

仙客来无性繁殖体系建立中不定芽分化能力的数量性分析

曲复宁¹, 由翠荣¹, 官雪琴¹, 王云山², 康黎芳²

(1. 烟台大学生物化学系, 264005; 2 山西省农科院园艺研究所, 030031)

摘要:通过对仙客来的“胜利女神”、“大红”、“深红”等品种实生种苗单株微繁体系试管苗连续继代分化能力的数量性分析, 认为, 6-BA 的浓度是影响试管苗连续分化能力的主要因素, 品种之间对激素的敏感性有着显著的差异, 胜利女神品种单株间的分化能力有着显著的不同。

关键词: 仙客来; 单株微繁体系; 芽苗不定芽分化能力; 6-BA; 数量性分析

中图分类号: S682.2⁺62, S603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2002)05-0062-02

仙客来是目前我国北方花卉产业的重要种类之一, 目前所有的仙客来栽培品种均来自 *Cyclamen persicum* Mill. 因用种子繁殖的原因, 所培育的优良品种其后代分离严重, 优良性状很难保持, 特别观赏价值越高的品种种子生产越困难, 这成为制约仙客来商品化生产和经济效益的主要因素。因此, 通过组织培养建立无性繁殖体系, 保持优良品种的优秀性状, 是当前仙客来种苗产业应该解决的问题。

日本自 80 年代初即开始了仙客来的组织培养的研究, 经过 20 年的工作, 近期有产业化育苗成功的报道, 美国、德国和约旦等国也先后报道了对仙客来进行组织培养无性繁殖的研究。我国先后有侯喜林、张敦方等进行过不同侧面的研究。本研究旨在从产业化的角度, 探索优秀仙客来品种组培育苗的成熟可行的技术路线。因此, 在成功筛选出仙客来不同品种适宜的芽分化培养基的基础上^[1], 对不同品种连续继代分化的能力进行了追踪试验, 通过分析不同因素对不定芽分化的能力和稳定性的影响, 制定最佳的培养方案, 这是无性繁殖体系建立, 进行微繁的重要环节。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料取仙客来(*Cyclamen persicum* Mill)“胜利女神”、“大红”、“深红”三个品种的实生种子。

1.2 方法

将种子用 0.1% HgCl₂ 灭菌, 无菌水冲洗后, 播于 1/2MS 无激素培养基上暗培养萌发。40 d(天)后当种苗叶柄长至 8 cm~10 cm(厘米)时, 去掉种苗根系, 将叶柄切段为 5 mm(毫米)长, 接种到初分化培养基上, 暗培养 50 d(天)后采用 1/2MS+6-BA2、1.0、0.5、0.3 mg/L 的浓度, 附加 KT 或否, 附加 NAA 或否等几个配方进行了连续十代的继代培养, 记录各种配方对不同品种的连续继代分化能力, 以“胜利女神”和“深红”两个品种接种株数大于 30 株的单株系列选取 15 株为统计样本, 对单株间分化能力是否有差异进行了统计分析。



第一作者简介: 曲复宁, 女, 1959 年出生, 副教授, 现从事植物细胞和组织培养的教学和研究工作。“仙客来组培快繁产业化育苗关键技术的研究”是山东省科技厅 2001 年科技攻关资助项目(012010121)。

收稿日期: 2002-05-28

2 结果

2.1 激素种类和浓度与试管苗连续继代分化能力

表 1 为不同激素及水平的培养基上“胜利女神”品种的试管植株从第二次继代到第六次继代的增殖倍数的调查数据。通过方差分析表明, 试管植株的分化能力主要受激素水平的影响, F 值为 6.9390*(F_α0.01=4.46)。其差异显著性测验表明, 在 6-BA 含量为 1.0 mg/L(毫克/升)的培养基上, 其不定芽的分化能力显著高于 6-BA 为 0.5 mg/L(毫克/升)水平, 测验其差异显著性均达到 0.01 水平。试管小植株在 6-BA 水平为 1.0 mg/L(毫克/升)的培养基上连续培养, 其分化能力比较恒定, 而在 6-BA 水平为 0.5 mg/L(毫克/升)的培养基上连续培养, 其分化能力呈明显下降趋势。

2.2 仙客来种苗不同品种和单株间分化能力的差异性测定

从“胜利女神”、“大红”和“深红”品种第四次继代的试管苗中随机调查统计了 15 个单株系列试管苗的平均增殖倍数, 对仙客来不同品种和同一品种不同单株间的分化能力是否有显著差异进行了方差分析, 结果如表 2 和表 3。对单株分化能力与 6-BA 浓度的两因素方差分析表明, 6-BA 的影响因素仍是最显著的, “胜利女神”品种的 F 值达到了 52.887(F_α0.01=8.86), “深红”品种的 F 值为 18.26 也达到了 0.01 的显著水平, 而单株间的差异, “胜利女神”品种达到了 0.01 的差异显著水平, F=5.697(F_α0.01=3.70), “深红”品种单株系列的分化能力无显著差异。

表 1 不同激素及水平对“胜利女神”试管植株不定芽持续分化能力的影响

处理		继代次数					
		第 2 代	第 3 代	第 4 代	第 5 代	第 6 代	第 7 代
6BA1	接种芽数	39	97	358	799	387	865
+NAA0.1	分化芽数	237	580	2 036	4 815	2 670	6 339
+KT0.1	增殖倍数	6.10	5.98	5.69	6.02	6.90	7.32
6BA0.5	接种芽数	89	136	164	634	235	568
+NAA0.05	分化芽数	514	666	763	2 599	837	2 045
+KT0.05	增殖倍数	5.78	4.89	4.65	4.10	3.65	3.60
6BA0.5	接种芽数	56	111	247	650	230	
+NAA0.05	分化芽数	324	454	1 074	1 795	689	
	增殖倍数	5.78	4.48	4.35	4.30	3.10	

3 讨论

3.1 植物的组织培养技术已被广泛地应用于植物的各个领域和经济产业, 据欧洲 COST822 计划的一项调查表明,

表 2 仙客来不同品种和单株间试管芽苗
不定芽分化能力的比较

培养基	不同株别增殖倍数														
	S25	S32	S1	S16	S34	S22	S37	S32	S8	S5	S3	S7	S9	S11	S13
GA1.0	4.79	4.91	4.75	6.08	5.52	4.17	6.45	6.29	7.38	7.31	5.42	6.61	6.00	5.33	4.45
BBA0.5	4.19	4.38	4.30	4.77	4.19	3.96	4.93	4.81	4.67	5.82	4.45	4.95	4.84	4.27	3.43

表 3 “深红”品种单株间不定芽分化能力的差异

培养基	不同株别增殖倍数														
	R8	R5	R18	R30	R2	R6	R37	R15	R21	R26	R27	R4	R8	R25	R11
GA1.0	4.50	4.79	5.55	4.45	3.48	4.27	4.44	3.77	5.43	4.79	4.30	4.17	3.50	4.02	4.05
GA0.5	3.85	3.56	3.91	3.00	3.50	3.77	3.53	3.35	2.83	3.68	3.43	3.48	2.85	3.56	4.87

欧洲 23 个国家共有 505 个实验室在从事植物的微繁工作,其中包括 312 个政府资助的和 193 个商业实验室,植物的种和品种从 1993 年的 1833 个增加到 1996 年的 1966 个^[7]。我国为数众多的单位曾经和正在从事用于不同目的的植物组织培养工作,能够产生组培苗的植物种类达上千种之多。但是,由于球茎、球根类花卉的特殊性,真正进行产业化育苗的种类所占比例太少,其主要原因是试验结果的重复性太差。而重复性差的原因之一就是缺乏植物组织培养中统计规律的研究,用含多个随机因素影响的单次实验的结果,很难有重复性和大量培养的参考价值。我们在仙客来的微繁无性系建立中,对不同品种和单株体系均用数量分析的方法,进行适宜培养基的筛选和继代分化稳定性的判断,目前,已建立起数十个单株系列,已生根炼苗,进行性状的观察,备做育苗之用。

3.2 由于种苗再分化的容易性,在某些蔬菜和花卉上,经常选用种苗作为外植体进行无性体系的建立和适宜配方的选择,以及为不同目的的基础研究。由于有性过程后代遗传的差异性,组培时也应该考虑单株之间分化能力的差异。对仙客来培养的结果表明,不同品种对激素的敏感性有着明显的差异。从不同品种的比较看出,对同一培养基而言,多倍体品种“胜利女神”的分化能力明显高于其它二倍体品种(“大红”和“深红”等),这两个品种比“胜利女神”更适宜于高浓度的细胞分裂素;“胜利女神”同一品种的不同单株的分化能力也有着显著的差异。

3.3 实验结果表明,6—BA 的使用浓度在 1.0 mg/L(毫克/升)以上时,仙客来不同品种即有比较好的分化能力。第一次继代和第二次继代后对芽梢分化能力的统计得出,6—BA 为 2.0 mg/L(毫克/升)的使用量,其芽梢的增殖倍数均高于其

它浓度。但是,由于前期对生根的结果显示出,6—BA 的使用量在 2.0 mg/L(毫克/升)以上时会影响不定根的发生,同时,考虑到培养物内激素的累计效应,在后几次继代中,减低了 6—BA 的用量。但是,从第五次继代的结果看出,长时期的低 6—BA 的浓度会降低芽梢的增殖倍数,而 6—BA 的用量稳定的保持在 1.0 mg/L(毫克/升),随着继代次数的增加驯化,试管苗的不定芽分化能力很稳定,且异常苗逐步减少。KT 对初代培养启动外植体的不定芽分化有明显的效果,但是,对后几次继代中的分化效果不显著。

参考文献

[1] 侯喜林, 仙客来实生黄花叶柄培养的研究[J]. 园艺学报, 1991, 18(1): 81~86.
[2] 张敦方, 张喜春, 刘宏伟等, 仙客来离体叶片培养与植株再生[J]. 东北林业大学学报, 1992(20): 4.
[3] 曲复宁, 由翠荣, 康黎芳等, 仙客来组织培养中不定芽分化培养基的筛选[M]. 植物组织培养与脱毒快繁技术, 北京, 中国科学技术出版社, 2001, 9.
[4] 程广有, 名优花卉组织培养技术. 北京, 科学技术文献出版社, 2000, 1.
[5] 刘慧民, 胡冰, 花卉类植物组织培养技术发展概述[J]. 北方园艺, 2000, (1).
[6] 刘慧民, 佟桂英, 袁晶波, 近年来花卉类(含草皮、花、灌木)组织培养技术发展综述[J]. 北方园艺, 2000(2).
[7] F.ó Ríordáin COST 822—The Directory of European Plant Tissue Culture—1996, Proceedings of the International Symposium on Methods and Markers for Quality Assurance in Micropropagation, Cork Ireland 1999, 33~35.
[8] Wainwright H and Harwood A. C. In vitro organogenesis and plant regeneration of Cyclamen persicum Mill using seedling tissue, The of Hort Science, 1985, (60), 1~4.
[9] Dillen, W. Dijkstra, I. Oud, J. Shoot regeneration in long-term callus derived from mature flowering plants of Cyclamen persicum Mill.; 16 ref. Plant Cell Reports (Germany). (1996). V. 15(7) p. 545~548. 1996.
[10] A. M. mohannad and N. S. Karam In vitro propagation wild Cyclamen persicum Mill. From seedling tissue, Proceedings of the International Symposium on Methods and Markers for Quality Assurance in Micropropagation, Cork Ireland 1999, 243~250.
[11] Murasaki, K., and Tsurushima, H., 1988. Improvement of clonal propagation of cyclamen in vitro by the use of etiolated petioles. Acta Hort. 226; 721~797.

欢迎订阅 2003 年《广西植保》

《广西植保》是广西植保总站、广西昆虫学会、广西植保学会、广西植病学会联合主办的公开发行的农业科技期刊。本刊已全文入编《中国学术期刊(光盘版)》和“中国期刊网”,为中国学术期刊综合评价数据库的来源期刊。以报道广西植保科研、技术推广的新成果、反映广西农林病虫害草鼠害的发生动态及其分布、介绍粮食、经济作物、果树、林木花卉等植物上有害生物的防治技术和经验为主要内容。设有调查与研究、生产顾问、评论综述、专题讲座、研究简报植保工作动态等栏目。不仅适用于农业科研院所、各级农技推广和植保部门的专业人员,也适用于生产资料农药经营者、广大农村基层干部及农民朋友阅读。本刊为季刊,大 16 开本 36 页,自办发行。每期定价 3.50 元,全年 14 元,不另收邮费。订款请邮汇到广西南宁市民族大道东段,广西植保总站内《广西植保》编辑部收。邮编 530022。电话: 0771—5853417

欢迎订阅 2003 年《现代化农业》杂志

《现代化农业》杂志是由黑龙江省农垦总局主办的综合性农业科技期刊,为全国中文核心期刊、黑龙江省优秀科技期刊,主要报道农业现代化实践中的新成果、新技术和新经验,推动第一生产力的发展,加速科技成果向生产力转化。主要读者对象为从事农业、农机、畜牧及工副业生产的科技人员、管理干部和技术工人,也适合科研与教学人员阅读。

《现代化农业》杂志为月刊,大 16 开本,48 页,定价 4 元/期,全年 48 元,国内外公开发行,邮发代号 14—84,全国各地邮局(所)收订,也可直接向编辑部订阅。

编辑部地址: 黑龙江省佳木斯市安庆街 156 号
邮编: 154007
联系电话: 0454—8359326
E-mail: xdhny@0451.com