

金花梨叶片不定梢再生体系研究

曾云英

(九江学院土木工程与城市建设学院 江西九江 332000)

摘要:以金花梨试管苗叶片为试验材料,每叶片横切三刀,培养在 NN69 培养基上,先暗培养三周再转自光下,实验表明:NN69 + 细胞分裂素 5.0 mg/l (BA2.5 + KT1.25 + ZT1.25) + IBA0.3mg/l 为诱导叶片产生不定梢的最佳培养基配方。

关键词:金花梨;叶片;组织培养

中图分类号:S 68 **文献标识码:**A **文章编号:**1673 - 4580(2007)03 - 0088 - (03)

果树叶片培养的主要目的是用于体细胞诱变和基因转移。果树叶片的细胞间隙大,易于从单细胞直接诱导分化不定芽,是进行基因转移较理想的受体材料^[1]。目前以叶片为转化材料获得转基因植株在苹果等果树上报道较多^[2,3],在梨上少见报道。因此,开展梨叶片离体培养再生技术研究,对采用基因工程进一步改良梨品种有重大意义。本试验以金花梨试管苗为试材,对其叶片进行植株再生研究,以期建立高效、稳定的不定梢再生体系,为采用基因工程进一步改良金花梨品种奠定基础。

1 试验材料及方法

1.1 材料

采用试管苗刚展开的叶片,在操净工作台上用无菌刀片横切伤至中主脉断,每叶片切三块,远轴面向下接触培养基进行接种。

基本培养基:NN69,琼脂粉 5.5g/l,蔗糖 20g/l。

生长调节剂:细胞分裂素(6-BA:KT:ZT = 2:1:1)1.0 mg/l、3.0 mg/l、5.0mg/l、IBA0.1 ~ 0.3 mg/l。

1.2 试验方法

实验采用2因素3水平正交设计, $L_9(3^4)$ (表1、2)。每瓶接种3个叶片,每处理每次接种3瓶,重复3次。接种于不同处理的培养基中,先暗培养三周,再光下培养。培养条件如无特别说明,均为温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$,每天光照 14 小时,光强为 2000lx 左右。

不定梢诱导率 = 发生不定梢的叶片数 / 接种

后成活的叶片数 $\times 100\%$

表1 叶片不定梢诱导正交实验因子水平表

因素	水平		
	1	2	3
A 细胞分裂素(2BA:1KT:1ZT)	1.0	3.0	5.0
B IBA(mg/l)	0.1	0.2	0.3

观察值为百分数,属于二项分布,各观察值试验误差不一致,因此进行方差分析时需先进行反正弦转换^[4]。

采用 SPSS for windows 10.0 统计分析软件包对实验观察数据资料进行方差分析、多重比较等,同时对有关数据进行极差分析^[5,6,7]。

表2 叶片不定梢诱导实验方案 $L_9(3^4)$ 单位:mg/l

因素 处理	A(2BA:1KT:1ZT)	B(IBA)	空列
1	1(1.0)	1(0.1)	
2	1	2(0.3)	
3	1	3(0.5)	
4	2(3.0)	1	
5	2	2	
6	2	3	
7	3(5.0)	1	
8	3	2	
9	3	3	

2 结果与分析

2.1 植物生长调节剂种类及浓度配比对叶片愈伤组织诱导的影响

叶片接种一周后,开始隆起,出现凹凸不平,表明叶片在生长,叶片增大。20天后,在叶柄、叶片切

口处出现少量白色愈伤组织。25 天后,少部份叶片 切伤处出现芽点或丛芽点。

表 3 不同浓度激素种类及配比对叶片不定梢诱导的影响

试验号	激素配比(mg/L)		不定梢平均 诱导分化率(%)	显著性检验	
	细胞分裂素	IBA		0.05	0.01
1	1.0	0.1	0	e	D
2	1.0	0.2	20.08	de	C
3	1.0	0.3	11.67	e	CD
4	3.0	0.1	18.5	de	C
5	3.0	0.2	41.67	c	BC
6	3.0	0.3	38.89	cd	BC
7	5.0	0.1	63.89	b	AB
8	5.0	0.2	70.56	ab	AB
9	5.0	0.3	87.25	a	A

注:细胞分裂素组成及比例:2BA:1KT:1ZT,对各处理愈伤组织诱导率进行 LSD 检验,小写字母表示 5% 差异显著性水平,大写字母表示 1% 差异显著性水平,字母相同表示差异不显著。

表 4 叶片不定梢诱导率正交试验结果方差分析表

变异来源	DF	SS	MS	F	Sig	F
A 因素	2	9440.502	4720.251	60.220 **	0.000	$F_{0.05}(2,18) = 3.55$
B 因素	2	1619.908	809.954	10.333 **	0.001	$F_{0.01}(2,18) = 6.01$
A × B	4	550.709	137.677	1.756	0.182	$F_{0.05}(4,18) = 2.93$
误差	18	1410.892	78.383			$F_{0.01}(4,18) = 4.58$
总变异	27	50044.976				

* 表示 5% 水平上显著, ** 表示 1% 水平上显著

表 5 细胞分裂素、IBA 三水平比较

水平	不定梢平均 诱导率(%)	水平	不定梢平均 诱导率(%)
A3	73.90 a A	B3	45.94 a A
A2	33.02 b B	B2	44.10 a A
A1	10.58 c C	C1	27.46 b B

方差分析(表 4)结果表明:A(细胞分裂素)、B(IBA) 二因素呈极显著差异,说明一定浓度的细胞分裂素、IBA 对愈伤组织诱导率有显著的影响;比较 A 因素、B 因素、A × B 的交互作用 F 值的大小,可知影响金花梨优系叶片不定梢诱导率的主要因素是 A(细胞分裂素),其次是 B(IBA)。由于 A、B 二因

素呈极显著差异,故有必要对 A、B 二因素各水平间进行多重比较,多重比较均采用 LSD 测验(表 5)。

多重比较结果表明,细胞分裂素各水平间, A₁(1.0 mg/l)、A₂(3.0 mg/l) 与 A₃(5.0 mg/l) 间差异极显著,以 A₃(5.0 mg/l) 的效果最好,不定梢平均诱导率为 73.9%。IBA 各水平间,B₂(0.2mg/l)、B₃(0.3mg/l) 与 B₁(0.1 mg/l) 间差异达极显著水平,B₂(0.2mg/l) 与 B₃(0.3mg/l) 差异不显著。以 B₃(0.3mg/l) 的效果最好。

综上所述,本试验中 NN69 + 细胞分裂素 5.0 mg/l(BA2.5 + KT1.25 + ZT1.25) + IBA0.3mg/l 为诱导叶片产生不定梢的最佳培养基配方。

参考文献:

- [1] 赵政阳,曹晓玲,黄英等. 叶片成熟度对苹果试管苗叶片再生植株的影响[J]. 陕西农业科学, 1997(1):20 - 21
- [2] James, DJ et. Al Genetic transformation of apple using a disarmed Ti - binary vector. Plant Cell Rep. 1989;7:658 - 661
- [3] Maheswaran, GM et, al Transformation of apples rootstock M26 with Agrobacterium tumefaciens. J. Plant Physiol. 1992;139:560 ~ 568
- [4] 南京农业大学. 田间试验和统计方法[M]. 北京:农业出版社,1994: 113 - 115
- [5] 明道绪. 生物统计[M]. 北京:中国农业科技出版社,1998: 92 - 147

- [6] 徐继初. 生物统计及试验设计[M]. 北京:中国农业出版社,1990:59-69
 [7] 辛益军. 方差分析与实验设计[M]. 北京:中国财政经济出版社,2002:150-176

REGENERATION OF ADVENTITIOUS SHOOTS FROM LEAVES OF PYRUS PYRIFOLIA NAK. CV. JINHUA

ZENG Yun - ying

(Faculty of CIVIL Engineering and urban construction, JiuJiang university, JiuJiang, JiangXI, 332005)

ABSTRACT Young leaves in vitro of pear cultivars were selected as materials. Results showed that higher regenewere rate accounted for 87.25% when turned on the medium with NN69 + cytokinin 5.0 mg/l(BA2.5 + KT1.25 + ZT1.25) + IBA0.3mg/l + sucrose 5.5% in the dark for three weeks, then expose to light.

KEY WORDS leaf; tissueculture

(责任编辑 陈平生)

(上接第 87 页)

- [24] 杨康民,夏瑞妹,戚五妹. 上海地区桂花品种开花性状的分析研究[J]. 园艺学报,1989(16):33-36
 [25] 陈仲芳,张霖,尚富德. 利用层次分析法综合评价湖北省部分桂花品种[J]. 园艺学报,2004年06期:56-61
 [26] 汪小飞,向其柏. 桂花品种组合延长最佳观赏期的方案研究[J]. 安徽农业大学学报,2005年03期:112-116
 [27] 赵昌恒,汪小飞. 向其柏4个桂花品种不同扦插季节及激素处理对成活率的影响研究[J]. 江苏林业科技,2005年02期:226-232
 [28] 金红,郭保生. 河南省桂花品种资源及其繁育技术[J]. 河南农业科学,2005年08期:23-26

THE PROGRESS AND EXISTING QUESTIONS OF OSMANTHUS FRAGRANS LOUR. RESEARCH

NIE Gu - hua; WU Shi - lin

(Faculty of Life Science of Jiujiang university, Jiujiang, 332005)

ABSTRACT with the increasing development of national economy, continual booming on landscape market, especially china had got the ICRA for Osmanthus Genus, the content of O. fragrans research is further and further, range is wider and wider, which has great influence on promoting chinese flower - industrialization and internationalization This paper have introduced the current studies on classification, chemical constituents, cultivation, propagation and normal management, application, budding and blooming of O. fragrans lour. The questions about O. fragrans study also have been put forward. In the end, the field and focus of O. fragrans application in the future have been pointed out.

KEY WORDS O. fragrans lour; current study; question; suggestion

(责任编辑 詹建志)