

组织培养技术筛选香石竹低玻璃化无性系初报

黄宇翔¹, 吴祖建², 柯 昉¹, 刘金燕¹

(¹福建省农业科学院花卉研究中心, 福州 350003; ²福建省农林大学植物病毒研究所, 福州 350000)

摘要:采用离体培养的方法, 对香石竹红色品种‘多明格’的茎尖培养试管苗进行连续多代剔除玻璃苗和畸形苗的筛选, 继代培养 27 代后获得了玻璃化率稳定在 8% 左右的低玻璃化无性系。该无性系经 10 代的增殖培养, 定植到大田后仍然保持母本的优良性状, 无明显的有害变异。

关键词: 香石竹; 组织培养; 玻璃化; 无性系

中图分类号: S68; Q813 **文献标识码:** A

In Vitro Selection for Carnation Clone Against Vitrification

Huang Yuxiang¹, Wu Zujian², Ke fang¹, Liu Jinyan¹

(¹Flower Center of Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003;

²Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou 350000)

Abstract: Plantlets in vitro of ‘Domingo’, one of the red-flowering carnation breeds, were subcultured in vitro. They were selected for obtaining a clone, whose vitrification rate could be controlled less than 10%, by way of progressive subculture. After 27 times of subculture, such a clone was obtained. After 10 times of multiplying culture, the clone could keep the traits of its original one, and no harmful variation was observed, when they grew in a field.

Key words: Carnation, In vitro selection, Clone, Vitrification

试管苗玻璃化现象是植物组织培养的主要障碍之一。解决玻璃化问题, 是保证快繁成功的关键。香石竹茎尖培养过程中‘多明格’等红色品种常出现玻璃化现象, 且通过降低激素浓度、增强光照等措施仍不能使其玻璃化率降低^[1,2]。试验利用组织培养技术对香石竹无性系进行多次继代培养, 定向选择以获得低玻璃化无性系, 从而使其继代培养的玻璃化率降低至较低水平。

1 材料与方法

试验时间: 2002 年 9 月—2004 年 6 月。试验地点: 福建省农科院地热所公共实验室, 供试香石竹红色品种‘多明格’(Domingo)由上海市种业集团提供。

取花芽未分化的侧芽, 去除叶片, 经常规消毒后在双目解剖镜下迅速剥取 0.2~0.3mm 茎尖生长点, 接种于培养基表面。培养基: MS+BA0.2mg/L+ 蔗糖 30g/L+ 琼脂 6g/L。培养条件: 透明三角烧瓶以棉塞封

口, 温度(23±2)℃, 光强 4000lx, 每天光照 10h(表 1, H)。当茎尖诱导出的正常无根苗长到 4cm 高时, 转接到继代培养基上(培养基和培养条件同上), 继代培养 25d 后, 剔除玻璃苗和畸形苗, 记录玻璃苗率, 将正常苗转接进行下一次继代培养; 25d 后剔除玻璃苗和畸形苗, 记录玻璃苗发生率, 再将正常苗转接, 进行下一次继代培养; 如此反复进行继代培养, 直到连续继代 3 次, 玻璃苗发生率都下降到 10% 以内时, 将其保留作为低玻璃化的无性系。

将经过筛选的低玻璃化无性系和没有经过筛选的易发生玻璃化的茎尖培养无性系(对照)各 100 株, 在不同的培养基和培养条件下(表 1)进行继代培养, 统计玻璃化苗发生率。

将获得的低玻璃化无性系再连续扩繁 10 代后种植于大田, 设 3 个重复与对照, 每小区种 500 株, 区组随机排列。2003 年 5 月 27 日定植, 12 月 19 日各区组

基金项目: 福建省林业厅科技攻关项目“香石竹优质种苗繁育技术研究”(闽林[2004]科函 9 号)。

第一作者简介: 黄宇翔, 男, 1972 年出生, 硕士学位, 助理研究员, 主要从事花卉无病毒种苗生产技术研究。通信地址: 350003 福建省福州市五四北路 247 号福建省农科院工程所。Tel: 0591-87869459, E-mail: yuxiangh2000@yahoo.com.cn。

收稿日期: 2005-12-23, 修回日期: 2006-02-23。

随机抽取 50 株,统计其花径,花枝长度,二次摘心后的侧枝数,有害变异率等,用新复极差法进行分析。

2 实验结果

2.1 低玻璃化无性系的筛选

将‘多明格’茎尖生长点,接入诱导培养基 30d 后,约 30% 的生长点可以成活。成活的生长点有 10%

左右长成正常的无根试管苗,其余发育成玻璃化单个或丛生叶片。

将正常的试管苗经过多达 27 代的继代培养,其玻璃化率从 65% 下降到 8%,27 代后其继代培养的玻璃化率都保持在 8% 左右。

从图 1 可以看出,无性系在 1~9 代玻璃化率下

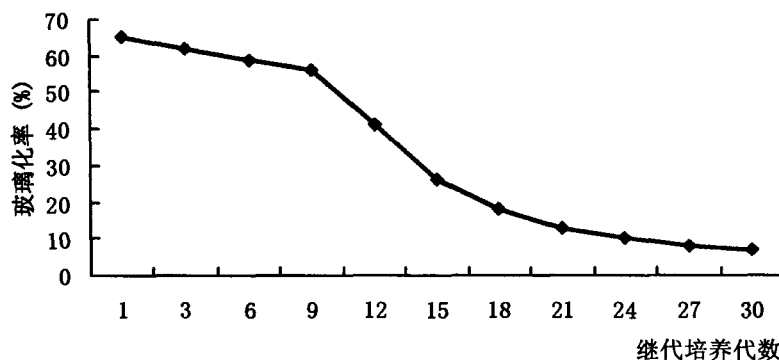


图 1 多明格试管苗在连续多代筛选过程中玻璃化率的变化

降较慢,其原因可能是不适应离体培养环境的细胞类型占大多数,而适应离体培养环境的细胞类型很少;9~18 代玻璃化率下降相对较快,可能是在继代筛选过程中适应类型细胞成倍性增长,积累到一定的基数,使得这个期间玻璃化率下降相对较快;进入 18 代后玻璃化率已下降到 20% 左右,适应型细胞占绝大多数,不再倍性增长,使得玻璃化率下降趋缓。27 代后玻璃化率稳定在 8% 左右,这说明经过连续多代筛选,玻璃化率已趋于稳定。通过渐进式的筛选,能获得玻璃化率低而稳定的无性系,可能有两个原因:(1)无性系在细胞分裂过程中,一部分细胞类型能适应离体培养的环境,通过渐进式的筛选,能适应离体培养环境

的细胞类型在群体中占绝对优势,其实质是适应性的问题^[3];(2)在高玻璃化逆境胁迫中,一些细胞产生变异,出现了能适应离体培养环境的类型,这些变异类型细胞在连续多代筛选过程中得到加强和固定。孙满芝等在他们的实验中发现继代培养代数越多,玻璃化现象越严重^[4],这与笔者的结果相反,可能是研究中前 10 代的玻璃化率都在 50% 以上,相当于半致死剂量的选择压力,因此有可能获得突变的低玻璃化细胞。

2.2 培养条件对玻璃化的影响

由表 1 可见,经过筛选的低玻璃化无性系在 A 处理约是未经筛选的对照的 1/4,在 B 和 H 处理约是

表 1 培养条件对香石竹试管苗的玻璃化的影响

代号	培养基	BA (mg/L)	蔗糖 (g/L)	琼脂 (g/L)	容器	封口	温度 (℃)	光照	玻璃化率 (多代筛选)	玻璃化率 (对照)
H	Ms	0.2	30	6	透明三角瓶	棉塞	23±2	4000lx, 10h/d	8	62
A	Ms	1.0	30	6	透明三角瓶	棉塞	23±2	4000lx, 10h/d	16	71
B	Ms	0.2	50	6	透明三角瓶	棉塞	23±2	4000lx, 10h/d	7	60
C	Ms	0.2	50	6	淡蓝色罐头瓶	塑料盖	23±2	4000lx, 10h/d	27	87

表 2 低玻璃化无性系与对照在园艺性状上的比较

处理	花枝长 (cm)	分枝数	花径 (cm)	有害变异率
低玻璃化无性系	84.3a	5.68a	7.87a	0
S 系(clone)	84.7 a	5.66 a	7.85 a	0

注:各列中的小写字母表示在 1% 水平上的差异显著性

1/8 中低 8 倍,在 C 处理中约为 1/3。用淡蓝色的罐头瓶以塑料盖封口的 B 处理的玻璃化率比透明三角瓶以棉塞封口的处理高,这可能是淡蓝色的罐头瓶吸收了入射光的某段波长的光,且以塑料盖封口使培养环境的湿度太高所致。

2.3 低玻璃化无性系的园艺性状

获得的低玻璃化无性系再经过 10 代的增殖培养后是否能保持其良好的园艺性状直接影响到该无性系能否在生产上的应用推广。经大田栽培,该无性系在花径、花枝长度和双摘心后的侧枝数等园艺性状方



图版说明:低玻璃化无性系在大田的生长发育(左)与对照(右)无明显差异

面无明显变化,且没有有害变异出现(见表2和图版)。

参考文献

- 1 黄宇翔,张晓耕,李章汀.克服香石竹茎尖培养玻璃化的研究.广西农学报,2004,(2):1~4
- 2 黄宇翔,李章汀,张晓耕.香石竹茎尖试管苗继代培养玻璃化现象

的研究.中国农学通报,2005,(2):81~83

- 3 李胜,李唯,杨德龙,曹孜义.植物试管苗玻璃化现象研究进展.甘肃农业大学学报,2003,38(1):1~16
- 4 孙满芝,伊成涛.植物组织培养过程中玻璃化现象的发生与解决措施.山东林业科技,2001,6:19~20

(责任编辑:陶冶之)