

郁金香花芽分化过程中鳞茎碳水化合物和蛋白质含量的变化

汪晓谦¹, 张延龙^{2,*}, 牛立新¹, 孙惠莉³, 司国臣²

西北农林科技大学¹园艺学院, ²林学院, ³理学院, 陕西杨凌712100

摘要: 以郁金香的两个品种‘朱迪斯’(‘Judith Leyster’)和‘大笑’(‘Big Smile’)为材料, 采用石蜡切片法确定其花芽分化进程, 并测定花芽分化期鳞茎内碳水化合物和可溶性蛋白质含量的变化。结果表明, 郁金香花芽分化过程中, 两个品种的碳水化合物含量的变化趋势较为接近。随着鳞茎含水量的下降, 可溶性总糖和可溶性蛋白含量均呈先增加后减少的趋势。淀粉含量的变化呈现波动性, 而淀粉酶活性则持续增强并在后期达到稳定水平。鳞片可溶性糖含量和淀粉酶活性同时增加是郁金香花芽形态分化启动的标志。相比于外层鳞片, 内层鳞片是为花芽原基生长发育提供营养物质的首要场所。

关键词: 郁金香; 花芽分化; 碳水化合物; 蛋白质

Changes of Carbohydrate and Protein Contents in Bulbs of *Tulipa gesneriana* L. during Flower Bud Differentiation

WANG Xiao-Qian¹, ZHANG Yan-Long^{2,*}, NIU Li-Xin¹, SUN Hui-Li³, SI Guo-Chen²

¹College of Horticulture, ²College of Forestry, ³College of Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

Abstract: Two different tulip cultivars, *Tulipa gesneriana* L. cv. ‘Judith Leyster’ and ‘Big Smile’, were adopted in the experiment. The course of flower bud differentiation was observed and the contents of carbohydrate and soluble protein were measured during flower bud differentiation. The results showed that the amounts of carbohydrate during the bud differentiation showed a similar tendency among the two cultivars. Along with the decrease of the water content, the contents of the total soluble sugar and protein increased at the beginning, reaching to the peaks in the outer petal differentiation stage then began to decline. The amylase activity increased to a stable level during bud differentiation, while the change of starch content exhibited a little fluctuation. It was the marker of the initiation of tulip flower bud morphological differentiation that soluble sugar content and amylase activity of the scales increased together. The primary source of nutrient in the flower bud differentiation periods is the inner scales relative to the outer scales.

Key words: tulip; flower bud differentiation; carbohydrate; protein

花芽分化是有花植物发育中的关键阶段。花芽的数量和质量直接影响花卉的观赏性状和经济价值(马月萍和戴思兰2003)。郁金香是世界著名的球根花卉, 近年来在国内的引种面积逐年扩大, 深受人们喜爱。不过, 生产过程中存在的一些问题如开花质量下降, 花期调控等, 极大制约了郁金香产业的持续发展。对郁金香花芽分化的研究是解决这些问题的基础和根本。

营养是花芽分化以及花器官形成与生长的物质基础, 其中碳水化合物对花芽的形成尤为重要。已有很多报道指出, 碳水化合物的积累与花芽分化密切相关(梁芳等2008)。蛋白质则是花芽形态建成过程中必需的结构物质。所以, 阐明花芽分化过程中鳞茎碳水化合物和蛋白质代谢的变

化规律对郁金香的生产实践具有重要的指导意义。关于郁金香的解除休眠过程(Kamenetsky等2003)、种植初期(Yu等2009)以及花茎伸长期(Ranwala和Miller 2008)的碳水化合物的生理变化已有研究, 但郁金香花芽分化过程中鳞茎内的生理变化尚未见报道。本试验以‘朱迪斯’和‘大笑’两个郁金香品种为材料, 研究其花芽分化过程中鳞茎内碳水化合物及可溶性蛋白质含量的动态变化, 揭示郁金香花芽分化的生理机制, 以期对郁金香的花期调控及栽培管理提供理论依据。

收稿 2011-01-27 修定 2011-03-16

资助 农业部公益性行业(农业)科研专项经费项目(200903020)和陕西省科技攻关项目(2009K331020906)。

* 通讯作者(E-mail: zyllyz@sohu.com; Tel: 029-87082230)。

材料与方法

1 试验材料

本试验的研究材料为郁金香(*Tulipa gesneriana* L.)品种‘朱迪斯’(‘Judith Leyster’)和‘大笑’(‘Big Smile’),种球的平均周径在12~14 cm之间,由陕西省太白县马耳山种球繁育基地提供。种球于2010年5月29日收获后运回西北农林科技大学园艺场贮藏室,选取无病完好的种球,用百菌清溶液消毒后,贮藏于自然通风条件下备用。

2 试验方法

试验于2010年5月至9月在西北农林科技大学花卉研究所进行。每周取样一次,种球由贮藏室取得,收获前在种球繁育基地挖取种球。每次每个品种随机选取3个种球,解剖后分别切取与花芽相邻的最内两层鳞片(后期最内一层鳞片的大部分组织解体,仅有表皮留存,则只取与其相邻最近的一层鳞片)和鳞茎的最外两层鳞片,按照下面方法测定生理指标;另取中心花芽水洗后用FAA液固定,常规石蜡切片法(段国禄和施江2008)制片,确定花芽分化的进程。

2.1 生理指标测定方法

鳞茎含水量的测定采用鲜重法(高俊凤2000)。取样约0.5 g,精确称出鲜重。在烘箱中于105 °C下杀青0.5 h,然后于80 °C下烘至恒重,精确称出干重。最后经过计算得出鳞茎的含水量。

可溶性蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝G-250染色法(高俊凤2000)。取样0.5 g,加入5 mL蒸馏水研磨成匀浆并离心。吸取提取液1 mL,再加入考马斯亮蓝G-250溶液5 mL,充分振荡后用紫外可见分光光度计在波长595 nm处测定其吸光度,并利用标准曲线方程求出样品的可溶性蛋白质含量。

可溶性总糖和淀粉含量的测定采用蒽酮比色法(高俊凤2000),稍有改动。取样0.5 g,研磨成匀浆并用80%酒精80 °C提取,3 500 r·min⁻¹离心10 min,收集上清液,其残渣加80%酒精再重复提取2次,合并上清液,残渣用于测定淀粉含量。在上清液中加入活性炭80 °C脱色30 min,然后过滤并定容至25 mL。吸取1 mL样品液,冰浴下加5 mL 0.1%蒽酮试剂,再于沸水浴中准确加热10 min,迅速冷却,然后在620 nm处测定消光值。另取葡萄糖做标准曲线方程求出样品的可溶性总糖含量。

提取可溶性糖后所得残渣在沸水浴中糊化15 min,先后用9.2%高氯酸和4.6%高氯酸提取2次,分别离心合并上清液,定容至50 mL。按上述蒽酮比色法测定葡萄糖的量,乘以0.9转化为淀粉含量。

淀粉酶活性的测定采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法(高俊凤2000)。取样1.0 g,加蒸馏水研磨后定容至20 mL,室温下放置20 min,其间不断搅拌,取8 mL澄清液2 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液备用。对照管和样品管中加酶液1 mL和pH 5.6的柠檬酸缓冲液1 mL。对照管加4 mL 0.4 mol·L⁻¹的NaOH溶液,以钝化酶活性,再加1%淀粉溶液2 mL,混匀。样品管置40 °C水浴中保温15 min,再加40 °C预热的1%淀粉溶液2 mL,摇匀后立即于40 °C水浴中准确保温5 min,取出后,迅速加4 mL 0.4 mol·L⁻¹的NaOH溶液。取以上各管酶作用后的溶液各1 mL于10 mL试管中,再加入1 mL DNS试剂混匀,沸水浴准确加热5 min,取出流水冷却,用蒸馏水稀释至10 mL,混匀。于520 nm波长下比色。另取麦芽糖做标准曲线方程求出样品的淀粉酶活性值。

以上所有测定均进行3次重复。

2.2 形态观察结果

通过石蜡切片的显微镜观察发现,郁金香花芽形态分化一般由六月中旬开始,至八月初形成三棱形的雌蕊结束,全程约50 d。根据茎尖生长锥形态变化和花芽分化特点,并结合前人的研究(周国宁等1995;杨秋生等1997;张继娜2006),将郁金香花芽分化过程划分为5个时期(图1): (A)未分化期(undifferentiation stage, UDS), (B)外轮花瓣分化期(outer petal differentiation stage, OPDS), (C)内轮花瓣分化期(inner petal differentiation stage, IPDS), (D)雄蕊分化期(stamen differentiation stage, SDS), (E)雌蕊分化期(pistil differentiation stage, PDS)。

实验结果

1 花芽分化期鳞茎含水量的变化

从图2可以看出,两个品种的郁金香鳞茎在花芽形态分化期内含水量均有不同程度的下降。在由未分化期向花瓣分化期转变的过程中,外层鳞片含水量有较明显的下降,推测是由于收获前后,种球由生长期进入贮藏期,外层鳞片失水较多的

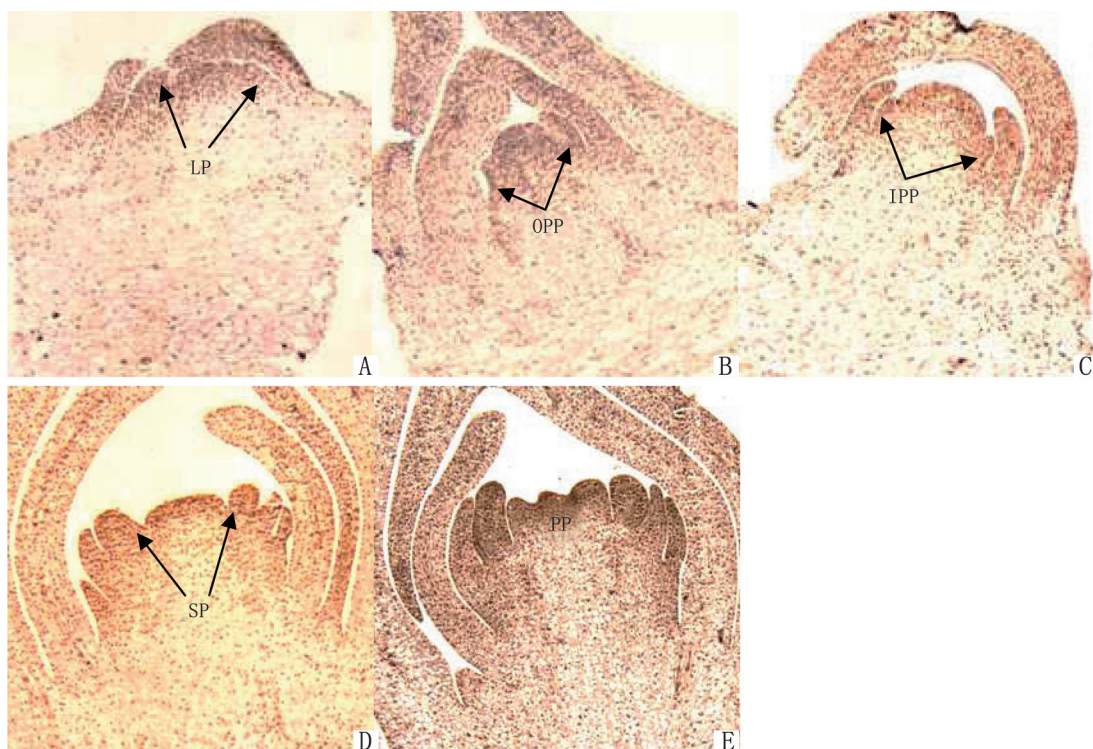


图1 郁金香花芽分化过程的形态观察

Fig.1 Morphologic observation of flower bud differentiation in tulip

A: 未分化期; B: 外层花瓣分化期; C: 内轮花瓣分化期; D: 雄蕊分化期; E: 雌蕊分化期。LP: 叶原基; OPP: 外层花瓣原基; IPP: 内轮花瓣原基; SP: 雄蕊原基; PP: 雌蕊原基。放大倍数: $\times 20$ 。

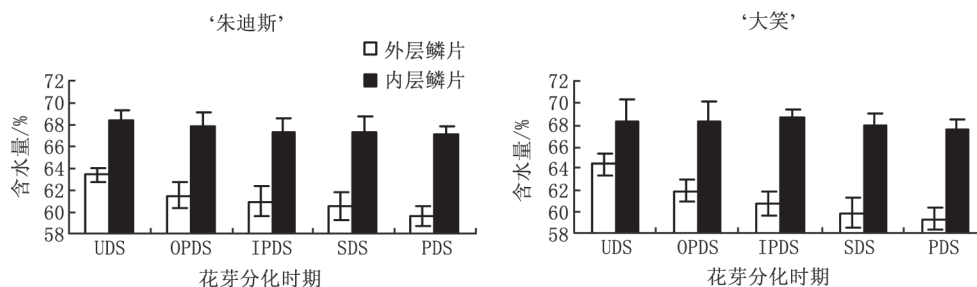


图2 郁金香花芽分化过程中鳞茎含水量的变化

Fig.2 Changes of water content of tulip bulb during flower bud differentiation

UDS: 未分化期(5月及6月上旬); OPDS: 外层花瓣分化期(6月中旬); IPDS: 内轮花瓣分化期(6月下旬); SDS: 雄蕊分化期(7月上半月); PDS: 雌蕊分化期(7月下旬)。下图同。

原因。对比内外层鳞片来看, 内层鳞片含水量一直保持着较高的水平, 并且在下降速率上也明显低于外层鳞片。对比不同品种发现, ‘大笑’的外层鳞片的含水量整体下降速率大于‘朱迪斯’, 而两个品种的内层鳞片均保持着较高的含水量。

2 花芽分化期鳞茎可溶性蛋白质含量的变化

从图3可以看出, 郁金香花芽分化过程中, 鳞

茎中的可溶性蛋白质含量整体呈先增长后下降的趋势, 在花瓣分化期或雄蕊分化期达到峰值。对比内外层鳞片发现, 两者的含量呈交替领先的水平。分化前期, 内层鳞片可溶性蛋白质含量低于外层, 随后两者均持续上升达到各自峰值, 其中内层鳞片的峰值出现时间比外层迟一个时期。两个品种间也表现出一定的差异, ‘朱迪斯’内外层鳞片

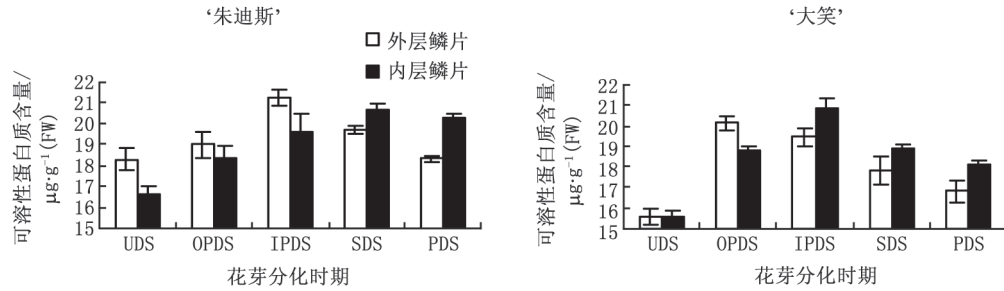


图3 郁金香花芽分化过程中鳞茎可溶性蛋白质含量的变化

Fig.3 Changes of soluble protein content of tulip bulb during flower bud differentiation

的峰值出现时间整体迟于‘大笑’,且未分化期的整体含量较高。试验表明,进入花芽分化期后,鳞茎中的可溶性蛋白质含量明显增加,在花瓣分化期或雄蕊分化期达到最大值,分化后期稍有下降。

3 花芽分化期鳞茎可溶性总糖含量的变化

从图4可以看出,进入花芽分化期后,鳞茎中可溶性总糖含量明显增加。在整个形态分化过程中,鳞茎的可溶性总糖含量整体呈先增长后下降的趋势,峰值都出现在外轮花瓣分化期,并且内层鳞片的可溶性总糖含量在大多数时期下高于外层。在‘朱迪斯’鳞茎中,可溶性总糖的含量在内轮

花瓣分化期出现了较小的波动,可能是由于这一时期淀粉的分解受到了部分抑制。两品种对比来看,‘大笑’鳞茎中的可溶性总糖含量整体水平明显高于‘朱迪斯’,内外层的差距也相对明显得多。

4 花芽分化期鳞茎淀粉含量的变化

从图5可以看出,未分化期的淀粉含量已经达到一个较高的水平。进入花芽分化期后,鳞茎的淀粉含量有少许的下降,而后在内轮花瓣分化期达到一个最大值,随后又开始下降,整体水平呈现波动性。不同品种之间,‘朱迪斯’鳞茎淀粉含量的整体水平要高于‘大笑’,且内外层的差距相对较

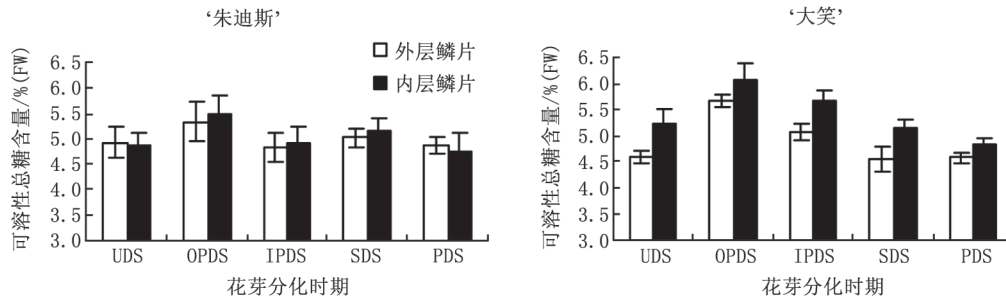


图4 郁金香花芽分化过程中鳞茎可溶性总糖含量的变化

Fig.4 Changes of soluble sugar content of tulip bulb during flower bud differentiation

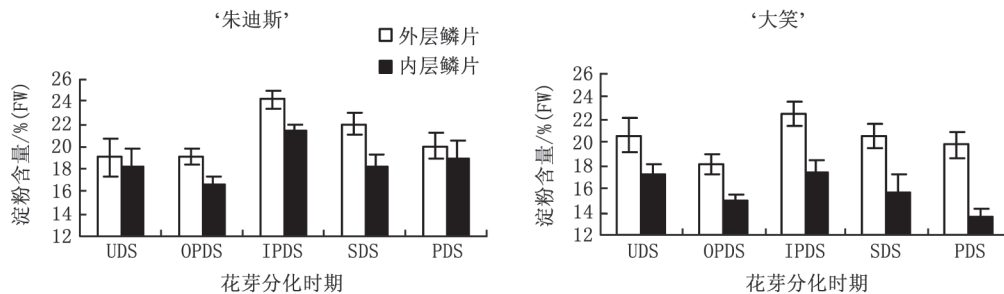


图5 郁金香花芽分化过程中鳞茎淀粉含量的变化

Fig.5 Changes of starch content of tulip bulb during flower bud differentiation

小。结合可溶性总糖含量的变化情况来看, 两个指标的变化呈一定的负相关性, 尤其是在分化的前期。总体上, 淀粉含量在整个分化期间呈波动状态, 且内层鳞片的淀粉含量始终低于外层。

5 花芽分化期鳞茎淀粉酶活性的变化

从图6可以看出, 郁金香鳞茎内淀粉酶的活性水平整体呈增强的趋势, 并在花芽形态分化后期达到相对的稳定水平。对比内外层鳞片的淀粉酶

活性发现, 内层鳞片的活性整体上要高于外层鳞片。两个品种的总体变化趋势大体一致, ‘大笑’鳞茎中淀粉酶活性略高于‘朱迪斯’。总的来看, 未分化期的淀粉酶活性极低, 进入花瓣分化期后快速增长, 在分化后期保持较高的整体水平, 并略有下降。只有‘朱迪斯’鳞茎的内层鳞片的淀粉酶活性在雄蕊分化期出现一些反复, 这可能与同时期淀粉含量的波动状态有关。

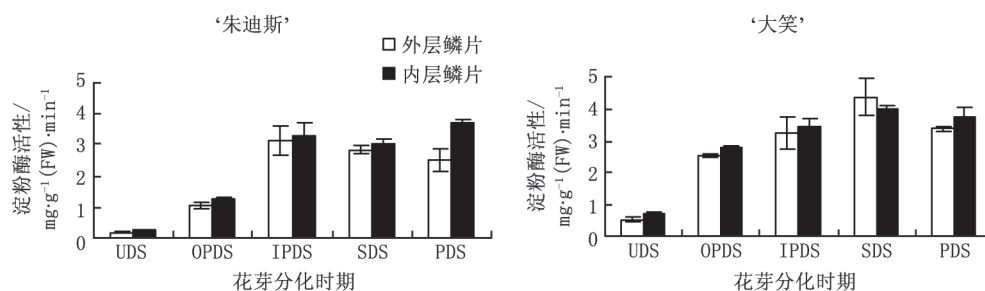


图6 郁金香花芽分化过程中鳞茎淀粉酶活性的变化

Fig.6 Changes of amylase activity of tulip bulb during flower bud differentiation

讨 论

花芽分化是营养生长进入生殖生长的标志, 在植物的一生中起着至关重要的作用。花芽分化得以顺利进行, 是由多种生理生化反应共同作用的结果(郭蕊2004)。本试验对两个郁金香品种在花芽分化过程中鳞茎内的含水量、可溶性蛋白质、可溶性总糖、淀粉含量及淀粉酶活性进行了测定。试验结果表明, 在郁金香花芽分化过程中, 随着鳞茎含水量的下降, 可溶性总糖及可溶性蛋白质含量均呈先增加后减少的趋势, 淀粉含量的变化呈现波动性, 而淀粉酶活性则持续增强, 并在后期达到稳定水平。

可溶性糖是鳞茎可以直接利用和运输的养分存在形式, 在成花中具有重要的作用。花芽形态分化期可溶性糖一部分作为呼吸基质被消耗, 一部分被转化为花芽生长中所需的营养物质(常钟阳2008)。梁芳等(2008)发现, 在花芽分化开始期, 菊花芽中可溶性糖水平迅速上升, 之后随着花芽分化的进行, 逐渐下降。郭蕊(2004)和闫芳(2009)分别在百合和朱顶红上的研究也证明了这一点。本试验结果表明, 进入形态分化期后, 郁金香鳞茎内可溶性总糖的含量明显升高。在整个分化过程中,

鳞茎内可溶性总糖含量呈先增长后下降的趋势, 峰值出现在外轮花瓣分化期。郁金香花芽分化的初期, 鳞茎中可溶性糖物质开始增加, 到了后期, 可溶性总糖的总体水平与未分化期大体持平。由此, 我们初步认为: 郁金香鳞茎在外轮花瓣分化期进入花芽形态分化的代谢旺盛时期。其总体变化趋势与前述文献的研究结果基本一致。

淀粉是郁金香鳞茎中主要的贮藏性碳水化合物, 其合成始终伴随着郁金香鳞茎的后期生长过程。淀粉酶分布于几乎所有植物中, 对调节和平衡碳水化合物的不同形态起重要作用, 其活性的强弱表明植物体内碳水化合物代谢状况(路莘等2003;孙红梅等2005)。6月上旬, 郁金香收获后, 鳞茎中心的顶芽逐渐由营养生长过渡到生殖生长, 花芽分化阶段由生理分化进入形态分化。本试验结果表明, 此时鳞片内的淀粉含量下降, 淀粉酶活性显著增强, 加上可溶性总糖含量的明显上升, 这些变化可以看做是郁金香进入花芽形态分化阶段的明显标志。随着分化的持续进行, 在内轮花瓣分化期或雄蕊分化期, 淀粉含量出现一些波动, 淀粉酶的活性则继续增强。进入分化后期, 淀粉酶的活性稳定在一个较高的水平, 淀粉含量则开始

持续下降。总体来看,淀粉含量的变化呈现波动性,而淀粉酶活性则持续增强并在后期达到稳定水平。孙乃波和张志宏(2006)发现,3个草莓品种叶片中淀粉含量的变化趋势基本一致,即在生理分化期略下降,分化期开始上升,花序分化期快速上升达到最大值之后下降。本研究结果与其类似,淀粉含量初期先下降后上升,后期则作为主要营养源,转化为能被分解利用的糖,表现为持续下降的趋势。结合淀粉酶活性的变化,我们认为,淀粉作为贮藏物质,在郁金香花芽形态分化的中后期(雄蕊分化期之后)开始发挥主要作用。

可溶性蛋白质主要包括结构蛋白以及酶蛋白,是花器官形态建成的物质基础,在花芽分化时需要量很大(涂淑萍等2005)。花芽分化启动后,贮藏在鳞茎中的非可溶性蛋白经酶部分水解后成为水溶性的较小的蛋白,再经肽水解酶水解为氨基酸,运往生长部位加以利用。林桂玉等(2008)研究表明,菊花花芽分化启动期可溶性蛋白含量迅速增加,之后保持一段时间较高水平后,逐渐降低。这与本试验结果类似。从本试验看,鳞片可溶性蛋白质含量在花芽分化的旺盛期(花瓣分化期或雄蕊分化期)达到最大值,内外层鳞片的含量呈交替领先的水平,这可能是因为内外层鳞片行使储存并不断向花芽输送蛋白质的中转功能。在雄蕊分化期以后,可溶性蛋白质含量处于下降的趋势,可以理解为花芽进入成熟时期。

两个品种间的对比说明,不同品种的郁金香鳞茎在花芽分化阶段的碳水化合物代谢变化趋势基本一致,只是在含量上有所差别。‘大笑’在可溶性总糖含量水平上要明显高于‘朱迪斯’,淀粉酶活性也相对较高,说明‘大笑’的代谢水平要比‘朱迪斯’高。另外,在内外层鳞片的对比上,除淀粉含量外,内层鳞片在含水量、可溶性总糖含量及淀粉酶活性等生理指标上均高于外层鳞片,说明在花芽分化阶段,内层鳞片是为花芽原基生长发育提供营养物质的首要的场所,而外层鳞片可能在花

芽分化的形态发育完成后发挥主要作用。

参考文献

- 常钟阳(2008). 德国鸢尾‘长春黄’花芽分化的研究[学位论文]. 吉林: 吉林农业大学
- 段国禄, 施江(2008). 植物制片、标本制作和植物鉴定. 北京: 气象出版社, 18
- 高俊凤(2000). 植物生理学实验技术. 西安: 世界图书出版西安公司, 57~190
- 郭蕊(2004). 百合冷藏及花芽分化期间形态和生理变化的研究[学位论文]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学
- 梁芳, 郑成淑, 张翠华, 孙庆春(2008). 菊花花芽分化过程中芽和叶片碳水化合物含量的变化. 山东农业科学, (1): 40~42
- 林桂玉, 黄在范, 张翠华, 郑成淑(2008). 菊花花芽分化期超微弱发光及生理代谢的变化. 园艺学报, 35 (12): 1819~1824
- 路苹, 郭蕊, 于同泉, 杨柳, 赵祥云, 石庆炜(2003). 切花百合鳞茎花芽形态分化期碳水化合物代谢变化. 北京农学院学报, 18 (4): 259~261
- 马月萍, 戴思兰(2003). 植物花芽分化机理研究进展. 分子植物育种, 1 (4): 539~545
- 孙红梅, 李天来, 李云飞(2005). 百合鳞茎发育过程中碳水化合物含量及淀粉酶活性变化. 植物研究, 25 (1): 59~63
- 孙乃波, 张志宏(2006). 草莓花芽分化过程中叶片碳水化合物和蛋白质含量的变化. 安徽农业科学, 34 (11): 2328~2329
- 涂淑萍, 穆鼎, 刘春(2005). 不同百合品种花芽分化期的生理生化变化. 中国农学通报, 21 (7): 207~209
- 闫芳(2009). 朱顶红(*Hippeastrum vittatum*)花芽分化与发育的形态学观察研究[学位论文]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学
- 杨秋生, 高致明, 萧蓉萍, 袁祖丽, 宋鸿雁(1997). 郁金香花芽分化的解剖学研究. 河南农业大学学报, 31 (3): 251~254
- 张继娜(2006). 郁金香花芽分化的观察与研究. 甘肃农业大学学报, 41 (4): 41~44
- 周国宁, 应求是, 陈绍云, 方远忠, 王月华(1995). 温度对郁金香花芽分化的影响. 浙江农业学报, 7 (2): 146~148
- Kamenetsky R, Zemah H, P. Ranwala A, Vergeldt F, Ranwala NK, Miller WB, As HV, Bendel P (2003). Water status and carbohydrate pools in tulip bulbs during dormancy release. *New Phytol*, 158: 109~118
- Ranwala AP, Miller WB (2008). Gibberellin-mediated changes in carbohydrate metabolism during flower stalk elongation in tulips. *Plant Growth Regul*, 55: 241~248
- Yu Z, Chen LC, Suzuki H, Ariyada O, Erra-Balsells R, Nonami H, Hiraoka K (2009). Direct profiling of phytochemicals in tulip tissues and *in vivo* monitoring of the change of carbohydrate content in tulip bulbs by probe electrospray ionization mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom*, 20: 2304~2311