

东方百合鳞片繁殖小鳞茎发生的形态学观察

宁云芬¹, 龙明华^{1,2*}, 陶劲¹, 杨美纯¹, 林德健¹

(1. 广西大学农学院, 南宁 530005; 2. 广西大学园艺研究所, 南宁 530005)

摘要: 采用解剖学方法研究东方百合鳞片扦插繁殖中小鳞茎的组织发生过程。结果表明: 小鳞茎的形态发生起源于鳞片近轴面基部的几层薄壁细胞, 细胞脱分化后形成分生组织, 再经过器官发生途径形成小鳞茎, 属于外起源。小鳞茎发生过程可分为未分化期、启动期、生长锥形成期、小鳞片原基和根原基形成期、小鳞茎形成期。

关键词: 东方百合; 鳞片扦插; 小鳞茎; 形态发生

中图分类号: Q944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)04-0437-03

Bulblet morphogenesis of Oriental lily during scale propagation

NING Yun-Fen¹, LONG Ming-Hua^{1,2*}, TAO Jin¹,
YANG Mei-Chun¹, LIN De-Jian¹

(1. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China; 2. Institute of Horticulture, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: Bulblet morphological courses of Oriental lily during scale cutting propagation were observed in present paper. The results showed that bulblet formation by organogenesis which originated from the parenchyma cells on scale base. Bulblet formation belongs to external origination. The process of bulblet morphogenesis was divided into five stages: no differentiation stage, initiating stage, apical meristem formation stage, leaflet primordium and root primordium formation stage, bulblet formation stage.

Key words: Oriental lily; scale cutting; bulblet; morphogenesis

东方百合(Oriental lily)为百合科(Liliaceae)多年生球根花卉, 具有较高的观赏价值和经济价值。其种球可通过组织培养、鳞片扦插等方法进行繁育。通过组织培养技术虽可解决百合多年连续进行营养繁殖而引起的退化现象, 以及解决百合的脱毒和扩大繁殖问题(丁兰等, 2004), 但此法移栽成活率低, 且生产成本较高。而通过鳞片扦插既能较好地保持品种的优良特性, 又能达到快速繁殖的目的, 因此鳞片扦插仍是快速繁殖东方百合的主要手段。近年来, 有关百合鳞片扦插的研究不少(单艳等, 2006), 但鲜有从细胞组织学角度观察鳞片扦插繁殖过程中

小鳞茎的起源和形成过程的报道。本文试图通过解剖研究探讨小鳞茎的形态发生过程, 以为东方百合的快速繁殖和生产开发提供理论基础。

1 材料与方法

供试材料为东方百合杂种系(Oriental hybrids)的栽培品种‘西伯利亚(Siberia)’, 剥取鳞茎的外部(第1~2层)和中部鳞片(第3~5层), 于2005年10月18日分别扦插于河沙中, 每隔5d取样1次, 共6次。每次分别取5片鳞片, 清水冲洗干净后用

收稿日期: 2006-11-27 修回日期: 2007-03-12

基金项目: 广西科技攻关项目(桂科攻 0323001-1)[Supported by Key Technologies Research and Development Program of Guangxi(0323001-1)]

作者简介: 宁云芬(1975-), 女, 广西宜州人, 博士, 讲师, 从事花卉栽培生理教学和科研工作, 主要研究百合栽培生理及种球生产。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: longmhua@163.com)

FAA液固定,常规石蜡制片法制片(李正理,1996),切片厚度10 μm,铁矾—苏木精染色,中性树胶封片,德国Leica DMLB显微镜观察和照相。

2 结果与分析

2.1 小鳞茎的外部形态发生过程

扦插的鳞片在剥伤刺激作用下,在近轴面基部伤口处分化出分生组织,扦插14 d左右开始在鳞片基部形成1~4个白色粒状突起(图版I:1),扦插1个月后发育成膨大的小鳞茎(图版I:2)。小鳞茎的发生一般在靠近鳞片近轴面切口边缘处形成一排,在鳞片近轴面远离切口的其余部位均未见有小鳞茎分化,这与前人的研究报道(Matsuo等,1986;胡秉芬,2003)相似。其次,小鳞茎的分化不同步,生长在同一个鳞片上的小鳞茎处于不同的发育阶段。

小鳞茎发生所需的营养物质主要来自扦插的鳞片。当扦插的鳞片因供给小鳞茎生长而逐渐枯萎时,小鳞茎与扦插鳞片分离。形成的小鳞茎由8~10片鳞片组成,并从其基部长出新的不定根,从其中中央长出1~3片细长的绿叶,叶脉不明显(图版I:3)。鳞片上小鳞茎的形成方式有两种类型:第一种是先形成小鳞茎,小鳞茎膨大到一定程度后在其基部长出新的不定根;第二种是小鳞茎与新的不定根几乎同时生长。本试验的结果以第一种类型趋多。

2.2 小鳞茎的组织形态发生过程

2.2.1 小鳞茎组织发生的五个时期 结果表明,小鳞茎的组织形态发生起源于鳞片近轴面基部的几层薄壁细胞,这些脱分化的细胞经旺盛分裂形成顶端分生组织,顶端分生组织再经过器官发生途径形成小鳞茎,整个过程可分为五个时期:

未分化期:鳞片扦插1~6 d后纵切观察,鳞片基部表皮细胞及内部薄壁组织细胞未见发生变化,细胞排列整齐,其薄壁细胞较大,液泡化程度较高(图版I:4),并储藏大量大小不等的淀粉粒(图版I:5)。在薄壁组织内分布有维管束,多为螺旋导管(图版I:6)。

启动时期:扦插7 d后纵切观察,鳞片近轴面基部向上第8~15层薄壁细胞开始启动,进行脱分化(图版I:7)。扦插12 d后脱分化的细胞进行活跃的细胞分裂,形成的细胞比刚脱分化时的细胞体积小,液泡小而少,核和核仁大(图版I:8)。由于细胞分裂旺盛,细胞数目迅速增多,在薄壁组织中形成无

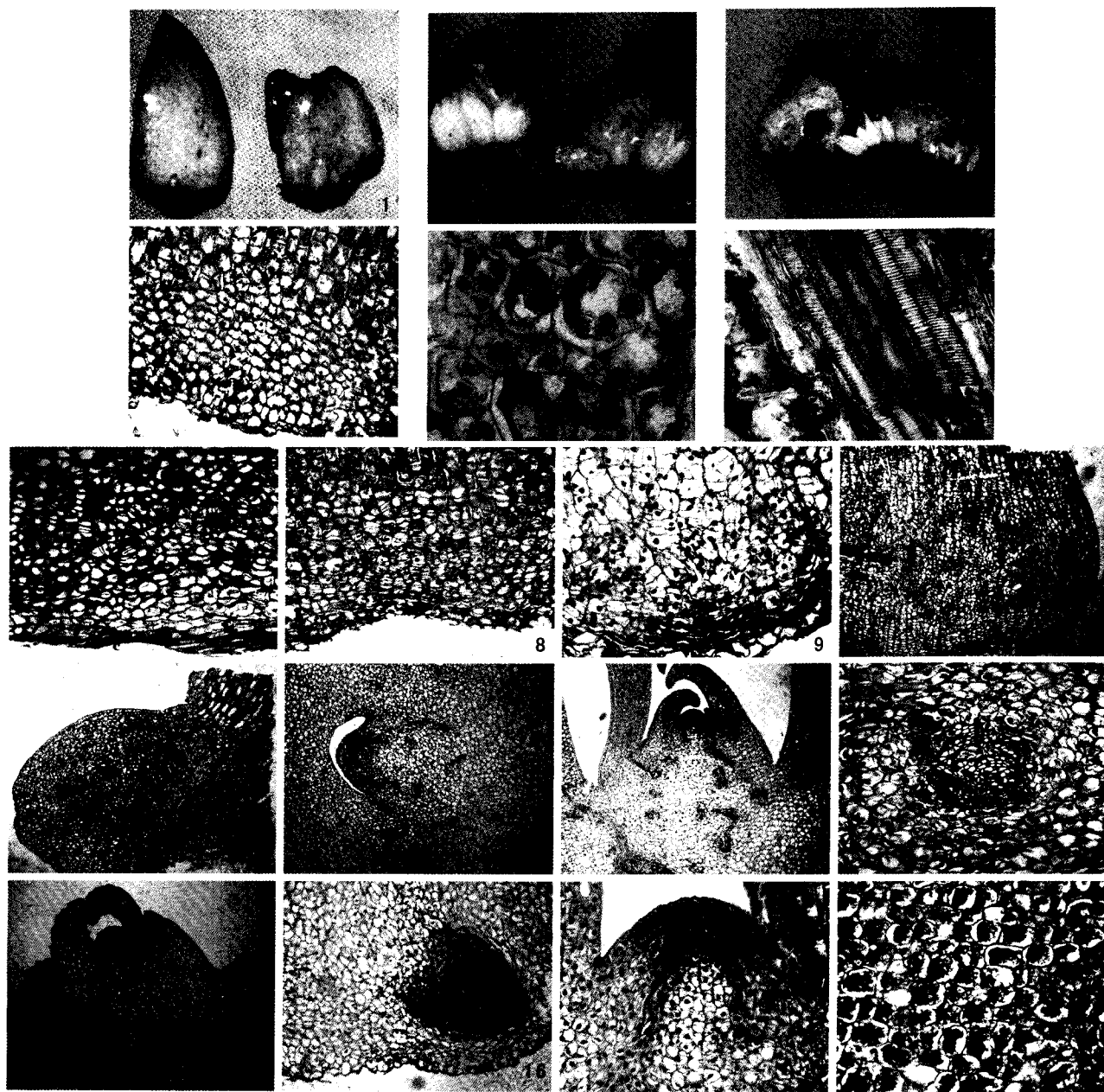
一定结构的分生细胞团(图版I:9)。此时鳞片近轴面基部表面平整,外观上没有明显变化。

生长锥形成时期:扦插17 d后纵切观察,由于细胞的活跃分裂,在鳞片近轴面基部开始膨大隆起,隆起的最外一层细胞排列整齐,只进行垂周分裂(图版I:10)。通过肉眼可见鳞片近轴面基部表面刚刚隆起,需仔细观察方能见到小鳞茎的雏形。由于突起的细胞分裂活动更加活跃,细胞数目急剧增加,突起进一步生长,呈丘状结构(图版I:11)。随着细胞的旺盛分裂,突起中央形成一个间隙,间隙不断扩展,进一步分裂形成圆丘状的顶端分生组织(图版I:12)。

小鳞片原基和根原基形成时期:扦插22 d后从鳞片基部可同时观察到小鳞片原基和根原基的形成过程。小鳞片原基是由顶端分生组织基部一侧的表层细胞进行平周分裂产生,向其周围增加了细胞的数目,形成小鳞片原基。随着小鳞片原基逐渐成熟,新的小鳞片原基又从生长锥的另一侧分生组织形成,如此一对小鳞片原基形成之后逐渐生长为第1片、第2片新鳞片(图版I:13),同时另一对小鳞片原基又开始启动,依次发育成第3片、第4片新鳞片;但是生根的分生细胞团出现的早晚不同,有分化出两片新鳞片时发生根的分生细胞团,也有分化出4~5片新鳞片时才发生根的分生细胞团(图版I:14),分生细胞团进一步分化为根原基。

小鳞茎形成时期:扦插鳞片4~6周后陆续形成完整的小鳞茎,同时生根(图版I:15,16)。纵切面可观察到新鳞片包围着的生长锥部分,呈圆丘状,伴随着第3小鳞片原基的发生,逐渐变狭成为半球形。生长锥呈现出明显的原套—原体结构(图版I:17)。原套1~2层细胞,一般作垂周分裂,其细胞形状近似一致,细胞核较大,染色深;原套以内有一团排列不规则的细胞为原体,其细胞向各个方向分裂;生长锥下方有一部分细胞引长并逐渐向下分化为维管组织(图版I:17),随着新鳞片的产生,维管组织分化成维管束。随着小鳞茎的形成,扦插鳞片薄壁细胞内的淀粉粒逐渐减少并趋于消失,而小鳞茎新鳞片细胞内的淀粉粒则逐渐积累(图版I:18)。

2.2.2 小鳞茎发生的时间序列 扦插1~6 d切片观察,鳞片基部细胞未见发生变化;扦插7~17 d,一些鳞片近轴面基部向上第8~15层薄壁细胞发生变化,细胞分裂旺盛,膨大形成突起,即肉眼可见的白色粒状突起;扦插18~25 d,小突起逐渐变大,形成



图版 I 1. 鳞片近轴面基部产生的粒状突起; 2. 已生根的小鳞茎沿鳞片近轴面基部排成一行; 3. 已长出绿叶的小鳞茎; 4. 鳞片基部细胞未分化, $\times 100$; 5. 鳞片薄壁细胞内淀粉粒, $\times 400$; 6. 鳞片内维管束, 示螺纹导管, $\times 400$; 7. 一些细胞开始启动, $\times 100$; 8. 已脱分化的细胞进行活跃的细胞分裂, $\times 100$; 9. 细胞旺盛分裂形成分生细胞团, $\times 400$; 10. 细胞团扩大开始膨大形成突起, $\times 50$; 11. 突起继续生长呈丘状结构, $\times 50$; 12. 丘状结构从中央开始分化产生顶端分生组织, $\times 50$; 13. 分化成具有 2 片新鳞片的小鳞茎, $\times 50$; 14. 顶端分生组织下方出现生根的分生细胞团, $\times 200$; 15. 小鳞茎分化出 5 片鳞片, $\times 50$; 16. 小鳞茎分化出根, $\times 100$; 17. 原套—原体结构和维管组织, $\times 200$; 18. 新鳞片细胞内形成淀粉粒, $\times 200$.

Plate I 1. Jut on the scale adaxial base; 2. Rooted bulblets arrange a row on scale adaxial base; 3. Bulblets with green leaf; 4. No differentiation of scale base cells, $\times 100$; 5. Starch grain inside scale parenchyma cells, $\times 400$; 6. The vascular bundle inside scale, $\times 400$, shows thread vessel; 7. A number of cells initiate, $\times 100$; 8. The differentiated cells divide vigorously, $\times 100$; 9. Cell mass formed from division cell, $\times 400$; 10. Outgrowth formed after cell mass enlargement, $\times 50$; 11. Mound-like texture formed, $\times 50$; 12. The apical meristem formed from the center of Mound-like texture, $\times 50$; 13. Bulblets with two new scales, $\times 50$; 14. The meristematic cell mass of root formed at the lower part of apical meristem, $\times 200$; 15. Bulblets with five new scales, $\times 50$; 16. Bulblets with roots, $\times 100$; 17. Tunica-corus texture and vascular tissue, $\times 200$; 18. Starch grain formed inside new scale cells, $\times 200$.

(下转第 499 页 Continue on page 499)

30 a 树龄的植株胸径平均达 58.92 cm, 而 50 a 左右树龄的植株胸径可达 1.02 m, 最大达 1.21 m, 年均胸径生长在 1.96~2.04 cm 之间, 远高于中国的 1.466 cm(郭善基, 1993); (2) 树形好, 叶色浓绿, 极具观赏价值; (3) 病虫害极少, 在所有调查植株中, 仅发现一株有轻微病虫害危害, 其余均生长良好, 无任何病虫害发生。

虽然新西兰全国各地均种植有银杏, 但其种质资源较为匮乏, 种核也较小, 最大的为 2.15 g, 最小的仅 1.44 g。另外, 大部分新西兰人对银杏的果及叶的作用不了解, 更不知其可食用, 只是一些亚洲移民, 特别是华人移民食用银杏。在新西兰, 银杏是一种新兴产业, 目前, 其国内还未有人对其进行系统的研究, 发展较为盲目, 缺乏果用、叶用良种和规范化栽培管理技术。而中国在银杏产业发展方面具有资源及技术优势, 因此, 在这方面两国间具有很大的合作空间。

参考文献:

何凤仁. 1989. 银杏的栽培[M]. 南京: 江苏科学技术出版社
郭善基. 1993. 中国果树志(银杏卷)[M]. 北京: 中国林业出版

社: 3-91

梁立兴. 1993. 中国当代银杏大全[M]. 北京: 北京农业大学出版社: 1-26

梁立兴. 1995. 国外银杏科技动态(一)[J]. 陕西林业科技, 2: 71-72

Alan Mitchell, John Wilkinson. 1982. The Trees of Britain and Northern Europe[M]. Britain: Domino Books Ltd Press, 15-24
Burstall SW, Sale EV. 1984. Great Trees of New Zealand[M]. Wellington: Published in association with the New Zealand Forest Service: 144-263

Del Tredici P. 1981. The *Ginkgo* in America[J]. *Arnoldia*, 41: 150-161

Del Tredici P. 1991. *Ginkgo* and people—a thousand years of interaction[J]. *Arnoldia*, 51: 2-15

Henry A. 1906. Trees of Great Britain and Ireland[M]. *Ginkgo biloba*, Maidenhair tree. In: Elwes & Henry, 56-62

Lobstein A, Rietsch-Jako L, Haag-Berrurier M, et al. 1991. Seasonal variations of the flavonoid content from *Ginkgo biloba* leaves[J]. *Plant Med*, 57: 430-433

Miyoshi M, Merkwurdige. 1931. *Ginkgo biloba* in Japan[J]. *Mitt Deutsch Dendr Ges*, 43: 21-22

Santamour F S, et al. 1983. Checklist of cultivated *Ginkgo*[J]. *J Arboriculture*, 3: 88-92

Vermeulen J. 1960. Propagation of *Ginkgo biloba* by cutting[J]. *Comb Pro Int Prop Soc*, 10: 127-130

(上接第 439 页 Continue from page 439)

小鳞片原基、根原基及 1~2 片新鳞片, 扦插鳞片的薄壁细胞内淀粉粒减少, 而小鳞茎新鳞片的薄壁细胞内有少量淀粉粒积累; 扦插 25 d 后小鳞茎形成 4~6 片新鳞片, 其上贯穿维管束, 扦插鳞片的薄壁细胞内淀粉粒进一步减少, 小鳞茎新鳞片细胞内的淀粉粒逐渐增多; 扦插 1 个月后, 扦插鳞片的近轴面基部形成明显膨大的小鳞茎, 由 8~10 片新鳞片组成, 其外层新鳞片上有许多维管束贯穿其中, 在基部长出新根, 少部分小鳞茎抽出新叶, 形成完整植株。

Matsuo 等(1986)研究表明, 麝香百合鳞片扦插时小鳞茎的正常发育过程是: 分生组织产生后形成愈伤组织, 然后由愈伤组织分化形成小鳞茎。刘明志等(2002)研究表明, 百合鳞片离体培养过程中, 在含有 2,4-D 和 6-BA 的 MS 培养基上, 既能通过器官发生, 又能通过体细胞胚胎发生途径形成再生植株。而本试验研究结果表明, 小鳞茎的形态发生是通过器官发生途径形成再生植株的, 属于外起源, 不经过愈伤组织形成和体细胞胚胎发生阶段, 此研究结果与宁云芬等(2003)、胡秉芬(2003)研究结果相似。由外起源形成的小鳞茎遗传性稳定, 生产上利于保持母本的优良

性状。

参考文献:

李正理. 1996. 植物组织制片学[M]. 北京: 北京大学出版社: 130-139

单艳, 李枝林, 赵辉. 2006. 百合鳞片扦插繁殖技术研究综述[J]. 中国农学通报, 22(8): 365-368

Hu BF(胡秉芬). 2003. The study about scale propagation of Lanzhou Lily and the forming process of small bulbs(兰州百合鳞片繁殖及小鳞茎形成过程研究)[D]. 西北师范大学硕士学位论文

Ding L(丁兰), Zhao QF(赵庆芳), Liu RH(刘瑞梅). 2004. Study on tissue culture and propagation of Marocco polo *in vitro* (马可波罗百合的组织培养和离体快繁)[J]. *Guihaia*(广西植物), 24(1): 37-39

Liu MZ(刘明志), Lin XY(林雪艳). 2002. Effects of hormone on plant regeneration of lily (*Lilium davii*) (激素对百合植株再生的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), 22(2): 167-170

Matsuo E, Ohkurano T, Arisumi K, et al. 1986. Scale bulblet malformations in *Lilium longiflorum* during scale propagation[J]. *Hortscience*, 21(1): 150

Ning YF(宁云芬), Zhou HG(周厚高), Huang YY(黄玉源), et al. 2003. The bulblet morphogenesis of *Lilium formolongi* in scale propagation(新铁炮百合鳞片扦插繁殖的小鳞茎形态发生)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), 30(2): 229-231