,钟海文,张爱琴.植物生理学实验[M].北京:北京大学出版社,1990:134-137.
- [8] 郑宝强,王雁,彭镇华,等.卡特兰的花芽形态分化[J].园艺学报,2008,35(12):1825-1830.
ZHENG Baoqiang, WANG Yan, PENG Zhenhua, et al. Morphological differentiation of flower bud of *Cattleya labiata* [J]. *Acta Horti Sin*, 2008, 35(12): 1825-1830.
- [9] CHANG Y C, LEE N. Growth, morphology and anatomy of pseudobulb and inflorescence in *Oncidium* 'Gower Ramsey' [J]. *Chin Soc Hort Sci*, 1999, 45(1): 87-99.
- [10] 常钟阳,张金政,孙国峰,等.德国鸢尾‘常春黄’花芽分化的形态观察及2种代谢产物的动态变化[J].植物研究,2008,28(6):741-745.
CHANG Zhongyang, ZHANG Jinzheng, SUN Guofeng, et al. Morphological studies and changes of two metabolites content during floral bud differentiation period in *Iris germanica* 'Lovely Again' [J]. *Bull Bot Res*, 2008, 28(6): 741-745.
- [11] 石万里,夏宜平,姚毓璆.核酸、蛋白代谢与菊花花芽分化的关系[J].园艺学报,1993,20(1):99-100.
SHI Wanli, XIA Yiping, YAO Yuqiu. Relationship between the flower bud differentiation and metabolism of nucleic acid and protein in *Dendranthema morifolium* [J]. *Acta Horti Sin*, 1993, 20(1): 99-100.
- [12] 彭抒昂.钙调素与核酸在梨花芽分化中的动态研究[J].华中农业大学学报,1998,17(6):570-573.
PENG Shu'ang. Studies on the change of CaM and nuclear acid during flower differentiation of pear [J]. *J Huazhong Agric Univ*, 1998, 17(6): 570-573.