



绣球花芽分化进程中需冷量及生理生化变化特征

杨君¹, 邱帅², 叶康¹, 唐琪琦³, 秦俊^{1,*}

¹上海辰山植物园/城市园艺技术研发和推广中心, 上海201602

²杭州市园林绿化股份有限公司, 杭州310020

³上海交通大学设计学院, 上海200240

*通信作者(qinjun03@126.com)

摘要: 本文探究绣球花芽分化进程与自然环境温度的关系, 揭示绣球成花过程中主要生理生化指标的变化规律。以绣球‘火红’ (*Hydrangea macrophylla* ‘Hot Red’) 为试材, 通过体式显微镜和扫描电镜观察花芽分化进程, 采用成花诱导模型计算上海地区自然环境下各阶段的低温需冷量; 同时测定了赤霉素(GA₃)、玉米素(ZT)、脱落酸(ABA)、吲哚乙酸(IAA)、可溶性糖和可溶性蛋白等生理生化指标的含量。结果表明, 上海地区自然环境下‘火红’花芽分化经过未分化期、花芽膨大期、分生组织分化初期、分生组织分化中期、分生组织分化末期、花原基分化期、花器官形成期7个阶段; 从花芽分化启动到花器官形成的需冷量为 12 887.88°C·h⁻¹; 绣球花序分生组织分化是一个高度有序的过程, 分生组织主要基于倍增因子为3的规律进行重复分裂, 使其数量呈指数增长后进入花原基分化阶段。分生组织分化时期是绣球植物激素和营养物质变化的关键时期, 此时花芽和叶片中较高的ABA/GA₃、ABA/IAA比值有利于花序分生组织分化, 保证花序分枝的顺利形成; 叶片中可溶性糖的累积和可溶性蛋白的消耗有利于花芽形成, 达到促花的效应。

关键词: 绣球; 花芽分化; 低温需冷量; 植物激素; 营养物质

Chilling requirement and physiological biochemistry changes during flower bud differentiation in *Hydrangea macrophylla*

YANG Jun¹, QIU Shuai², YE Kang¹, TANG Qiqi³, QIN Jun^{1,*}

¹Shanghai Chenshan Botanical Garden/Urban Horticulture Research and Extension Center, Shanghai 201602, China

²Hangzhou Landscaping Incorporated Company, Hangzhou 310020, China

³School of Design, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

*Corresponding author (qinjun03@126.com)

Abstract: The relationship between the differentiation process of hydrangea buds and the natural ambient temperature was explored, and the changes in main physiological biochemistry indexes during the flowering process were revealed in this study. *Hydrangea macrophylla* ‘Hot Red’ was used as the test material. The process of flower bud differentiation was observed by stereomicroscope and scanning electron microscope, and the inflorescence induction model was used to calculate the chilling requirement at each stage under natural environment in Shanghai. The contents of gibberellin A3 (GA₃), zeatin (ZT), abscisic acid (ABA), indole-3-acetic acid (IAA), soluble sugar, and soluble protein were determined during the differentiation process. The results show that hydrangea flower bud differentiation goes through 7 stages, in-

收稿 2022-11-11 修定 2023-01-10

资助 上海市科技兴农项目[沪农科推字(2021)第 1-1号]。

cluding the undifferentiated stage, flower bud expanding stage, initial stage of meristem differentiation, middle stage of meristem differentiation, final stage of meristem differentiation, floral primordium formation stage, and floral organ formation stage. The chilling requirement from the initiation of flower bud differentiation to floral organ formation stage is up to $12\ 887.88^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$. The differentiation of inflorescent meristem is a highly ordered process, which is always based on the reproduction of the elementary model featured as the multiplication factor of 3. The continuation of these divisions leads to an increasing and exponential number of meristematic domes, and then enters the floral primordium formation stage. The differentiation stage of meristem is the key period for the change of phytohormones and nutrient substances in hydrangea. The higher ABA/GA₃ and ABA/IAA ratios in leaves and buds are beneficial to the differentiation of hydrangea floral meristem and the formation of inflorescence branches. The accumulation of soluble sugar and the consumption of soluble protein in leaves are beneficial to the formation of flower buds and achieve the effect of promoting flowering.

Key words: hydrangea; flower bud differentiation; chilling requirement; phytohormone; nutrient substance

绣球(*Hydrangea macrophylla*)为虎耳草科(Saxifragaceae)绣球属(*Hydrangea*)的落叶灌木,其品种繁多,花型饱满,可应用于景观造景、盆花和切花,在世界范围内广受欢迎。绣球自然花期为5—6月,大部分品种需经过低温春化作用才能开花,在促成栽培中常通过放置冷库模拟低温春化以打破花芽休眠。由于绣球不同产地气候条件不同,且不同品种低温需冷量存在差异(Anderson等2009),在把握放置冷库、加温催花等关键时间节点上仍存在技术难题,常因放置冷库时间过长导致花芽腐烂,或因加温催花时间过早出现花畸形、成花率低等问题,极大限制了绣球规模化周年生产。因此研究绣球花芽分化进程中低温解除花芽休眠的需冷量,以及植物激素和营养物质的变化规律,对实现绣球花期的精准调控具有重要理论与实践意义。

植物成花是复杂的形态建成过程,不仅受外界光照、温度等环境因子的影响,还受到体内各种物质的调控(万友名2019);如植物激素可响应外界环境变化,调节成花基因表达,而充足的营养物质可显著促进成花。目前绣球成花的相关研究主要集中在花芽分化机理(张国兵和罗玉兰2019; Galopin等2008)、光温调控(Nordli等2011)、矮化栽培(江宗藩2010)、多次开花(Kitamura等2018)等方面。绣球花芽分化的启动一般发生在夏末初秋,完成成花转变需要经过营养生长、成花诱导、低温春化和花序形成四个连续的阶段(Galopin等2010)。

温度是影响绣球花芽分化的重要环境因子, Bailey和Weiler (1984)发现温度低于 18°C 有利于诱导绣球花芽分化启动; Nordli等(2011)发现转移绣球到 $2\sim 10^{\circ}\text{C}$ 的冷库模拟低温春化,不仅可以打破休眠,促使花期提前,而且可以降低花序的分枝程度,使株型紧凑,提高成花品质;江宗藩(2010)将绣球置于 1 、 4 和 10°C 冷库处理45 d后加温催花,发现 4°C 处理现蕾率最高。目前已有学者研究了荔枝(*Litchi chinensis*, 刘鹏旭2017)、芍药(*Paeonia lactiflora*, 周逸龄2012)等植物成花过程中的低温需冷量,对于绣球花芽分化进程与低温需冷量的关系则少有报道,更缺乏绣球花芽分化进程中生理生化变化规律的相关研究。以绣球‘火红’为材料,通过体式显微镜和扫描电镜观察花芽分化进程,采用成花诱导模型计算上海地区自然环境条件下各阶段的低温需冷量;同时测定花芽和叶片中植物激素含量,以及叶片中淀粉、可溶性糖和可溶性蛋白含量,以期掌握绣球‘火红’花芽分化进程与环境温度的关系,揭示其成花过程中主要生理生化指标的变化规律,进而为人工调控绣球花期提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2021年9月至2022年1月在上海辰山植物园绣球资源苗圃进行($31^{\circ}04'\text{N}/121^{\circ}10'\text{E}$)。供试材料为绣球‘火红’ [*Hydrangea macrophylla* (Thunb.)

Ser. 'Hot Red'], 购自上海种业集团, 苗龄3年, 共30盆, 种植于7加仑盆中(高40.5 cm, 口径37.5 cm), 自然光照和温度条件下栽培。从2021年9月(绣球花芽分化未启动)开始, 每隔5 d随机选取10~20个花芽, 每隔10 d采集花芽下最近的一对叶, 用于花芽分化形态观察和植物激素含量测定。

1.2 花芽形态分化观察

采用体视显微镜和扫描电镜进行观察。每隔5 d从绣球老枝上随机选取10个顶芽, 去除外侧幼叶后, 使用Olympus SZX16体视显微镜对其进行解剖观察, 并拍照记录花芽形态变化。同时每隔5 d随机选取6个花芽, 用2.5%戊二醛固定24 h后4°C保存; 离心去掉固定液, 用磷酸缓冲液漂洗(0.1 mol·L⁻¹, pH 7.0), 1%锇酸溶液固定1.5 h, 再用不同浓度的乙醇(30%、50%、70%、80%、90%和95%)逐级脱水, 每种浓度处理20 min后, 置于VFD冷冻干燥仪进行CO₂临界点干燥, ACE离子溅射仪喷薄层镀金膜, 在HITACHI SU8010扫描电镜下观察。

1.3 花芽分化进程的划分

参考Galopin等(2008)的研究及本试验观察, 将绣球花芽分化分为7个时期。stage 1: 未分化期; stage 2: 花芽膨大期; stage 3: 分生组织分化初期; stage 4: 分生组织分化中期; stage 5: 分生组织分化末期; stage 6: 花原基分化期; stage 7: 花器官形成期。在体式显微镜下对每个取样日期的花芽进行解剖, 统计处于不同分化阶段的花芽百分率, 同一时间段内不同分化阶段的花芽数, 以数量超过50%作为该阶段的划分标准(赵云芳等2018)。

1.4 成花需冷量

从2021年9月份开始到次年1月份, 用Alog300温湿度自动记录仪记录资源苗圃的温湿度, 同时根据花芽分化进程记录各阶段时间, 参考Chen等(2016)的研究, 通过成花诱导模型(the inflorescence induction model)计算低温需冷量; 以18°C为基温(base temperature of inflorescence) (Bailey和Weiler 1984; Litalere和Strømme 1975), 计算秋季绣球花芽分化启动至花器官形成期低温需冷量的总和, 冷积累量的单位为°C·h⁻¹。

1.5 生理指标测定

从2021年10月至次年1月, 每10天随机取20个

花芽, 同时采集芽下最近的一对叶, 液氮速冻后-80°C保存备用。通过酶联免疫分析法测定花芽和叶片主要植物激素赤霉素(gibberellin A3, GA₃)、玉米素(zeatin, ZT)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)含量(王海波等2014)。每个指标测定进行3个生物学重复, 通过标准曲线计算将吸光度值转换为实际含量。

从2021年10月至12月(12月18日叶片已完全落叶), 每10天随机取芽下最近的一对叶, 经液氮速冻后-80°C保存, 测定叶片可溶性糖、淀粉和可溶蛋白含量。通过硫酸-蒽酮比色法测定可溶性糖和淀粉含量, 通过考马斯亮蓝G250比色法测定可溶性蛋白含量(苍晶和赵会杰2013)。每个指标测定进行3个生物学重复, 通过标准曲线计算将吸光度值转换为实际含量。

1.6 数据分析

采用Excel 2019进行数据整理, Duncan法进行多重比较, 数据处理采用SPSS 22软件, GraphPad Prism 9.0进行图表绘制。

2 实验结果

2.1 花芽分化形态观察

绣球‘火红’的花芽分化进程, 从生长点营养生长到花器官形成可划分为7个阶段(图1)。stage 1为未分化期, 生长点被一对叶原基覆盖, 之后叶原基开始分离, 但生长点顶端平坦, 花芽只进行营养生长, 仍处于未分化期(图1-A和B)。stage 2为花芽膨大期, 生长点停止营养生长, 逐渐膨大, 中央形成一个明显的花序分生组织凸起(图1-C)。stage 3~5(图1-D~G)为分生组织分化期, 花芽外轮廓呈纺锤形, 生长点表面开始形成多个半球形的花序分生组织凸起; 其中stage 3为分生组织分化初期, 3个分生组织形成(图1-D); stage 4为分生组织分化中期, 9个分生组织形成(图1-E); stage 5为分生组织分化末期, 大量分生组织开始形成(图1-F和G), 表现出绣球近球状花型的特征。stage 6进入花原基分化阶段, 分生组织进一步分化形成小花原基, 同时生长点边缘加宽(图1-H)。stage 7阶段为花器官形成期, 此时萼片原基可见(图1-I)。

通过扫描电镜进一步观察到绣球花发育中分

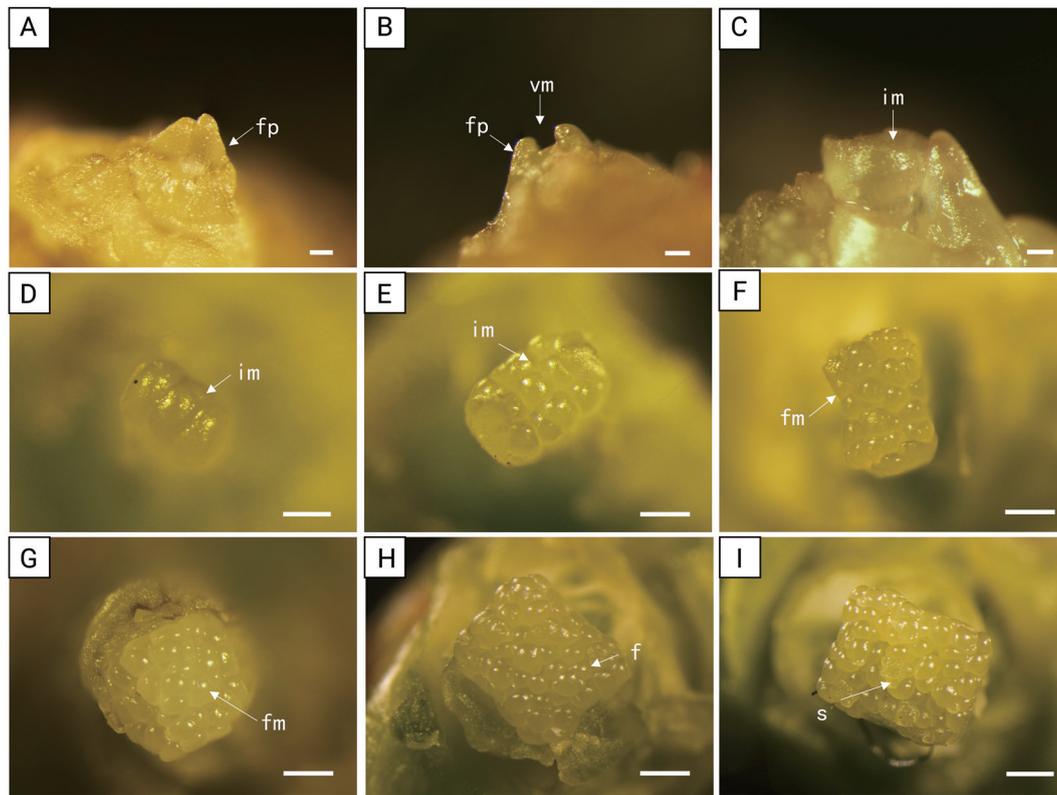


图1 体式显微镜观察绣球‘火红’花芽分化进程

Fig. 1 Flower bud differentiation stages of *H. macrophylla* 'Hot Red' observed with a stereomicroscope

A和B: stage 1; C: stage 2; D: stage 3; E: stage 4; F和G: stage 5; H: stage 6; I: stage 7。图中缩写含义如下, vm (vegetative meristem): 营养分生组织; im (inflorescent meristem): 花序分生组织; fm (floral meristem): 花分生组织; fp (foliar primordia): 叶原基; f (floret): 小花; s (sepal): 萼片; 图2同此。图中比例尺A~C: 100 μ m; D~G: 200 μ m; H和I: 500 μ m。

生组织的分化过程(图2)。随着绣球花芽从营养生长阶段(图2-A)进入花芽分化启动阶段(图2-B), 整个生长点区域开始处于活跃状态, 生长点膨大后中央部分隆起后进入分生组织分化期(图2-C~E)。绣球花序分生组织的分化是一个高度有序的过程, 分生组织主要以倍增因子为3进行重复分裂, 第一次分化形成了3个分生组织(图2-C), 第二次分化由之前形成的3个分生组织通过垂周分裂进一步形成了9个分生组织(图2-D); 此后分化从位于外围的分生组织开始, 中心的分生组织分化晚于外围分生组织, 基于上述规律分化过程不断重复, 使得分生组织数量呈指数增长, 大量分生组织形成(图2-E)。随后进一步分化形成不定数目的小花原基(图2-F), 最终进入花器官形成期(图2-G)。

2.2 花芽分化进程与温度的关系

由图3-A可知, 在10月14日之前, 绣球‘火红’的花芽仍处于未分化阶段(stage 1), 10月14日20%的花芽开始分化, 10月19日60%的花芽进入花芽膨大期(stage 2), 此时期标志着绣球花芽从营养生长向生殖生长转变。11月3日—11月23日花芽开始进入分生组织分化期(stage 3~5), 11月3日进入分生组织分化初期, 11月13日进入分生组织分化中期(stage 4), 11月23日进入分生组织分化末期(stage 5)。11月23日—12月18日花序分生组织持续分化, 进一步分化出小花序原基, 12月18日60%的花芽进入花原基分化期(stage 6); 此后花原基进一步分化为花器官, 于次年1月7日观察到80%的花芽进入花器官形成期(stage 7), 整个分化过程历时80 d。

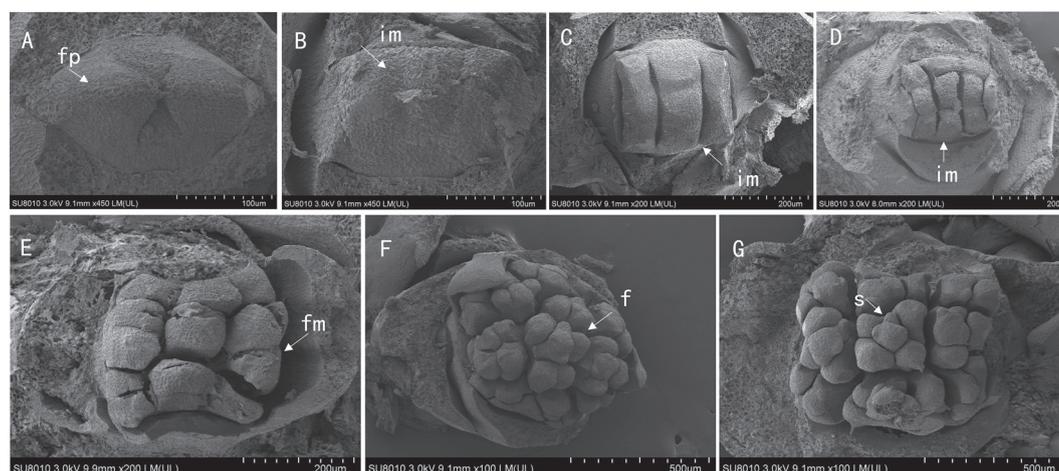


图2 扫描电镜观察绣球‘火红’花芽分化进程

Fig. 2 Flower bud differentiation stages of *H. macrophylla* 'Hot Red' observed with scanning electron microscopy

A: stage 1, 未分化期; B: stage 2, 生长点膨大; C: stage 3, 3个分生组织形成; D: stage 4, 9个分生组织形成; E: stage 5, 大量分生组织形成; F: stage 6, 花原基分化; G: stage 7, 花器官形成, 萼片原基可见。图中比例尺A和B: 100 μm , C~E: 200 μm , F~G: 500 μm 。

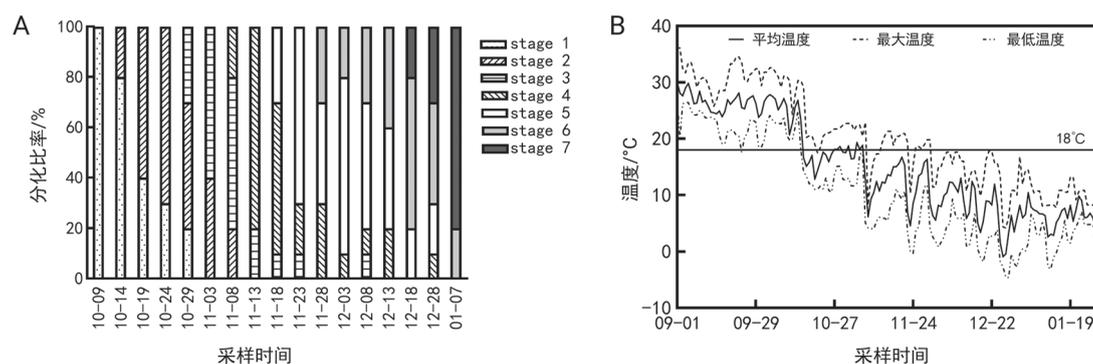


图3 绣球‘火红’花芽分化进程(A)与环境温度(B)

Fig. 3 Flower bud differentiation stages of *H. macrophylla* 'Hot Red' (A) and environment temperature (B)

从2021年9月—2022年1月的平均气温变化可知(图3-B), 2021年9—10月气温较高, 在10月中旬平均温度首次下降到 18°C 左右, 随后温度波动下降, 花芽分化启动; 在11月23日平均温度首次降到 4°C 左右, 经过45 d的低温后最终形成花器官。将绣球进入花器官形成期(stage 7)视作花芽分化完成, 从花芽分化启动进入花芽膨大期(stage 2)开始, 以 18°C 为基温, 计算花芽分化各阶段所需的低温需冷量, 可以得出2021年上海地区绣球‘火红’从花芽分化启动至花器官形成需冷量为 $12\ 887.88^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ (表1)。

2.3 花芽和叶片的植物激素的动态变化

2.3.1 植物激素含量的变化

绣球‘火红’花芽的ABA含量总体呈先上升后下降的趋势, 在11月13日(分生组织分化中期)达到最大值 $6.69\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 随后下降并在一定水平波动, 在12月28日(花原基分化期)达到最低值; 叶片ABA含量表现出相似的趋势, 在11月13日(分生组织分化中期)达到最大值, 在12月18日(花原基分化期)达到最低值 $5.96\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)(图4-A)。

绣球‘火红’花芽的IAA含量随着花芽分化进程的推进, 在 $1.32\sim 1.46\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)范围内波动, 总体

表1 绣球‘火红’不同分化阶段的低温需冷量

Table 1 Chilling requirement of *H. macrophylla* ‘Hot Red’ at different stages of flower bud differentiation

花芽分化进程	日期	日平均温度/°C	需冷量/°C·h ⁻¹
花芽膨大期	10月19日	17.0	180.00
分生组织分化初期	11月3日	16.5	636.00
分生组织分化中期	11月13日	12.3	1 884.00
分生组织分化末期	11月23日	4.6	3 124.80
花原基形成期	12月18日	3.4	7 671.48
花器官形成期	1月7日	7.2	12 887.88

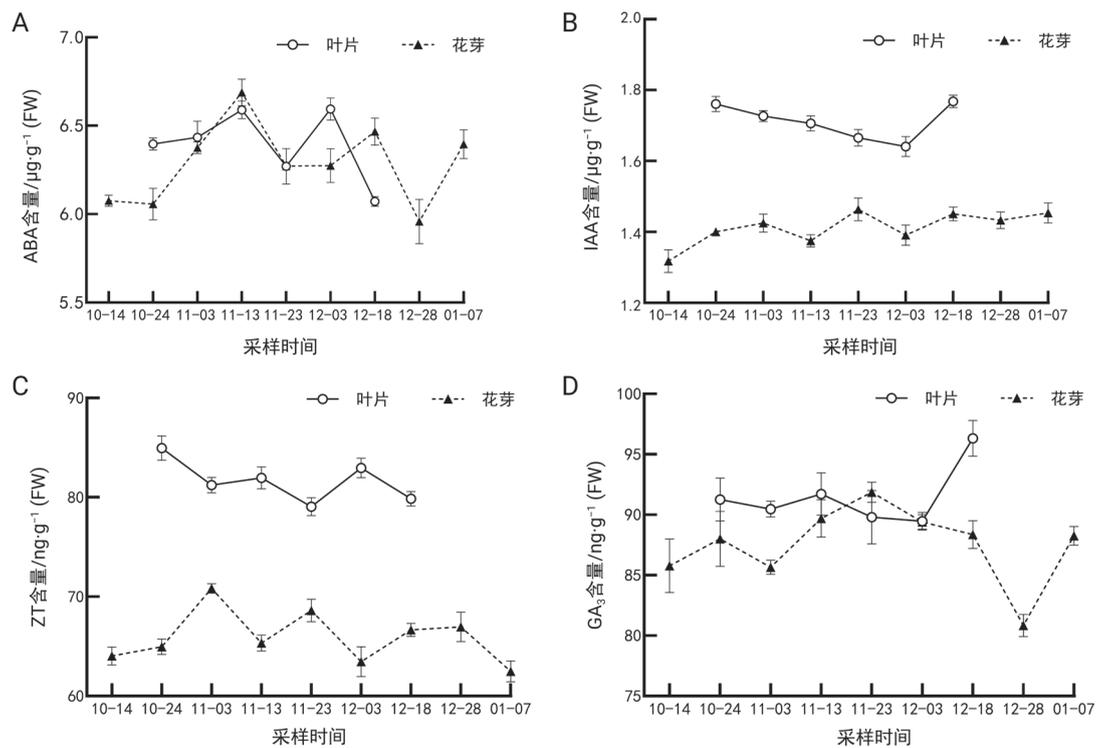


图4 绣球‘火红’花芽分化进程中植物激素含量

Fig. 4 The content of phytohormones of *H. macrophylla* ‘Hot Red’ in flower bud differentiation

呈上升的趋势, 在11月23日(分生组织分化末期)达到最大值; 而叶片IAA含量各时期均高于花芽, 且与花芽变化趋势相反, 总体呈下降的趋势, 在12月3日(分生组织分化末期)达到最低值 $1.64 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)后, 在12月18日(花原基分化期)急剧上升(图4-B)。

绣球‘火红’花芽的ZT含量总体呈先上升后下降的趋势, 在 $64.03\sim 70.85 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)范围内波动, 在分生组织分化期(11月3日—11月23日)上升至最

大值, 并维持在较高浓度水平, 随后呈下降的趋势; 叶片ZT含量各时期均高于花芽, 随着花芽分化进程的推进总体呈下降的趋势(图4-C)。

绣球‘火红’花芽GA₃含量呈“W”形状, 即先降后升, 然后再下降最后又上升, 在11月23日(分生组织分化末期)达到峰值, 在11月3日(分生组织分化初期)和12月28日(花原基分化期)分别出现两个谷底; 叶片GA₃含量变化趋势与IAA含量相似, 总体呈下降的趋势, 在12月3日(分生组织分化末期)达

到最低值 $89.48 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)后, 在12月18日(花原基分化期)急剧上升(图4-D)。

2.3.2 植物激素含量比值的变化

绣球‘火红’花芽和叶片的ABA/GA₃比值在63.05~74.56范围内, 始终高于ABA/IAA、ZT/GA₃、ZT/IAA的比值。在进入分生组织分化期后, 花芽ABA/GA₃比值上升维持在较高水平, 在分生组织分化末期(11月23日)下降至最低值68.28, 其后在花原基分化期和花器官形成期呈上升的趋势。叶片ABA/GA₃同样在分生组织分化末期下降后上升, 但在进入花原基分化期后急剧下降(图5-A)。

绣球‘火红’花芽ABA/IAA的比值表现为先上升后下降的趋势, 在分生组织分化中期(11月13日)达到峰值4.86后下降, 维持在较低水平; 叶片ABA/IAA的比值整体低于花芽, 且变化趋势与ABA/GA₃相似, 呈先升后降的趋势(图5-B)。

绣球‘火红’花芽ZT/GA₃比值的变化规律呈“双峰”模式, 在分生组织分化初期(11月3日)和花原基

分化期(12月28日)达到2个峰值; 叶片ZT/GA₃比值整体高于花芽, 呈先降后升再降的趋势, 在花原基分化期(12月3日)比值达到峰值0.93 (图5-C)。

绣球‘火红’花芽ZT/IAA比值在各比值中最小, 花芽比值在分生组织分化初期(11月3日)达到峰值0.047, 其后呈下降的趋势; 而叶片ZT/IAA比值的变化趋势与ZT/GA₃相似, 同样在花原基分化期(12月3日)达到峰值0.051 (图5-D)。

2.4 叶片营养物质含量的动态变化

绣球‘火红’花芽分化启动后, 从不同分化阶段叶片碳水化合物的含量变化可以看出(图6-A), 淀粉含量变化较为平稳, 在分生组织分化末期(11月23日)显著下降, 达到最低值 $32.61 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)。可溶性糖含量随分化时期的推进呈先增再降的趋势, 最高值出现在分生组织分化中期, 为 $107.26 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)。由图6-B可知, 可溶性蛋白含量随花芽分化进程的推进, 总体呈升—降—升的趋势, 在分生组织分化中期显著下降至最低值 $3.88 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 在分

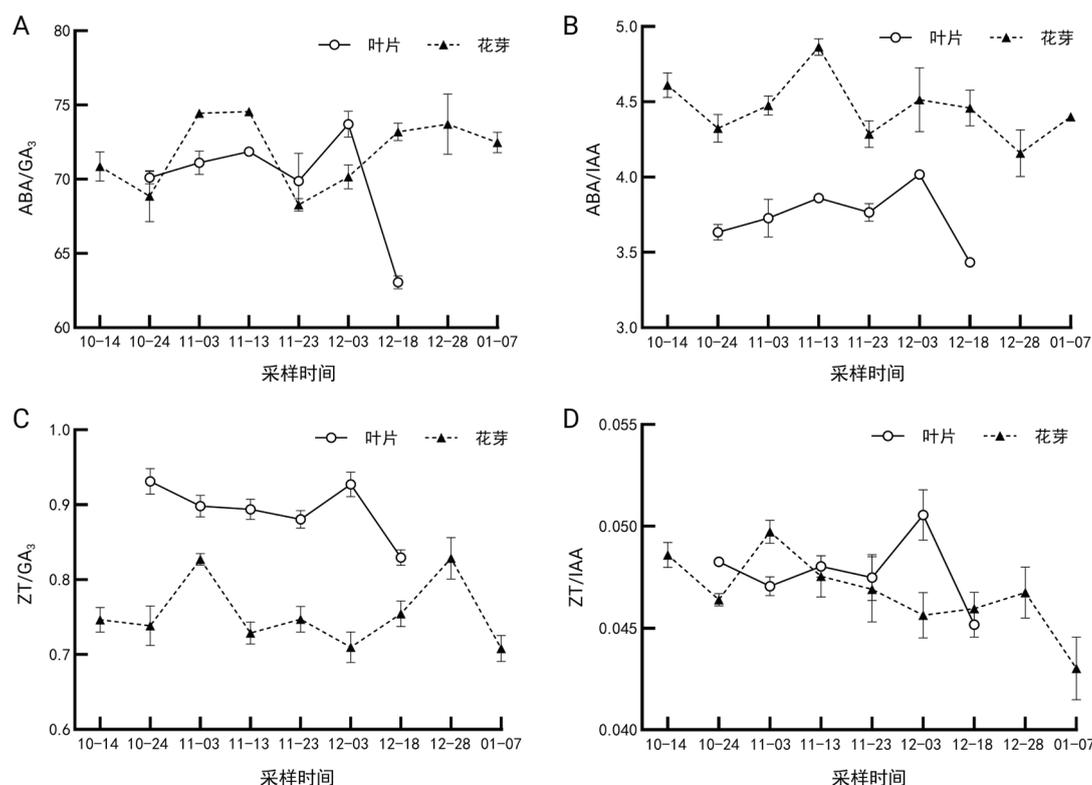


图5 绣球‘火红’花芽分化进程中植物激素含量比值

Fig. 5 The ratio of phytohormones contents of *H. macrophylla* ‘Hot Red’ in flower bud differentiation

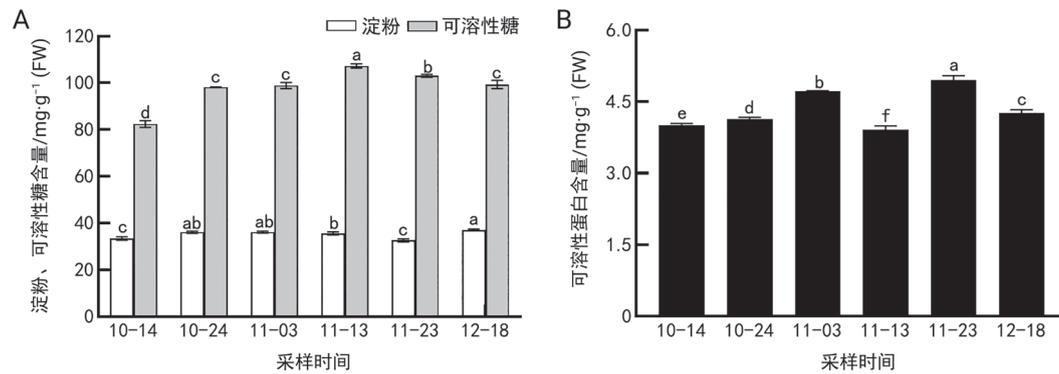


图6 绣球‘火红’花芽分化进程中叶片淀粉、可溶性糖(A)和可溶性蛋白(B)含量
Fig. 6 The content of starch, soluble sugar (A) and soluble protein (B) in leaves of *H. macrophylla* ‘Hot Red’ in flower bud differentiation

图中不同小写字母表示在0.05水平具有统计学差异。

生组织分化末期上升至最大值 $4.96 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW)。

3 讨论

3.1 绣球‘火红’花芽分化进程与低温需冷量

花芽形态建成是非常复杂的过程,其形态分化规律是植物自身遗传性和外界环境共同作用的结果(张诗艳等2021)。植物花芽形态分化过程划分没有明确的标准,一般根据各部分原基出现来划分,相邻分化阶段存在一定重叠现象(乔永刚等2020)。Galopin等(2008)系统研究了绣球‘Hermann Diemann’花序建成过程,将花芽分化进程划分为7个物候时期(stage 1~7),认为大量分生组织形成阶段(stage 5)标志着小花序分枝形成,此时放入冷库可减少花序进一步分枝,使得株型紧凑,提高成花品质;而stage 7阶段标志着花器官形成,此时进行加温催花可防止因低温春化时间不足导致花畸形,或因置于冷库时间过长导致花芽腐烂。本研究参考Galopin等(2008)的研究将自然环境下‘火红’花芽分化进程划分为7个阶段,并进一步明确了各阶段发生的时间,发现2021年上海地区自然环境下绣球‘火红’花芽分化启动时间为10月19日,花器官形成期为次年1月7日,整个过程历时80 d。张国兵和罗玉兰(2019)将绣球‘经典红’的花芽分化进程划分为营养生长期、花芽膨大期、分生组织分化期、花原基形成期及花器官形成期5个阶段;本研究进一步对分生组织分化期进行细分,确定了不同分生

组织分化时期(stage 3~5)的花芽形态特征和分化进程,发现绣球花序分生组织主要以倍增因子为3进行高度有序的重复分裂,且不同分化阶段间隔较短,并与花原基分化期在时间上存在重叠现象。

适宜的温度是花芽分化启动和花器官发育的重要因素。Litlere和Strømme (1975)的研究表明温度对绣球花芽分化影响显著,温度超过 24°C 促进绣球营养生长,而 $15\sim 18^{\circ}\text{C}$ 的低温可以诱导花芽分化,促使绣球从营养生长向生殖生长转变;Bailey和Weiler (1984)的研究表明,绣球在低温诱导之后,需要在 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ 的冷库放置6~8周模拟低温春化打破休眠。本研究中‘火红’花芽分化启动时间为10月中旬,根据上海市气象局报道,2021年9—10月上海全市平均气温为 23.5°C ,比常年同期高 2.2°C ,推测这可能导致了花芽分化启动时间的推迟。绣球的花芽分化需要一定的低温量,满足需冷量是实现促成栽培的关键。通过计算上海地区自然环境下绣球‘火红’的低温需冷量可以发现,从分生组织大量分化(stage 5)到花器官形成期(stage 7)的需冷量为 $9\ 763.08^{\circ}\text{C} \cdot \text{h}^{-1}$,即在观测到花芽分化进入stage 5阶段后,在 4°C 冷库放置4周左右可打破休眠进行催花。但Nordli等(2011)发现绣球在花芽分化较早阶段(stage 2)进入冷库后成花过程并未中止,最终仍能形成花序,推测绣球花芽可能在低温春化和早期促花阶段能够持续分化,在更早的分化阶段满足低温需冷量即可开花。因此可进一步研究

不同区域、不同品种的绣球在成花转变过程中低温需冷量,在缩短栽培时间的同时提高成花品质。

3.2 绣球‘火红’不同分化时期植物激素的变化

植物花芽分化分为生理分化期和形态分化期,受多种激素调控,是成花诱导的重要手段,本研究中绣球‘火红’在(10月14日)处于生理分化期,之后即处于形态分化阶段。ABA是一种促花的植物激素,主要合成于处于休眠状态和将要脱落的器官中。García-Pallas等(2001)在油桃(*Prunus persica* var. *nectarina*)花芽分化的研究中发现,生理分化期ABA含量逐渐上升,进入形态分化期后,ABA含量逐渐下降,在分化末期再上升;Goldschmidt(1984)认为高含量的ABA在花原基分化阶段起促进作用。本研究也发现了相似的变化趋势,绣球‘火红’花芽ABA含量在分生组织分化中期和花原基分化期显著上升,出现两个峰值,表明高含量的ABA促进了绣球分生组织和花原基分化,有利于花芽从生理分化向形态分化转变;而叶片ABA含量的变化趋势与花芽基本一致,时间上更提前,可能是由于ABA合成部位是叶片,之后转运到花芽,出现了时间延迟。

IAA对成花的抑促作用存在争议。王玉华等(2002)对大樱桃(*Prunus avium*)研究发现,在花芽形态分化前花芽IAA含量处于较低水平,进入形态分化阶段后,花芽含量有所上升,但依然远低于叶片含量,推测生长素是大樱桃成花时的抑制因子;绣球‘火红’表现了相似的变化趋势,花芽IAA含量在生理分化期含量较低(10月14日),其后呈上升趋势,且花芽IAA含量始终低于叶片,表明IAA对绣球花芽分化起抑制作用。

ZT对花芽分化起促进作用,能够打破生长点的顶端优势,促进顶端细胞分裂为侧分生组织(王海波等2014)。绣球‘火红’花芽的ZT含量在分生组织分化期维持在高浓度的水平,符合该阶段分生组织大量分裂的特点,表明ZT能促进绣球分生组织分化的进行,促进成花。此外绣球叶片ZT含量整体呈下降趋势,可能原因是花芽分化对ZT消耗较多,叶片可能将ZT和其他能量物质转运到芽体,延缓附近叶片的细胞分裂进程。

GA₃是主要的成花抑制激素,但在生理分化期向形态分化期转变的关键期,不同植物GA₃含量和

变化趋势不同(杜立言等2021)。本研究发现‘火红’花芽GA₃含量在分生组织分化初期和花原基分化期迅速下降,处于较低水平,表明低水平的GA₃有利于绣球花芽分生组织分化启动和花原基分化形成;而花器官形成期花芽GA₃含量又迅速上升,这可能与促进花序主轴的伸长发育有关(Yahyaoui等1998)。

植物激素对花芽分化调控十分复杂,并不取决于单一激素,还需考虑多种激素之间的协同与拮抗作用,依赖于不同激素的动态平衡。本研究结果表明绣球花芽ABA/GA₃、ABA/IAA、ZT/GA₃的比值在分生组织分化后整体呈波动上升的趋势,而ZT/IAA的比值在分生组织分化初期(11月3日)升高后整体呈下降的趋势,维持在较低的水平;这与王海波等(2014)对设施葡萄(*Vitis vinifera*)新梢植物激素的研究相似,在分化初期较高的ZT/IAA促进了葡萄卷须原始体的形成,有利于花芽分化的启动,之后保持较低且稳定的ZT/IAA是良好成花的前提,这在馥郁滇丁香(*Luculia gratissima*, 万友名等2019)、青海云杉(*Picea crassifolia*, 胡盼等2012)中也得到了印证。此外,在绣球花芽分化进程中花芽和叶片ABA/GA₃、ABA/IAA的比值较高,变化趋势相似,且在分生组织分化期明显上升,维持在较高水平,可见较高的ABA/GA₃、ABA/IAA比值有利于绣球分生组织分化,保证花序分枝的顺利形成。

3.3 绣球‘火红’不同分化时期营养物质含量的变化

碳水化合物主要为可溶性糖和淀粉构成的糖类物质,是重要的能源物质(何文广等2018)。绣球‘火红’叶片中可溶性糖含量随花芽分化的进程整体上先升后降,在分生组织分化中期达到最大值后开始下降,这与油桐(*Vernicia fordii*, 李建安等2011)、番红花(*Crocus sativus*, 张衡锋等2018)具有相似的变化规律,即在花芽分化前期大量积累糖类物质,保证花芽分化的顺利进行;随着花芽分化的推进,在分化后期消耗能量更多,叶片中的可溶性糖向花芽运输,导致含量出现下降。

淀粉作为贮藏性的营养物质,在植物体内必须通过水解转化为可溶性糖才能被植物直接利用。绣球‘火红’花芽分化过程中,淀粉含量的变化趋势呈‘单谷’模式,即在花芽分化前期变化平稳,在分

生组织分化末期急剧下降至最低值, 随后又上升, 这与毛棉杜鹃(*Rhododendron moulmianense*)花芽分化过程中淀粉含量变化规律类似(康美丽2009)。这可能由于绣球在分生组织分化末期需要消耗大量的可溶性糖, 但此时叶片中可溶性糖不足以满足花芽分化所需, 因此消耗了部分淀粉转化为可溶性糖作为能量补充; 而当可溶性糖等可直接利用的能量物质可以满足花芽分化所需时, 淀粉含量则维持动态平衡状态(罗雪梦等2021)。

可溶性蛋白是花器官形态建成的物质基础, 是花芽分化过程中必需的结构物质和营养物质(汪晓谦等2011)。研究表明, 绣球‘火红’叶片在花芽分化过程中, 可溶性蛋白含量呈升—降—升的趋势, 最低值出现在分生组织分化中期, 这可能由于此时花芽分生组织分化开始加快, 细胞分裂大量发生, 消耗叶片前期积累的可溶性蛋白, 并向花芽周围运输积累营养物质。孟畅等(2021)也发现皱叶膏桐(*Jatropha nigroviensrugosus* ‘Yang’)在花芽分化过程中, 叶片可溶性蛋白同样表现出升—降—升的变化趋势, 最低值出现在小花分化期, 认为该时期消耗了大量可溶性蛋白来保证花芽分化的顺利进行。

综上所述, 适宜的温度是花芽分化启动和花器官发育的重要因素, 结合花芽分化形态观察结果和低温需冷量, 可为精准把握绣球花期调控的关键时间点提供参考。植物激素和营养物质在绣球花芽分化过程中具有重要的调控作用, 分生组织分化期为其变化的关键时期。下一步可研究不同区域、不同品种的绣球在成花转变过程中低温需冷量, 并结合植物激素和营养物质调控绣球成花, 在缩短栽培时间的同时提高成花品质。

参考文献(References)

- Anderson N, Weiland J, Pharis J, et al (2009). Comparative forcing of *Hydrangea macrophylla* ‘Bailer’ as a florist’s hydrangea. *Sci Hortic*, 122: 221–226
- Bailey DA, Weiler TC (1984). Control of floral initiation in florists’ hydrangea. *J Am Soc Hortic Sci*, 109: 785–791
- Cang J, Zhao HJ (2013). *Experimental Course of Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press, 85–153 (in Chinese) [苍晶, 赵会杰(2013). 植物生理学实验教程. 北京: 高等教育出版社, 85–153]
- Chen PA, Roan SF, Lee CL, et al (2016). Temperature model of litchi flowering – from induction to anthesis. *Sci Hortic*, 205: 106–111
- Du LY, Yu JL, Zhou CL (2021). Research progress in the effect of endogenous hormones on flower bud differentiation of woody plants. *J Qingdao Agric Univ (Nat Sci)*, 38: 79–84 (in Chinese with English abstract) [杜立言, 俞洁蕾, 周春玲(2021). 植物激素对木本植物花芽分化影响研究进展. 青岛农业大学学报(自然科学版), 38: 79–84]
- Galopin G, Codarin S, Viemont JD, et al (2008). Architectural development of inflorescence in *Hydrangea macrophylla* cv. Hermann Dienemann. *HortScience*, 43: 361–365
- Galopin G, Mauget JC, Morel P (2010). Morphogenetic analysis of the phenotypic variability of the architectural unit of *Hydrangea macrophylla*. *Ann For Sci*, 67: 309
- García-Pallas I, Val J, Blanco A (2001). The inhibition of flower bud differentiation in ‘Crimson Gold’ nectarine with GA₃ as an alternative to hand thinning. *Sci Hortic*, 90: 265–278
- Goldschmidt EE (1984). Endogenous abscisic acid and 2-trans-abscisic acid in alternate bearing ‘Wilking’ mandarin trees. *Plant Growth Regul*, 2: 9–13
- He WG, Wang YD, Chen YC, et al (2018). Flower bud anatomical characteristics and carbon and nitrogen nutrition changes of *Litsea cubeba* in female flower bud differentiation. *For Res*, 31: 154–160 (in Chinese with English abstract) [何文广, 汪阳东, 陈益存等(2018). 山鸡椒雌花花芽分化形态特征及碳氮营养变化. 林业科学研究, 31: 154–160]
- Hu P, Wang C, Wang JH, et al (2012). Content changes of endogenous hormones during flower bud differentiation of *Picea crassifolia*. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 32: 540–545 (in Chinese with English abstract) [胡盼, 王川, 王军辉等(2012). 青海云杉花芽分化期植物激素含量的变化特征. 西北植物学报, 32 (3): 540–545]
- Jiang ZF (2010). *Dwarfing cultivation and the effect of temperature and light regulation on the flowering of Hydrangea* (dissertation). Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [江宗藩(2010). 八仙花矮化栽培和温光调节对成花影响(学位论文). 武汉: 华中农业大学]
- Kang ML (2009). Effect of girdling on change of nutrition and hormone in leaves of *Rhododendron moulmianense* during flower bud differentiation (dissertation). Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University (in Chinese with English abstract) [康美丽(2009). 环剥对毛棉杜鹃花芽分化过程中叶片养分及激素变化的影响(学位论文). 呼和浩特: 内蒙古农业大学]
- Kitamura Y, Hattori T, Mogami K, et al (2018). Selection of

- hydrangea (*Hydrangea* spp.) cultivars with high potential for unseasonable flower bud production in Japan. *Horticult J*, 87: 532–540
- Li JA, Sun Y, Gao AL, et al (2011). Physiological nutrition and hormone variations in *Vernicia fordii* during flower bud differentiation. *J Cent South Univ For Technol*, 31: 34–37 (in Chinese with English abstract) [李建安, 孙颖, 郜爱玲等(2011). 油桐花芽分化期营养与激素生理变化研究. *中南林业科技大学学报*, 31: 34–37]
- Litlere B, Strømme E (1975). The influence of temperature, daylength and light intensity on flowering in *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. *Acta Hortic*, 51: 285–298
- Liu PX (2017). Studies on the relationship between flowering and chilling accumulation and flowering regulation in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) (dissertation). Guangzhou: South China Agricultural University (in Chinese with English abstract) [刘鹏旭(2017). 荔枝成花与低温积累量的关系及调控研究(学位论文). 广州: 华南农业大学]
- Luo XM, Wang XM, Zeng HJ, et al (2021). Effects of pruning measures on endogenous hormones, carbon and nitrogen nutrition in flower buds of purple-leaf *Lagerstroemia indica*. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 41: 1876–1883 (in Chinese with English abstract) [罗雪梦, 王晓明, 曾慧杰等(2021). 修剪措施对紫叶紫薇花蕾中植物激素和碳氮营养含量的影响. *西北植物学报*, 41: 1876–1883]
- Meng C, Zhao Y, He H, et al (2021). Changes of morphological and physiological indexes during flowering of *Jatropha nigroviensrugosus* cv Yang. *Mol Plant Breed*, 1–17 (in Chinese with English abstract) [孟畅, 赵杨, 何花等(2021). 皱叶膏桐开花过程的形态和生理指标变化. *分子植物育种*, 1–17] (2021-06-03). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210602.1727.016.html>
- Nordli EF, Strøm M, Torre S (2011). Temperature and photoperiod control of morphology and flowering time in two greenhouse grown *Hydrangea macrophylla* cultivars. *Sci Hortic*, 127: 372–377
- Qiao YG, Cao YP, Jia MJ, et al (2020). Research on flower buds growth development and pollination habits of *Forsythia suspensa* heterostyly. *Acta Hortic Sin*, 47: 699–707 (in Chinese with English abstract) [乔永刚, 曹亚萍, 贾孟君等(2020). 连翘异型花柱植株花芽生长发育与传粉习性研究. *园艺学报*, 47: 699–707]
- Wan YM (2019). Mechanism on photoperiodic control of flowering in *Luculia gratissima* ‘Xiangfei’ (dissertation). Beijing: Chinese Academy of Forestry (in Chinese with English abstract) [万友名(2019). 馥郁滇丁香品种‘香妃’成花的光周期调控机制(学位论文). 北京: 中国林业科学研究院]
- Wan YM, Ma H, Liu XF, et al (2019). Changes of key endogenous substances during flowering process in *Luculia gratissima* ‘Xiangfei’. *For Res*, 32: 144–150 (in Chinese with English abstract) [万友名, 马宏, 刘雄芳等(2019). 馥郁滇丁香‘香妃’成花过程的主要内源物质变化特点. *林业科学研究*, 32: 144–150]
- Wang HB, Zhao JQ, Wang XD, et al (2014). The influence of changes of endogenous hormones in shoot on the grapes flower bud differentiation in greenhouse. *Sci Agric Sin*, 47: 4695–4705 (in Chinese with English abstract) [王海波, 赵君全, 王孝娣等(2014). 新梢内源激素变化对设施葡萄花芽孕育的影响. *中国农业科学*, 47: 4695–4705]
- Wang XQ, Zhang YL, Niu LX, et al (2011). Changes of carbohydrate and protein contents in bulbs of *Tulipa gesneriana* L. during flower bud differentiation. *Plant Physiol J*, 47: 379–384 (in Chinese with English abstract) [汪晓谦, 张延龙, 牛立新等(2011). 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. *植物生理学报*, 47: 379–384]
- Wang YH, Fan CH, Shen X, et al (2002). Changes in endogenous hormones during the flower bud differentiation of sweet cherry. *Acta Agric Boreali-Occident Sin*, 11: 64–67 (in Chinese with English abstract) [王玉华, 范崇辉, 沈向等(2002). 大樱桃花芽分化期植物激素含量的变化. *西北农业学报*, 11: 64–67]
- Yahyaoui T, Barbier M, Bessis R (1998). *In vitro* morphogenesis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) inflorescence primordia, cvs Pinot Noir and Chardonnay. *Aust J Grape Wine R*, 4: 111–120
- Zhang GB, Luo YL (2019). Architectural development of inflorescence and flowering mechanism of *Hydrangea macrophylla*. *Chin Agric Sci Bull*, 35: 72–76 (in Chinese with English abstract) [张国兵, 罗玉兰(2019). 八仙花花芽分化形态观察及成花机理研究. *中国农学通报*, 35: 72–76]
- Zhang HF, Wei QC, Tang GG (2018). Changes in the endogenous hormones and carbohydrate contents in *Crocus sativus* L. during floral bud differentiation. *J Yunnan Agric Univ (Nat Sci)*, 33 (4): 684–689 (in Chinese with English abstract) [张衡锋, 韦庆翠, 汤庚国(2018). 番红花花芽分化过程中植物激素和糖含量的变化. *云南农业大学学报(自然科学)*, 33 (4): 684–689]
- Zhang SY, Zhang MM, Zhang T, et al (2021). Flower bud morphological differentiation and physiological biochemistry changes of *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 41 (8): 1347–1354 (in Chinese with English abstract) [张诗艳, 张毛毛, 张涛等(2021). 海南蒲桃花芽形态分化过程观测及其生理生化变化特征. *西北植物学报*, 41 (8): 1347–1354]
- Zhao YF, Dai JL, Gao SP, et al (2018). Flower bud differentiation process and its morphology and anatomical structure

in two types of stigma of *Plumbago auriculata*. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed), 42 (6): 203–208 (in Chinese with English abstract) [赵云芳, 代佳灵, 高素萍等(2018). 蓝花丹花芽分化外部形态与解剖结构的关系. 南京林业大学学报(自然科学版), 42 (6): 203–208]

Zhou YL (2012). Floral development and chilling requirements of *Paeonia lactiflora* cultivars (dissertation). Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [周逸龄(2012). 芍药花芽分化与需冷量研究(学位论文). 北京: 北京林业大学]