

# 冷冻贮藏对菊花顶锥嵌合结构的影响

师素恩 译

(河北省农科院蔬菜花卉研究所)

**摘要** 分离的菊花周缘嵌合品种 (“Apricot Marble”) 的茎尖用冷冻保护剂保护和冷冻。从常规茎尖再生而来的植株 99% 花色正常。相反, 由冷冻茎尖再生的植株 70% 开粉色花, 代替了原来的杏黄色花。粉色的花瓣表皮中含有花青苷, 但表皮和叶肉中都不含类胡萝卜素。这表明由解冻茎尖而来的许多芽的起源不定, 是由茎尖的表皮而来的。

## 引言

成功的茎尖冷藏包括解冻后的茎尖具有再生芽的能力和遗传组成的保留。我们以前报道把菊花茎尖浸入液态氮 ( $\text{LN}_2$ ) 以前慢慢冷却到  $40^\circ\text{C}$  仍能保持高的存活率。显微观察由解冻茎尖再生的芽不能揭示再生芽的起源。一些菊花品种的顶锥具有的嵌合结构常被组织培养和微繁殖的破坏。本研究中, 用具有周缘嵌合的品种 “Apricot Marble” 来研究从解冻茎尖而来的芽的起源。“Apricot Marble” 顶锥的表皮 ( $L_1$ ) 中含有花青苷, 在叶肉 ( $L_2$ ) 中而不是在表皮中含有类胡萝卜素。如果 “Apricot Marble” 的嵌合结构在冷藏过程中破坏, 那么, 再生株的花色就要变化。本研究的目的在于评价典型的菊花冷藏技术的效应。

## 材料和方法

菊花母株种植在温室中, 夜晚 22:00~02:00 打破黑暗, 由母株分离茎尖培养在附加 6BA0.1 或 1.0mg/l、NAA1.0mg/l 的培养基上, 蔗糖 20g/l, 琼脂 8g/l。培养物在  $25^\circ\text{C}$  照光条件下培养 60 天, 白炽灯照光 16h/d, 光强  $19\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 。

用于冷藏的茎尖在附加 5% (V/V) DMSO (二甲亚砜) 的茎尖培养基上预培养 2 天, 然后放于 0.5ml 的 40 (总 106) Northern Horticulture

塑料管内, 加 0.5ml 含 10% (V/V) DMSO 和 3% (W/V) 葡萄糖的冷冻保护剂, 在  $0^\circ\text{C}$  冷冻保护 1 小时后, 把塑料管以  $0.2^\circ\text{C}/\text{分}$  的速率从  $0^\circ\text{C}$  降到  $-40^\circ\text{C}$ , 然后浸入液氮中 15 分钟以后, 迅速解冻并用 CPW 溶液冲洗 2 次, 再放回到茎尖培养基中培养 90 天。这一过程的详细情况可在 Fakai 等 (1991) 的资料中看到。

本试验的三个处理: (1) 由常规茎尖诱导的植株 (未冷冻)。 (2) 由冷冻保护剂保护的 (如上述方法) 茎尖诱导的植株, 培养在培养基中, 未冷冻 (保护)。 (3) 由冷冻贮藏茎尖而来的植株 (冷冻)。所有植株均按以前所述方法驯化 (Fukai 等 1991), 种植在类似日本初夏条件的温室中, 两周以后打尖让两个侧芽发育开花。花的颜色用色彩分辨仪测定。花色按 CIE 分级系统的 L、a 和 b 记录, 这里 L 描述光质, a 代表色彩在绿色 (-) 到红色 (+) 轴, b 代表色彩在兰色 (-) 到黄色 (+) 轴, L、a 和 b 的值以 CIE 标准系统的 x、y、z 为基础 ( $L=10y^{1/2}$ ,  $a=17.5(1.02x-y)/y^{1/2}$ ,  $b=7.0(y-0.847z)/y^{1/2}$ )。色素的分布通过检查固定在 5% 蔗糖液中的新鲜花瓣的徒手切片来确定。这些切片放在显微载玻片上检查。

## 结果和讨论

代表三个群体的植株生长一致, 在 11 月份的第一

周开了花,所观察的花期、花形、叶形和株高都没有变化。

由培养在附加 0.1mg/IBA 的培养基上未冷冻的茎尖而来的植株的花色除一株在一个分枝上有一个粉色花外都是原品种的颜色。从培养在附加 1.0mg/IBA 培养基上的未冷冻茎尖而来的 74 株中只有 2 株有粉色花(表 1)。这些结果表明常规的茎尖培养过程不影响菊花的嵌合结构。

106 株来自冷冻保护的植株中只有 10 株的花色改变,这表明嵌合结构在冷冻保护过程中保留下来了。Fukai 和 O. 报道冷冻保护导致再生植株中不正常的玻璃叶,本研究中观察到了类似的结果。这些表明冷冻保护剂影响形态发生但不打破茎尖的嵌合结构。

来自冷冻贮藏茎尖的植株大约 70% 花色改变,在含 0.1 或 1.0mg/IBA 的培养基上粉花的比率分别为 61.7% 和 73.7%。这些结果表明母株的嵌合结构在再生植株中只保留 30%,那些芽可能来自茎尖的整个顶锥或最初的侧芽。这些结果也表明 70% 的再生芽的起源是不定的,说明茎尖在冷冻和解决过程中受到了某些伤害,这就导致了茎尖的嵌合结构在芽再生过程中的破坏。

来自周缘嵌合菊花品种“Apricot Marble”的未冷冻、冷冻保护和冷冻茎尖的植株的花色变化表

茎尖来源	再生培养基中 BA 的浓度 (mg/l)	植 株 数 目		
		杏黄色 (%)	粉色 (%)	总数
未冷冻	0.1	86 (100)	0 (0)	86
	1.0	72 (97.3)	2 (2.7)	74
冷冻保护	0.1	36 (78.8)	5 (12.2)	41
	1.0	60 (92.3)	5 (7.7)	65
冷冻	0.1	18 (38.3)	29 (61.7)	47
	1.0	15 (26.3)	42 (73.7)	57

冷冻植株杏黄花和粉红花的平均 L<sub>1</sub>a 和 b 值分别是 67.0、14.0、15.9 和 65.3、22.1、-7.2,这些值与对“Apricot Marble”和变种“Pink Marble”的花色分析一致。“Apricot Marble”在 L<sub>1</sub> 中有花青苷,在 L<sub>2</sub> 而不是 L<sub>1</sub> 中有类胡萝卜素;“Pink Marble”在 L<sub>1</sub> 中有花青苷,但在 L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 中均无类胡萝卜素。显微观察也揭示了冷冻植株的粉红花与“Pink Marble”具有同样的花青苷和类胡萝卜素的嵌合分布。这些结果表明来自“Apricot Marble”开粉花的冷冻植株起源于茎尖的 L<sub>1</sub> 层。

Bush 等指出,嵌合的菊花品种“Lndianapolis”在从愈伤组织培养而来的植株中 L<sub>1</sub> 代替了 L<sub>2</sub> 层,且 2/3 的植株是来自多芽培养。我们的结果表明在开粉花

## 温室茄子僵果成因及解决办法

总结三年试验研究的结果证明,僵果形成的主要原因是受环境条件的影响。

1. 育苗的环境条件差,株距小,花的分化发育时的营养状况不良,高温高湿,光照不好,导致以后开花不良,花柄以开花时粗的能结果,细柄,花柱短小,即使激素处理,也会造成落花或形成僵果。所以认为不是定植后寒害造成。2. 定植后缓苗不好,土质干燥,浇水怕降地温,多肥加低温条件,果实难长开,形成僵果。3. 茄子不耐低温,低温期开花座果困难,或定植时遇不适宜茄子花粉发芽发育的气温,造成落花或形成不发育的单性结实果。花粉发芽在适温期进行以后不能进行,花粉管的伸长,低温期间很慢,以后得到适温也不可能再急速进行生长。4. 正常开花(长柱花)遇骤冷骤热的天气;或白天高、夜间低的温度条件也易形成僵果,花粉管的伸长时慢时快达不到受精目的。

解决办法:1. 选择向光、保温的地方育苗,选用适宜的株距(3 寸×3 寸)分苗,采用地热线,扣小棚等增温保温措施,保证花芽分化的正常进行。2. 定植后要通过地膜复盖、扣小棚、上铺帘等多层复盖,使棚内达到适宜生长的温度。蹲苗期不要太长,及时浇开花水(但不能带肥),不使棚内土质、气候干燥诱发落花。3. 施足基肥,勤施适肥、增施磷、钾肥使植株生长健壮,果实加快发育,及时整枝打叶摘心增加株间通风透光条件,提高光合强度使养分集中供果。4. 根据天气变化,勤放风,勤关风口,使棚内温度保持相对稳定,波动不要太大,如果 5 月份天气变化,也要加盖蒲席。5. 开花前 2~3 天进行沾花,用 24~25 (10<sup>-6</sup>) 涂抹花柄,试验证明,激素处理是解决僵果的有效方法。(张瑞芳 包头市农科所 内蒙古包头麻池 邮编:014013)

的再生植株中或者是只有 L<sub>1</sub> 存活,或者是在茎尖中 L<sub>1</sub> 层比其他存活的任何组织都具有更强的再生能力。

总之,我们已证明目前的冷冻处理程序不能保存菊花的嵌合结构,许多来自解冻茎尖的芽在起源上不定,这些不定芽来自茎尖的表皮。这些发现提示了当冷冻菊花时再生植株中的体细胞无性系变异应加以考虑。(参考文献 8 篇略)译自《Scientia Horticulturae》57 (1994) 347—351