

温度对切花菊‘深志’侧芽形成的影响

李俊香 温超 刘凤栾 杨会芳 陈晓丽 郝琳 赵梁军*

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100193)

摘要 以少侧枝切花菊品种‘深志’为试验材料,研究温度对其侧芽形成的影响。在大田栽培条件下,‘深志’侧芽发生率与环境温度呈负相关;解剖观察表明,其腋生分生组织在春季温度较低时发育成侧芽,而夏季高温时很快演变成无序的薄壁细胞团。在人工控制条件下进一步研究,结果表明:1)‘深志’适温((日温)25 °C/(夜温)20 °C)时可正常形成侧芽,高温((日温)33 °C/(夜温)28 °C)处理 16~25 d 侧芽形成几乎完全受到抑制,而 25 d 后新生节位又开始形成侧芽;2)对高温处理期间‘深志’未形成侧芽的节位进行解剖观察,叶腋部位只呈现出无序的薄壁细胞团,与田间高温季节解剖观察结果一致;3)‘深志’适温时茎尖中 ZR 含量呈缓慢上升趋势,IAA/ZR 值基本保持不变,而高温处理期间茎尖中 ZR 含量先大幅下降后又上升,IAA/ZR 值先大幅上升后又下降。综上,温度可能通过影响‘深志’茎尖中 ZR 含量及 IAA/ZR 值调控其侧芽的形成。

关键词 切花菊;侧芽;温度;解剖;激素

中图分类号 S 682.1⁺¹

文章编号 1007-4333(2014)01-0074-06

文献标志码 A

Effect of temperature on lateral bud formation of *Chrysanthemum morifolium* ‘fucashi’

LI Jun-xiang, WEN Chao, LIU Feng-luan, YANG Hui-fang, CHEN Xiao-li,
XI Lin, ZHAO Liang-jun*

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract We studied the effect of temperature on lateral bud formation of less-branching *Chrysanthemum morifolium* ‘fucashi’. The results showed that the percentage of lateral bud formation in the new nodes was negatively related to the environmental temperature. Anatomical observation showed that its axillary meristem could develop into lateral bud in cool spring but quickly turned into disordered parenchymatous cells in hot summer. Further research under the controlled condition indicated that ‘fucashi’ could generate lateral buds all the time under normal temperature condition (day 25 °C/night 20 °C). However, the lateral bud formation was almost completely suppressed from the 16th to the 25th day, and then formed again in axils of the new nodes when treated with high temperature (day 33 °C/night 28 °C). Anatomical observation of the axils without lateral buds during the period of high temperature treatment showed only disordered parenchymatous cells, which was the same as the anatomical result during hot summer. Under normal temperature condition, ZR content in the shoot tips of ‘fucashi’ had a slow increasing tendency, but the ratio of IAA/ZR remained almost unchanged. During the period of high temperature treatment, ZR content in the shoot tips of ‘fucashi’ decreased significantly and then went up slowly. The ratio of IAA/ZR went up sharply and then dropped significantly. In conclusion, our results indicated that temperature regulated the lateral bud formation in ‘fucashi’ by affecting the content of ZR and the ratio of IAA/ZR in its shoot tips.

Key words cut chrysanthemum; lateral bud; temperature; anatomy; hormone

收稿日期: 2013-05-13

基金项目: 国家‘863’计划项目(2011AA100208); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金资助课题(博导类)(20110008110021)

第一作者: 李俊香, 硕士研究生, E-mail: lijunxiang_email@163.com

通讯作者: 赵梁军, 教授, 主要从事观赏植物发育生理及分子生物学研究, E-mail: zhaolj5073@sina.com

菊花(*Chrysanthemum morifolium*)是世界四大切花之一,也是我国重要的出口花卉,单头切花菊是其中主要类型。但目前市场上少侧枝的单头切花菊品种极为缺乏^[1],生产中需人工抹除侧芽侧蕾以保证成花品质,该过程费用占生产成本的 1/3 左右^[2-3]。因此,研究菊花侧枝发生的机理和调控方法,具有重要的实际意义。

分枝是植物形态建成的重要方面,主要包括 2 个过程:1)腋生分生组织起始,在叶腋处分化形成侧芽;2)侧芽伸长形成侧枝^[4]。植物分枝既取决于侧芽的形成,也取决于侧芽的活力和随后的伸长^[4]。研究表明,植物分枝与环境因子(温度、光照等)及内源激素的调控密切相关^[4-8]。目前,菊花侧枝发生的研究主要集中在侧芽伸长形成侧枝的过程,特别是生长素、细胞分裂素、独脚金内酯(Strigolactones)等激素及其相关基因对该过程的调控方面^[1-3,9];而对菊花侧芽形成过程的研究较少,仅在形态和解剖观察方面有所报道^[10-11],对其发生和调控机理认识还不够深入^[12]。

‘深志’是一种少侧枝的单头切花菊,在北京地区其侧芽发生率仅 30%左右,远低于国内单头切花菊的主栽品种‘神马’。本研究对大田栽培条件下‘深志’的侧芽发生规律进行调查,通过解剖观察明确其侧芽发生受阻的阶段,并进一步在人工控制条件下,分析温度对‘深志’侧芽发生及茎尖中激素含量的影响,以期对菊花侧枝发生机理研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

少侧枝单头切花菊品种‘深志’(*Chrysanthemum morifolium* ‘fucashi’)引自辽宁省农业科学院花卉研究所。田间试验于 2011 年 4 月—2012 年 10 月在中国农业大学科学园进行,人工控温处理试验于 2011 年 10 月—2012 年 12 月进行。

1.2 ‘深志’侧芽发生规律的田间调查

2012 年 4 月中旬,取健壮的插穗,扦插生根后定植于试验田,株行距 10 cm×15 cm。选取长势一致的材料 30 株,自 5 月 1 日—9 月 15 日(花蕾期),每半个月统计新生节位数目和其中侧芽形成的节位数,计算侧芽发生率(式 1)。同时,利用自动气象

站,记录试验田温度的变化。

$$\text{侧芽发生率} = \frac{\text{其中侧芽形成的节位数}}{\text{新生节位数}} \times 100\% \quad (1)$$

1.3 大田栽培条件下‘深志’茎尖及叶腋部位的解剖观察

分别于‘深志’侧芽可形成时期(5 月 20 日)和侧芽形成受抑制时期(7 月 10 日),切取植株茎尖(顶部第一个完全展开叶片以上部位)和叶片完全展开节位的叶腋部位,各取 30 个样品。

样品采集后,立即用 FAA 固定液固定,用艾氏苏木精法染色制片,石蜡切片过程参考郑国锜和谷祝平^[13]的方法。

1.4 人工控温处理试验

为进一步论证‘深志’侧芽形成可能受环境温度的调控,设计了人工控温处理试验。在光照培养箱(赛福公司,PCX-450D-30)内,根据田间温度调查与分析,设置 2 种处理:适温(对照组)——日温 25 °C/夜温 20 °C,高温(试验组)——日温 33 °C/夜温 28 °C。光周期为光照 16 h/黑暗 8 h,以避免短日照诱发花芽分化。光照强度设为培养箱能够实现的最高光照强度,光合有效辐射强度 70 μmol/(m²·s)。

为便于取材和重复试验,以长势一致的组培扦插苗作为试验材料。生根后移栽到规格为 7 cm×7 cm 的营养钵内,基质配方为营养土:蛭石=1:1,放置于光照培养箱内培养。适温条件下(日温 25 °C/夜温 20 °C)驯化培养 15 d 后,对照组温度不变,试验组日温/夜温提高至 33 °C/28 °C,进行高温处理。

1.4.1 侧芽发生率调查

对照组和试验组各选取 12 株,自高温处理开始的第 0 天~第 35 天,每 5 d 统计新生节位数目和其中侧芽形成的节位数,计算侧芽发生率(式 1)。

1.4.2 解剖观察

切取试验组高温处理期间未形成侧芽节位的叶腋部位,进行解剖观察,方法同 1.3。

1.4.3 激素含量测定

每隔 5 d,切取对照组和试验组植株茎尖各 0.1 g,每处理 3 次重复。采用酶联免疫法测定样品中 ZR 和 IAA 含量,酶联免疫试剂盒购自中国农业大学农学与生物技术学院。

1.5 数据分析

应用 SPSS 11.5 和 Microsoft Excel 2007 软件进行数据统计与分析。

2 结果与分析

2.1 大田栽培条件下‘深志’侧芽发生率与环境温度的关系

对‘深志’生长期(5月1日—9月15日)的侧芽发生率进行调查和分析,发现‘深志’侧芽发生率与温度呈负相关。在春季温度较低时(5月1日—5月31日),‘深志’侧芽发生率为100%;之后,随着温度的升高,侧芽发生率逐渐下降;至夏季(7月1日—8月15日),温度一直维持在较高水平,侧芽发生受到极大抑制,侧芽发生率在7月16日—7月31日期间降至最低(2.20%);到秋季(9月1日—9月15日)温度大幅降低,侧芽发生率上升至67.71%(图1)。推测‘深志’侧芽形成可能受到环境温度的调控。

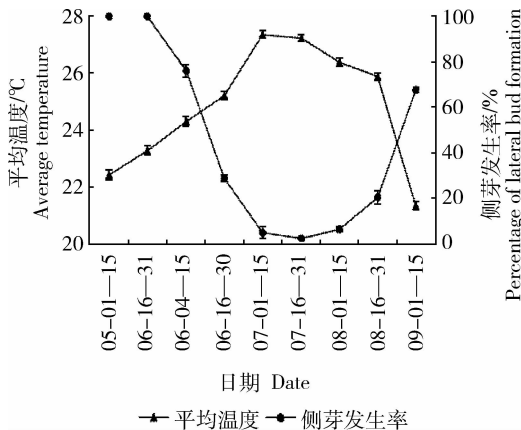


图1 大田栽培条件下‘深志’侧芽发生率与半月平均温度的关系

Fig. 1 Relationships between percentage of lateral bud formation of ‘fucashi’ in the field and average air temperature of every half month

2.2 大田栽培条件下‘深志’茎尖及叶腋部位的解剖观察

为明确‘深志’侧芽形成受阻的阶段,分别于‘深志’侧芽可形成时期(5月20日)和侧芽形成受抑制时期(7月10日),采取茎尖和茎尖以下叶腋部位,进行显微观察。

对‘深志’茎尖横切,发现2个时期腋生分生组

织形态和发育过程存在明显差异。在第5和6片叶原基叶腋部位,两者均形成一团腋生分生组织细胞,表现为细胞核大、胞质染色深,但5月20日样品细胞排列整齐(图2(b)和(c)),7月10日样品细胞排列散乱(图2(f)和(g))。5月20日样品,在第7和8片叶原基的叶腋部位,腋生分生组织不断分裂增大形成突起(图2(d)),在9和10片叶原基的叶腋部位,腋生分生组织已分化形成具有2片叶原基的侧芽(图2(e))。而7月10日样品,在第7~10片叶原基的叶腋部位,分生组织细胞开始沿主茎边缘分散,并且数目不断减少,部分细胞已经分化成排列疏松的薄壁细胞(图2(h))。7月10日,取茎尖以下无侧芽形成节位的叶腋部位,纵切发现叶腋内无侧芽形成,只有薄壁细胞形成的凸起(图2(i))。

上述结果表明,‘深志’春季温度较低时(5月20日),腋生分生组织在形成之后继续分裂和分化形成侧芽,而夏季高温条件下(7月10日),腋生分生组织在形成之后,演变成了无序薄壁细胞,因而无法继续分裂和分化形成侧芽,无法进一步发育形成侧枝。

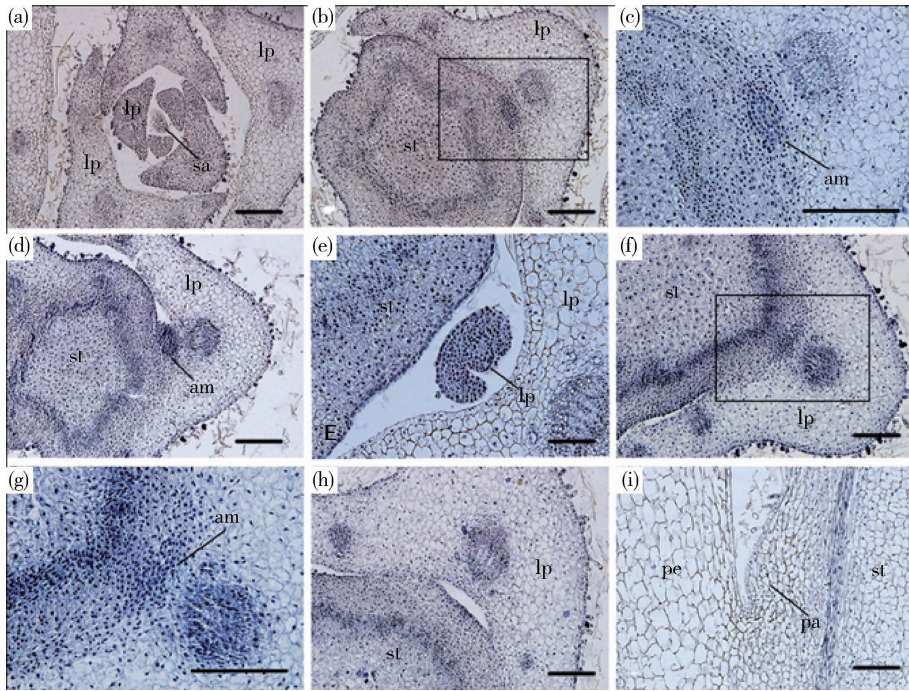
2.3 人工控制条件下温度对‘深志’侧芽形成的影响

为进一步论证‘深志’侧芽形成受温度调控,在人工控制条件下(光照培养箱内)对‘深志’进行高温((日温)33℃/(夜温)28℃)处理,并以适温((日温)25℃/(夜温)20℃)条件为对照。

在适温条件下,各个阶段,‘深志’侧芽发生率均为100%(图3),即新生节位叶腋处均有侧芽形成。而高温处理最初10d,‘深志’侧芽发生率为100%,之后部分节位侧芽发生开始受到影响,侧芽发生率开始下降,至第16~25天期间,新生节位侧芽的形成几乎完全受到抑制(图3)。以上结果表明,在人工控制条件下,高温可以抑制‘深志’侧芽形成。但与田间调查结果不同的是,随着高温处理时间的延长,‘深志’于25d后新生节位开始大量产生侧芽(图3)。

2.4 人工控制条件下‘深志’叶腋部位的解剖观察

对高温处理期间未形成侧芽节位的叶腋部位进行解剖观察,只发现薄壁细胞形成的突起。此结果与田间高温季节解剖结果(图2(i))一致。



(a)包含茎顶端分生组织和叶片原基的茎尖横切图;(b)~(e) 5月 20 日样品,腋生分生组织发育形成侧芽过程的横切图(b)细胞排列整齐的腋生分生组织;(c), (b)图方框区域的放大图;(d)腋生分生组织形成突起;(e)腋生分生组织形成包含 2 片叶原基的侧芽;(f)~(h) 7 月 10 日样品,腋生分生组织演变成薄壁细胞过程的横切图(f)细胞排列散乱的腋生分生组织;(g), (f)图方框区域的放大图;(h)腋生分生组织逐渐消失形成薄壁细胞);(i)没有侧芽形成叶腋部位的纵切图。比例尺为 200 μm 。sam. 茎顶端分生组织;lp. 叶片原基;st. 茎;am. 腋生分生组织;lb. 侧芽;pe. 叶柄;pac. 薄壁细胞。

(a) A transverse section of shoot apical meristem and leaf primordia;(b) – (e) Transverse sections of samples on May 20th (b) A well-organized axillary meristem;(c) A close-up of meristem in Fig. 2 (b);(d) A small mound of meristematic cells;(e) An lateral bud with two leaf primordia);(f) – (h) Transverse sections of samples on July 10th (f) A disordered axillary meristem;(g) A close-up of meristem in Fig. 2 (f);(h) Most of the axillary meristem cells differentiated into parenchymatous cells);(i) A longitudinal section of a leaf axil without lateral bud. Bars=200 μm . sam. shoot apical meristem; lp. leaf primordial;st. stem;am. axillary meristem;lb. lateral bud;pe. petiole;pac. parenchymatous cell.

图 2 大田栽培条件下‘深志’茎尖及叶腋部位的解剖观察

Fig. 2 Anatomical observation of shoot tips and leaf axils of ‘fucashi’ in the field

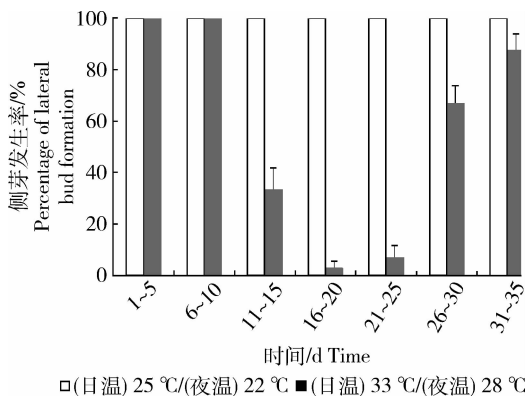


图 3 不同温度对‘深志’侧芽形成的影响

Fig. 3 Effects of different temperatures on lateral bud formation of ‘fucashi’

2.5 人工控制条件下温度对‘深志’茎尖中激素含量的影响

研究表明,细胞分裂素和生长素在植物侧芽形成过程中发挥着重要作用。为进一步探讨温度调控‘深志’侧芽形成的机制,在适温((日温)25 $^{\circ}\text{C}$ /(夜温)20 $^{\circ}\text{C}$)和高温((日温)33 $^{\circ}\text{C}$ /(夜温)28 $^{\circ}\text{C}$)处理后,对‘深志’茎尖中 ZR 和 IAA 含量进行测定和分析。

茎尖中 ZR 含量,适温条件下呈缓慢上升趋势;而高温处理后先大幅波动下降,15 d 之后又逐渐上升,到第 35 天基本恢复到高温处理前的水平,且一直显著低于适温条件下(图 4(a))。

适温条件下,茎尖中 IAA 含量第 10 天迅速下降,之后开始上升(图 4(b))。高温处理后,茎尖中

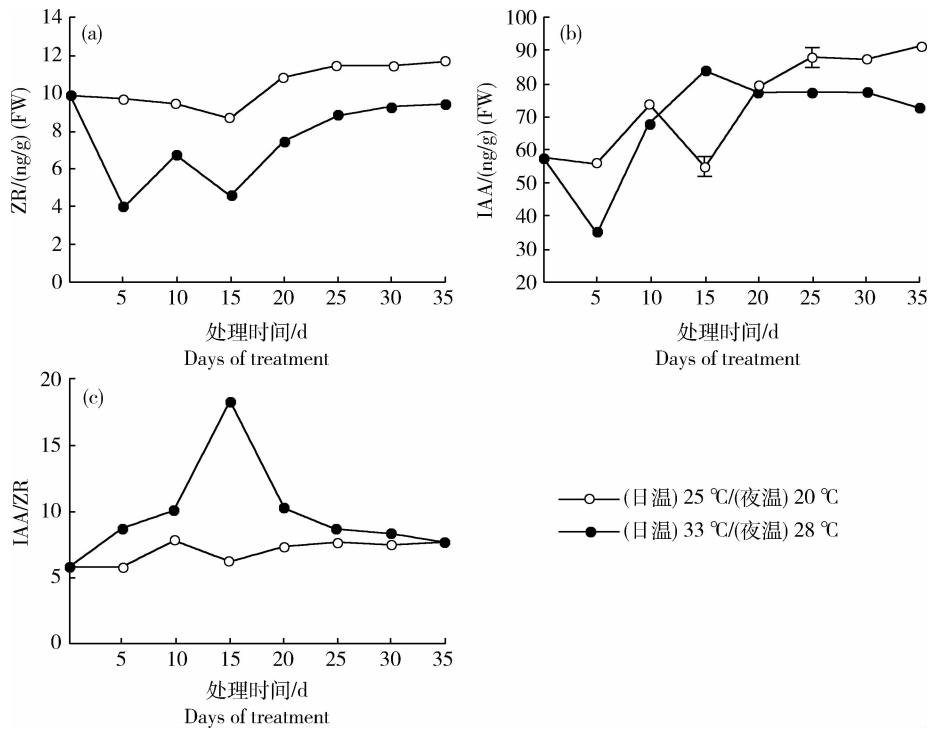


图4 不同温度对‘深志’茎尖中 IAA 和 ZR 含量及其比值的影响

Fig. 4 Effects of different temperatures on the content of IAA and ZR and the ratio of IAA/ZR in shoot tips of ‘fucashi’

IAA 含量先迅速下降,5 d 后迅速上升,15 d 后又开始缓慢下降(图 4(b))。

茎尖中 IAA/ZR 值,在适温条件下基本保持不变,仅有小幅波动;而高温处理后,茎尖中 IAA/ZR 在第 0~15 天迅速上升,15 d 后又开始下降,25 d 前一直显著高于适温条件下,到第 35 天时与常温条件下基本一致(图 4(c))。

结果显示,‘深志’适温时茎尖中 ZR 含量呈缓慢上升趋势,IAA/ZR 值基本保持不变,而高温处理期间茎尖中 ZR 含量先大幅下降后又上升,IAA/ZR 值先大幅上升后又下降,结合 2.3 中研究结果,表明‘深志’侧芽发生率与茎尖中 ZR 含量和 IAA/ZR 值变化有关。

3 讨论

田间观察发现,‘深志’在春季温度较低时能够形成侧芽,而夏季高温时侧芽形成受阻,秋季温度降低后又开始形成侧芽(蕾),表明其侧芽形成与环境温度有关,这与前人在菊花品种‘Improved Mefo’上的研究结果类似^[11,14]。在人工控制条件下,‘深志’高温处理后 16~25 d 期间侧芽形成几乎完

全受到抑制,进一步证明高温可以抑制‘深志’侧芽的形成。

解剖观察表明,‘深志’在春季温度较低时,腋生分生组织形成后可以发育成侧芽,而在夏季高温时,腋生分生组织形成之后迅速演变成薄壁细胞,无法继续分化形成侧芽。在人工控制条件下,对高温处理期间未形成侧芽节位的叶腋部进行解剖观察,呈现为无序的薄壁细胞团,此结果与田间夏季高温时一致。植物侧芽形成的过程可细分为 4 个步骤:1)叶腋部位特性的确立;2)叶腋内分生组织形成能力的保持;3)腋生分生组织的调整;4)侧芽的形成^[8,15]。结合本研究结果,‘深志’在高温条件下侧芽形成受到抑制,主要是步骤 3 或 4 被阻断。

研究表明,植物侧芽形成主要受到细胞分裂素和生长素的调控^[7,16]。番茄的 *ls* 突变体侧芽数目减少,与茎尖中细胞分裂素浓度降低、生长素浓度升高有关^[17]。拟南芥 *sps* 突变体的侧芽形成受到抑制,是侧芽起始位置细胞分裂素浓度过低所致^[18]。本试验中,适温时‘深志’侧芽发生率均为 100%,在此期间茎尖中 ZR 含量呈缓慢上升趋势,IAA/ZR 值基本保持不变;而高温处理后侧芽发生率先下降

后上升,在此期间茎尖中ZR含量先大幅下降后又上升,IAA/ZR值先大幅上升后又下降,可见侧芽发生率与茎尖中ZR含量和IAA/ZR值有关。由此推测,温度通过影响茎尖中细胞分裂素和生长素的水平来调控侧芽的形成。

值得注意的是,在人工控制条件下高温处理25 d后‘深志’侧芽发生率开始上升,即高温并不能持续抑制其侧芽的形成,但在大田栽培条件下高温季节(7月1日—8月15日)其侧芽形成一直受到抑制。分析造成这一差异的原因,一方面人工控制条件不能完全实现大田栽培条件下的温度及光照等环境条件;另一方面人工控制条件下采用试验材料为组培驯化苗,其某些生物学性状可能与田间扦插苗不同。

植物分枝是一个复杂的发育过程,受多种因素调控。本试验仅研究了温度对‘深志’侧芽形成的影响,各环境因素在这一过程中的复合作用,尚需要进一步研究和探讨。

参 考 文 献

- [1] 于静,董丽丽,郗琳,等.切花菊‘神马’细胞分裂素合成酶基因DgIPT3参与侧枝发育的功能分析[J].园艺学报,2012(4):721-728
- [2] Dong L, Yu J, Ishak A, et al. Identification and functional analysis of three MAX2 orthologs in chrysanthemum [J]. J Integr Plant Biol(accepted)
- [3] Liang J, Zhao L, Challis R, et al. Strigolactone regulation of shoot branching in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum*) [J]. J Exp Bot, 2010, 61(11):3069-3078
- [4] McSteen P, Leyser O. Shoot Branching [J]. Annu Rev Plant Biol, 2005, 56(1):353-374
- [5] Finlayson S A, Krishnareddy S R, Kebrom T H, et al. Phytochrome regulation of branching in arabidopsis [J]. Plant Physiol, 2010, 152(4):1914-1927
- [6] McSteen P. Hormonal regulation of branching in grasses [J]. Plant Physiol, 2009, 149(1):46-55
- [7] Schmitz G, Theres K. Genetic control of branching in Arabidopsis and tomato [J]. Curr Opin Plant Biol, 1999, 2(1):51-55
- [8] Schmitz G, Theres K. Shoot and inflorescence branching [J]. Curr Opin Plant Biol, 2005, 8(5):506-511
- [9] 周晓阳,陈晓丽,毕玲,等.菊花BRC1b基因的分离与亚细胞定位[J].中国农业大学学报,2012,17(1):100-104
- [10] Okamoto A, Suto K. Morphological observation on viable and nonviable axillary bud formation in non-branching chrysanthemum ‘Iwanohakusen’ [J]. J JPN Soc Hortic Sci, 2003, 72(5):422-424
- [11] Schoellhorn R K, Barrett J E, Bartuska C A, et al. Elevated temperature affects axillary meristem development in *Dendranthema × grandiflorum* ‘Improved Mefo’ [J]. HortScience, 2001, 36(6):1049-1052
- [12] Huh Y J, Lim J H, Park S K, et al. Endogenous indole-3-acetic acid and trans-zeatin ribosides in relation to axillary bud formation in standard chrysanthemum [J]. Hort Environ Biotechnol, 2011, 52(2):128-132
- [13] 郑国锴,谷祝平.生物显微技术[M].北京:高等教育出版社,1993:91-95
- [14] Schoellhorn R K, Barrett J E, Nell T A. Changes in chrysanthemum meristem and lateral bud development at elevated temperatures [J]. HortScience, 1995, 30(4):760
- [15] Grbić V, Bleecker A B. Axillary meristem development in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2000, 21(2):215-223
- [16] Bennett T, Leyser O. Something on the side: Axillary meristems and plant development [J]. Plant Mol Biol, 2006, 60(6):843-854
- [17] Tucker D J. Endogenous growth regulators in relation to side shoot development in the tomato [J]. New Phytol, 1976, 77(3):561-568
- [18] Tantikanjana T. Control of axillary bud initiation and shoot architecture in arabidopsis through the SUPERSHOOT gene [J]. Gene Dev, 2001, 15(12):1577-1588

责任编辑:王燕华