

矮牵牛繁殖的研究进展

武术杰

中图分类号: S 681.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-009(2007)05-0175-03

矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)为茄科矮牵牛属多年生草本植物,又名碧冬茄、杂种撞羽朝颜。矮牵牛株高一般 10~25cm,常作一年生栽培。喜温暖、干燥和阳光充沛的环境;不耐寒,忌积水雨涝。雨水过多叶子容易出现病害,且开花少,直接影响观赏效果,而晴天的观赏效果特佳。花单生,分单瓣和重瓣。单瓣花冠漏斗状,直径达 12cm;重瓣花花瓣皱褶,形似牡丹。商业上常根据花的大小以及重瓣性将矮牵牛分为大花单瓣类、丰花单瓣类、多花单瓣类、大花重瓣类、重瓣丰花类、重瓣多花类和其他类型。矮牵牛品种繁多,有白、红、紫、粉及各种双色类别,有的花瓣上还杂有深色条纹。大花型品种的观赏效果较好,但抗雨性及雨后恢复能力不及中花和小花型。通常情况下从早春到初夏花开不断,而在条件适宜时(每日 12 h 以上的光照和 20℃~25℃的温度下),一年四季都能开花,在干热天气下则会开得更加繁茂。由于其花型和花色多样,而且还能周年繁殖上市,因此特别适宜做花坛、花槽及自然式布置;还可用于窗台点缀、阳台和居室美化;大花与重瓣品种还可供盆栽观赏。在南方,矮牵牛是秋冬季节的时尚花卉,种植极

为广泛。而在美国,种植和消费高居草本花卉之首,其多个品种曾多次获得全美选种组织(AAS)设立的花坛植物奖。在日本,矮牵牛也被列为最受欢迎的花卉之一。它是世界上使用最广,销售量最大的盆栽花卉之一。

1 常规的繁殖方法及问题

矮牵牛属杂交种,常规繁殖多采用籽播或扦插。但矮牵牛为异花授粉,种子繁殖易发生分离变异,无法把品种特性稳定下来,会出现品种退化现象,严重影响观赏效果。此外重瓣与大花品种的结实率很低,而且国内每年用种子多是从国外进口,价格昂贵,而种子播种、育苗,非常麻烦。繁殖系数低,不能满足大量用苗的需要,而扦插也存在繁殖率和种苗质量低、不整齐等不利因素,远远不能满足市场需求。所以改进繁殖、生产技术,开发具有自主知识产权的新品种对发展国内花卉业具有深远的意义。由于矮牵牛不耐寒冷且易受霜害,极大地影响了其在恶劣气候条件下的美化效果,同时也限制了它在北方寒冷地区的推广应用。

2 组织培养方法研究进展

植物组织培养是利用植物细胞全能性的原理(即植物的体细胞在适当的条件下,具有不断分裂和发育成完整植株的能力),在无菌条件下,将离体的植物器官(根、

作者简介: 武术杰(1965),女,副教授,硕士,从事植物生理等方面研究。
收稿日期: 2006-12-30

循环利用或是再利用的方法,形成十分奇特有趣的园林小品。如利用搅拌机的混凝土作成的“假山石”,建筑用剩余的石块、砾石可以做为园林铺地,以及利用死树枯干可以形成园林景观等等。

2.5 大力推进节水节能型园林

我国北方地区是严重的水资源匮乏地区,以北京为例,人均水资源占有量是世界平均的三十分之一,是全国的八分之一。这就要求我们大力推进节水节能型园林建设。要采用微喷、滴灌、渗灌等先进的节水设施、设备,推广各种节水技术,逐步淘汰落后的灌溉方式,大力发展集雨型绿地,要把集雨工程作为今后园林绿地建设的一项标准,列入工程预算。同时鼓励社会单位、居民区内部的再生水处理系统进行绿化灌溉,进行绿化灌溉的再生水必须要符合相应标准。特别要坚持科学灌溉方式,根据气候变化、土壤情况和不同植物生长需要,努力实现精准灌溉。通过合理采用太阳能,调整绿地内的照明系统等措施,建设节电节能绿地。

3 加大对节约型园林建设的管理和监督

为了更好地贯彻节约型园林建设的各项目标得到实施,首先各级领导干部要重视起来。尤其是主管城市建设和园林绿化的领导干部,要牢固树立节约搞绿化的意识,明确分工和目标责任。要加强对本系统广大干部和职工的宣传教育,在全系统、全社会形成倡导节约型园林的氛围。对各级干部和设计人员进行培训和技术交流,制订有关园林绿化的节约标准、规范和指导意见,将节约要求具体化,确保其可操作性。在设计方案审查过程中,认真落实节约的要求,从规划设计的源头上就应树立节约型园林的意识和思想,通过的方案应该是主题突出、自然庄重、建设成本养护费用低、生态效益高的方案。

参考文献:

[1] 强健.对北京市园林绿化工作倡导节约的思考[J].中国园林,2006(12):54-57.
[2] 俞孔坚.节约型城市园林绿地理论与实践[N].中国花卉报,2007-03-01.
[3] 刘纯清.因地制宜,建设节约型园林绿化—建设部副部长仇保兴要求全国开展节约型园林绿化工作[J].园林科技,2006(04):1-3.

茎、叶、花、果实、种子)、组织(如形成层、花药组织、胚乳、皮层等)、细胞(体细胞和生殖细胞)以及原生质体,培养在人工配制的培养基上,使其能够继续生长、发育成完整植株的过程。目前,国内外对矮牵牛的组织培养的研究工作主要集中在快速繁殖、植株再生和基因工程等方面。

2.1 组织培养的外植体

国内外对矮牵牛组织培养方面的研究已经相当深入,曾进行过叶、茎、节间、叶肉原生质体、花粉粒、根分生组织、茎分生组织、芽、花瓣等外植体类型的研究;如 Handro, Rao、Cpcking 等选取矮牵牛的叶和叶肉原生质体作外植体,进行过研究;而 Sharma 和 Colijh 分别对茎尖分生组织或根分生组织再生体系的建立进行了研究;杨乃博等、郑万珍、王保华等则利用矮牵牛的叶或花瓣作为外植体,通过组织培养繁殖成不定苗;代色平、包满珠对矮牵牛花药培养及植株再生进行研究^[1];崔广荣、梁继田对重瓣矮牵牛叶片进行组织培养^[2];瞿素萍曾利用矮牵牛的茎尖和茎段进行组织培养并获得了一批生长正常的组培种苗^[3]。

2.2 植物激素选择

矮牵牛的常规组织培养一般分两步,先诱导形成愈伤组织,再从愈伤组织诱导分化成苗。植物组织培养过程中各种植物生长调节剂(或激素)的浓度及其配比对试管苗质量及增殖率的影响较大,通过优化组织培养各阶段的培养基,特别是优化激素组合,可大大提高生产效率。

经过试验对比,矮牵牛是比较容易进行愈伤组织诱导、丛生芽分化与生根的一类植物。在愈伤组织诱导增殖时,要考虑不能使用过高的 6-BA,否则会造成愈伤组织生长过于旺盛,使其质地疏松。研究指出,只有致密型结构的愈伤组织才能诱导器官的发生。因此在愈伤组织增殖中,6-BA 的浓度不高于 2mg/L 时,才能使增殖产生的愈伤组织以致密型结构为主;而在丛生芽诱导分化阶段时,应该注意 6-BA 过高后造成的苗生长矮小、粗大、变异多的现象,同样也要注意 NAA 添加过多后,造成的苗生长细长、弱小,最终给组培苗的良好生长带来不利的影响;在苗生根阶段应适当提高 NAA 的浓度,采用 NAA 0.5 ~ 1.0mg/L,使长出的根粗壮,利于后期移栽工作的顺利进行。朴日子等对矮牵牛的快速繁殖技术进行了研究,试验了不同浓度激素对矮牵牛试管苗分化、增殖生长和生根等的影响^[4]。

2.3 矮牵牛组织培养的发展趋势

利用组织培养技术,对具优良品种特性的矮牵牛单株进行快速无性繁殖,不仅可以保持其优良性状,解决退化现象和不结种子或结种量少的问题,使花色纯化,

还可以进行周年生产,并在短期内生产出大量整齐、均匀的健壮种苗,满足需求;也利于种质资源的保存和优良品种的应用与推广,基本解决种子依靠进口的问题,降低成本,产生显著的经济效益。同时可利用组织培养技术建立矮牵牛高频再生体系和受体再生体系,为利用基因工程技术进行遗传转化,改良品种奠定基础。

3 矮牵牛基因工程研究进展

基因工程研究主要集中在改变花色及花色形成机理等方面,而有关矮牵牛抗逆性研究还少见报道。随着社会的发展,人们对物质和精神生活的要求越来越高,愈加追求更加丰富多彩的新奇品种。由于传统育种固有的局限性(如:人工诱变率不够高且随机性比较大,难以打破种间隔离,难于解决远缘杂交不亲和的问题,耗时长等),仅应用以往的方法开发新品种已无法满足人们日益增加的需求。但是通过基因工程手段可获得某些传统育种不能改良的性状,基因工程技术为花卉改良开辟了一条全新的途径。因此,将基因工程与传统育种相结合,在今后的育种实践中,一定能培育出大批花色丰富、抗逆性强、性状各异、能满足各种不同绿化美化要求的观赏植物。自 20 世纪 70 年代以来,随着组织培养技术的发展,植物基因工程育种技术在种质资源创新和品种选育中的地位越来越重要。矮牵牛因其组织培养比较容易,组织与细胞操作技术简单,生活周期短,遗传背景清晰,同时又是一种重要的花卉,而且其基因工程技术开展得也比较早,从而成为转基因的模式植物之一,其基因工程育种研究进展见表 1^[5]。目前矮牵牛通过基因工程进行育种主要有直接导入外源结构基因、反义 RNA 技术和共抑制法三种主流技术手段。

此外,安利忻、刘荣维等对花的分生组织决定基因 API 转化矮牵牛进行了研究^[6];Horsch 等 1985 年首次获得了矮牵牛的转基因植株。国凤利和孟繁静在随后的研究发现,矮牵牛易于进行根癌农杆菌介导的基因导入,这为通过利用转基因的方法研究基因的功能提供了有利的条件^[7]。从此,矮牵牛的基因工程育种纷纷展开,并创造了一系列新品系。

3.1 矮牵牛花色的基因工程研究进展

应用基因工程对其进行植物性状的改良则主要集中在丰富花色的研究上。1988 年, Vander Krol 等首先采用了反义 RNA 技术法获得了矮牵牛花色变异新品种,他们将编码查尔酮合成酶(CHS)的结构基因反向导入矮牵牛植株,则转基因植株的花色由紫色变成白色,且不同株系表现出不同程式的花色变异^[8]。一般而言,采用反义 RNA 技术转化结构基因,均在不同程度上减少花色素苷的含量,花色也相应变淡。

表 1 矮牵牛基因工程育种研究进展

基因	新品系	技术	作者及时间
Al	砖红色	直接导入外源结构基因	Meyer et al., 1987
CHS	星条、网状	反义 RNA 技术	van der Krol et al., 1988
CHS	星条、网状	共抑制法	van der Krol et al., 1990
CHS	星条、网状	共抑制法	Napoli et al., 1990
CHR	黄色	直接导入外源结构基因	Davies et al., 1998
CHS	雄性不育系	反义 RNA	van der Meer et al., 1992
CHS	雄性不育系		Taylor and Jorgensen, 1992
CHS	雄性不育系	共抑制法	邵莉等, 1996
ETRI-1	延迟花朵衰老	直接导入外源结构基因	Gubrium et al., 2000
EFE	延长瓶插寿命	直接导入外源结构基因	Bouzayen et al., 1997
ROLC	改变株型	直接导入外源结构基因	Winefield et al., 1999
API	提前开花	直接导入外源结构基因	安利忻等, 2001

花瓣中色素形成的进程是一朵花完整发育过程的一部分,花色素苷是一种大量存在于花中的色素,控制花色的一系列变化,其含量的增高或降低都可能改变花的颜色,它在高等植物中起着一个非常重要的作用。通过它高等植物能发育出不同颜色的花瓣,而在花瓣或是其他相关器官上的颜色形成过程中,它对吸引授粉者诸如昆虫、鸟类等非常有用。它的色素形成需要通过结构基因表达出来,而它的合成包括了许多酶的步骤,同时也需要所有相关的生物合成基因的一致表达。

花色是所有观赏植物最重要的观赏性状之一,主要由 3 大类色素决定,即类黄酮、类胡萝卜素和甜菜色素。这些色素通常是存在于细胞液中的次生代谢产物。目前对属于类黄酮的花色素苷的合成代谢及与之相关的基因研究较为深入,且已被应用于改造花色的研究中。

以矮牵牛为模式植物进行花色研究的最初阶段,主要集中在花色素苷代谢途径上,并且分离得到了相应的基因。影响花色素苷代谢的基因有两类:一类是不同植物共同具有的结构基因,它们直接编码花色素苷代谢的生物合成酶;另一类是调节基因,它们控制结构基因的表达强度和程式。应用植物基因工程技术,可以从两方面来改变花的颜色。第一,利用反义 RNA 和共抑制技术抑制基因的活性,造成无色底物的积累,使花的颜色变浅或变成无色。其次,是通过引入外源基因来补充某些品种缺乏合成某些颜色的能力。

3.2 植物生长调节剂对矮牵牛花发育和色素形成影响的研究进展

GA 是间接地引导花色素苷生物合成的基因,GA 可能首先调控着一种或多种调控蛋白的合成,然后这些蛋白能依次按顺序地促进花色素苷生物合成基因的转录。Weiss 等发现,花色素苷生物合成基因在花冠发育过程中都是过渡的表达,但在最初的开花期导致表达减少,这可能是因为一个较低的 GA 水平所引起,但应用 GA₃ 的也没有阻止早期的表达减少^[9]。这要么是组织在发育后期对 GA 不敏感,要么是 GA 被拮抗物反作用了。

Weiss 等研究指出,在调控矮牵牛花发育的过程中,糖类起着—个核心作用,此作用需要蔗糖和 GA 的共同协作来完成。当存在蔗糖供给时,矮牵牛花瓣才能够有正常的发育和色素形成的分化^[10]。Tsukaya 等指出,当花冠生长分化时,如果蔗糖和 GA₃ 共同存在,它们将伸长和变得色彩多样。蔗糖也可以直接引导 chs 基因的表达,同时发现 chs 基因在矮牵牛花中的表达受到胞内蔗糖水平的调控^[11]。

目前还不知道 ABA 是否在矮牵牛花冠成熟过程中起作用,但它能抑制其花瓣的色素形成。进一步研究发现 ABA 阻碍 GA 所有的诱导进程,包括花冠伸长,花色素苷累积,以及 chs 基因的转录。

3.3 矮牵牛抗性基因工程研究

目前花卉抗性基因工程研究不断深入,如抗冻基因工程,抗病毒基因工程,抗虫基因工程,抗病菌、抗旱、抗盐碱、抗除草剂等抗性基因工程。矮牵牛在抗冻、抗病毒基因工程方面研究不断加强。

参考文献:

[1] 代色平,包满珠.矮牵牛花药培养及植株再生研究[J].亚热带植物科学,2003,2(2):55-57.
[2] 崔广荣,梁继田,崔海.重瓣矮牵牛叶片的组织培养[J].中国科技核心期刊,2004,(3):20-23.
[3] 瞿素萍.矮牵牛的组织培养的研究[J].西南农业大学学报,2001,23(5):447-448.
[4] 朴日子.矮牵牛的快速繁殖技术[J].延边大学农学学报,1999,21(4):313-316.
[5] 代色平,包满珠.矮牵牛育种研究进展[J].植物学通报,2004,1(4):385-391.
[6] 安利忻,刘荣维,陈章良,等.花分生组织决定基因 API 转化矮牵牛的研究[J].植物学报,2001,43:63-66.
[7] 国风利,孟繁静.矮牵牛花器官发育的研究进展[J].植物生理学通讯,1997,33(4):292-296.
[8] 李洪涛,李美如.花色改造基因工程研究进展[J].中国生物工程杂志,2003,23(5):71-73.
[9] Weiss D, van Blokland R, Kooter JM, etc. Gibberellic acid regulates chalcone synthase gene transcription in the corolla of Petunia hybrida[J]. Plant Physiol, 1992, 98: 191-197.
[10] Weiss D, van der Luit A, Knegt E, etc. Identification of endogenous gibberellins in petunia flower; induction of anthocyanin biosynthetic gene expression and the antagonistic effect of abscisic acid[J]. Plant Physiol, 1995, 107: 695-702.
[11] Tsukaya H, Ohshima T, Naito S, etc. Sugar-dependent expression of the CHS-A gene for chalcone synthase from petunia in transgenic Arabidopsis [J]. Plant Physiol, 1991, 97: 1414-1421.

(吉林省长春大学生物科学技术学院园林系, 130022)