

也门铁嵌合体品种在离体培养中的 变异规律及调控

何业华¹, 刘和平¹, 刘颂颂², 易清³, 叶永昌², 林顺权¹, 吕长平³

(1 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642; 2 东莞市林业科学研究所,
广东 东莞 523006; 3 湖南农业大学 园艺学院, 湖南 长沙 410128)

摘要:以金心也门铁 *Dracaena fragrans* cv. massangeana 及金边也门铁 *D. fragrans* cv. lindenii 为材料, 对其叶片嵌合性状在离体培养过程中的变异规律及通过调节培养条件降低其变异率进行了研究. 在离体培养过程中, 金心也门铁和金边也门铁的嵌合性性状极不稳定, 后代中分别有 4 类和 8 类变异, 2 个品种之间也可相互变异; 变异率高低主要受芽增殖方式的影响, 由愈伤组织分化出的不定芽的变异率高达 70% 以上, 由丛生芽基部组织分化出的不定芽的变异率约 40% ~ 50%, 而由腋芽分化方式产生的芽变异率只有 13% ~ 17%, 但后者的增殖率太低. 将基部带有分生组织的丛生芽(增殖 10 代)在 MS + 1.0 mg/L BA + 0.1 mg/L IAA + 3 mg/L AgNO₃ 上增殖培养后, 2 品种的变异率分别能降为 22.80% 和 25.34%, 有效增殖率比以腋芽增殖方式提高约 1 倍.

关键词:也门铁; 嵌合体; 离体培养; 变异

中图分类号:S682

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2008)02-0070-04

Variation and Regulation on Chimera Variety of *Dracaena Fragrans* During *in vitro* Culture

HE Ye-hua¹, LIU He-ping¹, LIU Song-song², YI Qing³, YE Yong-chang², LIN Shun-quan¹, LÜ Chang-ping³

(1 College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2 Forestry Institute of Dongguan, Dongguan 523006, China; 3 College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Variation of leave chimera character during *in vitro* culture and its variation rate were studied by using *Dracaena fragrans* cv. massangeana and *D. fragrans* cv. lindenii as the material. *In vitro* culture, the characters of chimera in massangeana and lindenii were extremely unstable, there were four categories and 8 kinds of variation respectively in descendants and the mutual variation between the two species; their variation rates were mainly affected by the regeneration bud way, the mutation rate of adventitious buds was over 70% from callus tissue differentiation, approximately 40% to 50% from numerous basal bud differentiation, and only 13% to 17% from the axillary bud differentiation. After numerous basal buds multiplied 10 generations cultured on MS + 1.0 mg/L BA + 0.1 mg/L IAA + 3 mg/L AgNO₃, the variation rate of two varieties reduced to 22.80% and 25.34%, and effective multiplication rate of numerous basal buds was about 2 times higher than that of the axillary buds.

Key words: *Dracaena fragrans*; chimera; *in vitro* culture; variation

也门铁 *Dracaena fragrans* (L.) Ker-Gaw., 又称 内亚, 已成为我国主要的盆栽观叶植物, 珠江三角洲香龙血树, 是龙舌兰科龙血树属常绿乔木, 原产于几 是我国也门铁幼苗和盆栽集中生产地^[1]. 我国市场

收稿日期: 2007-08-30

作者简介: 何业华(1960—) 男, 教授, 博士, E-mail: heyehua@hotmail.com

基金项目: 广东省科技计划项目(2006B20101003)

上也门铁品种主要有金心也门铁、金边也门铁、普通也门铁,前2个品种是普通也门铁的嵌合体变异,商品价值较高。我国也门铁育苗基本都是以离体培养的方式,而在离体繁殖过程中,两嵌合体品种变异相当普遍,因大量变异苗被淘汰而加大了生产成本。由嵌合体导致的花叶现象是观赏植物重要的经济性状,如何保持嵌合体花叶性状的稳定性,是苗木生产中一项亟待解决的问题^[2-6]。本文对也门铁2个嵌合体品种在离体繁殖过程中的变异规律进行了观察,并通过调节培养条件开展了降低其变异率的研究,以期建立嵌合体品种组培苗稳定生产技术体系。

1 材料与方法

1.1 材料

供试品种为金心也门铁 *D. fragrans* cv. massangeana(简称“金心”)和金边也门铁 *D. fragrans* cv. lindeni(简称“金边”)。

1.2 嵌合芽的获得和植株变异类型调查

按前文报道方法^[7],以茎段为外植体,经诱导得到愈伤组织和丛生芽。在离体繁殖过程中,搜集和记录各种叶片变异,并根据其嵌合特点按品种进行分类。

1.3 试验处理及设计

1.3.1 不同培养材料的芽变异情况 将茎段离体培养10代所得到的愈伤组织、芽(即新梢或茎,高1.5~2.0 cm,基部不带有分生组织)和由丛生芽中切下的基部带有分生组织的单芽等3种材料,分别接种在MS+1.0 mg/L BA+0.1 mg/L IAA增殖培养基中^[7]。每处理5瓶,每瓶接种6个材料,培养30 d,因刚分化出的芽太小,再转接于MS基本培养基上继代30 d后按植株类型统计变异和分化情况。

1.3.2 BA与IAA不同质量浓度组合对嵌合芽稳定性的影响 由丛生芽中选取高1.5~2.0 cm、粗壮的嵌合芽为材料,以单芽接种于MS中,其BA(0.5、1.0、2.0 mg/L)与IAA(0.03、0.10、0.30 mg/L)质量浓度组合按正交试验进行设计,同时以不添加BA和IAA的MS为对照。试验重复数、培养方法和统计方法与1.3.1相同。

1.3.3 AgNO₃对嵌合芽稳定性的影响 在也门铁增殖培养基MS+1.0 mg/L BA+0.1 mg/L IAA中^[7],分别添加AgNO₃至质量浓度为1.0、3.0、10.0 mg/L,同时设置对照。培养材料、试验重复数、培养方法和统计方法与1.3.2相同。

1.4 培养条件

培养基均添加30 g/L蔗糖,以7.5 g/L卡拉胶固化,pH 5.8。培养温度26~28℃,光照强度

2 000 lx,光照12 h/d。

1.5 统计检验

增殖率以能明确区分的独立芽(芽连同其上叶片总高度约在2 cm以上)为统计对象,增殖率=(增殖并继代培养1代后的芽总数-增殖培养开始时接种的芽数)/增殖培养开始时接种的芽数×100%。变异率以能明确区分叶片是否具有稳定嵌合性状(芽连同其上叶片总高度约在2 cm以上,具有5枚以上叶片)的芽为统计对象,变异率=增殖并继代培养1代后变异芽数/继代培养1代后增殖出的芽总数×100%。嵌合芽的有效增殖率=(1-变异率)×增殖率×100%。对所得数据用SAS软件ANOVA过程语句进行方差分析,对差异显著的处理用Student-Newman-Keuls(SNK)法进行多重比较。

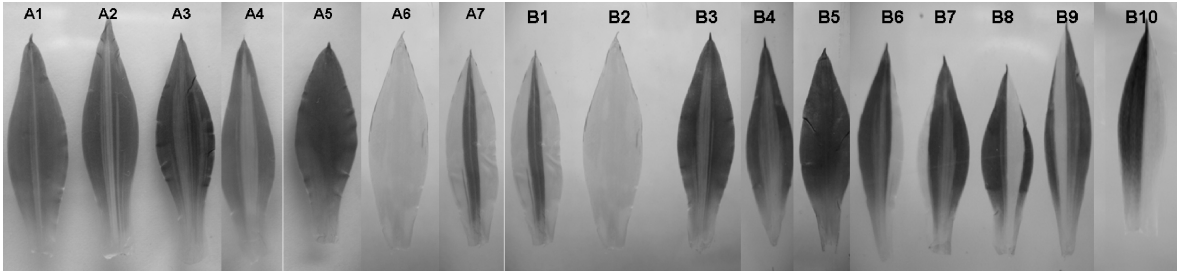
2 结果与分析

2.1 嵌合体品种在离体培养过程中叶片变异类型

2个嵌合体品种经离体培养后,所得组培苗的叶色嵌合性状分离现象相当严重。根据叶片黄色区域与绿色区域的分布规律,金心植株可划分为6类(图1:A1~A7),金边植株可划分为9类。在金心组培苗中,第1类(A1~A3)和第2类(A4)为正常植株,第3类(A5)、第4类(A6)、第5类(A7)和第6类为变异植株,其中第3类已成为普通也门铁,第5类已成为金边,第6类为同一植株上同时具有中部有淡黄色带纹叶片(类型1、2)和全绿叶片(类型3)。金边植株叶片变异丰富(图1:B1~B10),第1类(B1)为正常植株、第2~9类为变异植株,其中的第3类和第4类已成为金心、第5类已成为普通也门铁、第9类的同一植株上同时具有中部有绿色带纹叶片和全黄叶片。试验结果显示了2个嵌合体品种在离体培养过程中是可以相互转变,同时也可以变异为普通也门铁。各类植株所占比例与培养基、培养方法和培养材料有关。金心第1~3类植株所占比例常在85%以上,变异株以普通也门铁(第3类)为主;而金边第1、第2类植株所占比例常在75%以上,变异株主要为黄化苗(第2类)。

2.2 也门铁芽增殖方式及对芽变异率的影响

也门铁芽增殖方式有3种,第1种是由愈伤组织再分化产生,第2种是由芽基部再分化产生,第3种是茎上腋芽萌发产生。前2种属于不定芽分化,所形成的芽属于不定芽;后一种属于腋芽分化,所形成的芽属于定芽。3种增殖方式之间的芽变异率差异显著,金心、金边都是增殖方式1的变异率最高(77.71%、79.83%),增殖方式2最低(13.89%、



A:金心也门铁;A1、A2 和 A3:类型 1;A4:类型 2;A5:类型 3;A6:类型 4;A7:类型 5;B:金边也门铁;B1:类型 1;B2:类型 2;B3:类型 3;B4:类型 4;B5:类型 5;B6 和 B7:类型 6;B8 和 B9:类型 7;B10:类型 8

A :*D. fragrans* cv. massangeana; A1, A2 and A3:the type 1;A4:the type 2;A5: the type3;A6:the type 4;A7: the type 5;B:*D. fragrans* cv. lindenii; B1: the type 1;B2: the type 2;B3: the type 3;B4: the type 4;B5: the type 5;B6 and B7:the type 6;B8 and B9:the type 7;B10: the type 8

图1 金心也门铁和金边也门铁组培苗中的叶片类型

Fig.1 Leave types of micropropagation plant of *Dracaena fragrans* cv. massangeana and *D. fragrans* cv. lindenii

16.39%),增殖方式3介于两者之间(48.52%、50.25%)。从2品种的增殖率来看,增殖方式3(106.67%、116.67%)显著低于以不定芽分化的增殖方式,而增殖方式1(274.36%、341.58%)和增殖方式2(248.64%、331.58%)之间无显著差异。因此,也门铁嵌合体品种在离体繁殖过程中通过腋芽增殖方式将有利于其嵌合性状的保持,但从嵌合芽的有效增殖率来看,仍是以丛生芽基部组织增殖方式的增殖效率最高(164.96%),愈伤组织分化产生增殖方式最低(68.89%)。

2.3 BA与IAA不同浓度组合对嵌合芽在离体培养过程中稳定性的影响

在对照培养基上,金心仅以腋芽萌发的方式进行增殖,变异率也低。添加BA和IAA后,促进了丛生芽基部组织分化,增殖以腋芽分化和基部组织不定芽分化2种方式同时进行,增殖率成倍提高,由于丛生芽基部组织大量分化出不定芽,导致变异率也随之增加。当 $\rho_{BA} \geq 0.5$ mg/L和 $\rho_{IAA} \geq 0.1$ mg/L时,变异率无显著增加,增殖率的变化情况也相类似。从嵌合芽有效增殖率来看,除0.5 mg/L BA + 0.03 mg/L IAA较低外,其他各处理之间无显著差异。4类变异植株(第3~6类)中,第3类植株(叶片全绿)约占变异株总数的66.6%~90.9%;而第4类(黄化

苗)和第5类(叶片为金边)的变异植株很稀少,不到植株总数的0.01%,通常也只有在大批量生产过程中才能发现,属于金心的稀少变异类型。

金边在BA与IAA不同质量浓度组合培养基上的变异规律与金心相似。9个处理中,变异率和增殖率随BA质量浓度升高而略有增加,但当BA质量浓度超过1 mg/L后增加不明显。在同一质量浓度BA中,3种IAA质量浓度之间的变异率的差异较小。但从嵌合芽有效增殖率来看,0.5、1.0 mg/L BA处理增殖效率较高。8类变异植株类型中,第2类(黄化苗)约占变异株总数的41.1%~92.2%,其次是第9类,而第7类不到植株总数的0.01%,属于稀少变异。

2.4 AgNO₃对嵌合芽在离体培养过程中稳定性的影响

在增殖培养基中添加AgNO₃后,芽基部组织不定芽分化受到明显抑制,而腋芽的分化和萌发受到明显促进,增殖主要以腋芽萌发的方式进行,从而能够显著抑制变异芽的产生,增强了芽离体培养过程中嵌合性状的稳定性,2个品种都以3.0 mg/L AgNO₃的变异率最低和有效增殖率最高(表1)。3种质量浓度的AgNO₃都明显促进了金心的增殖,这种增殖主要是通过促进腋芽萌发而造成的;但只有添加3.0 mg/L AgNO₃对金边的增殖才有明显促进作用。

表1 AgNO₃对离体培养过程中芽嵌合性状稳定性的影响¹⁾

Tab.1 Effects of different concentrations of silver nitrate on bud stability of chimera character in vitro culture						
$\rho(\text{AgNO}_3)$ /(mg·L ⁻¹)	金心也门铁 <i>Dracaena fragrans</i> cv. massangeana			金边也门铁 <i>Dracaena fragrans</i> cv. lindenii		
	变异率	增殖率	有效增殖率 effective	变异率	增殖率	有效增殖率 effective
	variance rate/%	multiplication rate/%	multiplication rate/%	variance rate/%	multiplication rate/%	multiplication rate/%
0	56.25a	260.00b	113.75c	52.63a	332.65ab	157.57c
1.0	39.53ab	325.00ab	196.52b	35.67ab	344.85ab	221.84b
3.0	22.80b	459.88a	355.02a	25.34b	397.25a	296.58a
10.0	35.29ab	427.38a	276.55ab	35.84ab	352.76ab	226.33b

1) 同列数据后,不同字母者,示在P=0.05水平上差异显著(SNK法)

2.5 不同继代数对嵌合芽变异的影响

分别将金心和金边增殖培养5、9、18代后,取其嵌合芽转接在MS+1.0 mg/L BA+0.1 mg/L IAA+2.0 mg/L AgNO₃的培养基中,结果表明,2品种嵌合芽变异率随着继代次数的增加而逐渐上升,其变异率分别是:增殖5代时为23.10%、25.67%,增殖9代时为28.00%、31.86%,增殖18代时为33.23%、37.90%。

3 小结

也门铁嵌合体品种在离体培养过程中,后代叶片嵌合性状分离比例大。金心再生植株中有4类变异,总变异率最高可达77.71%;金边再生植株中有8类变异,总变异率最高可达79.83%。2品种除了都有叶片全黄类型(黄化苗)和叶片全绿类型(普通也门铁)的变异产生外,金心与金边之间也都可以通过离体培养相互产生变异后代。

刚产生的变异芽并不稳定,尤其是最初形成的3枚叶的变异性状常与3枚之后叶片性状有较大差异,通常要待第5枚之后的叶片才能明确地表现出该植株本来的类型。因此,必需根据第5枚之后的叶片嵌合性状来确定该植株的所属类型。

2个也门铁嵌合体品种变异率高低与芽增殖方式关系密切,以腋芽增殖方式的变异率最低(13%~17%),而由愈伤组织再生时的变异率最高(77%~80%),但以腋芽增殖方式的增殖率太低,增殖率仅

为不定芽增殖方式的34%~43%,不能满足快速繁殖要求。因此,凡能抑制愈伤组织的形成和分化,以及促进腋芽分化和萌发的技术措施都能增强离体培养过程中嵌合芽的稳定性。就本试验中的2个也门铁嵌合体品种来说,可以通过选择培养材料、适当降低培养基中的生长调节物质质量浓度和添加3.0 mg/L AgNO₃来减少变异发生和维持较高的增殖效率。

参考文献:

- [1] 刘颂颂,朱剑云,何业华,等.也门铁工厂化育苗技术[J].经济林研究,2006,24(4):71-73.
- [2] 于晓南,张启翔.彩叶植物多彩形成的研究进展[J].园艺学报,2000,27(增刊):533-538.
- [3] 黄济明.色斑观叶植物在试管繁殖时的性状保存与变化[J].上海农学院学报,1985,3(2):103-104.
- [4] 陈容茂.观叶植物的彩斑稳定性[J].亚热带植物通讯,1989(1):43-47.
- [5] DUMAS E. MONSTEUUIS O. *In vitro* rooting of micro-propagated shoots from juvenile and mature pinus pleaster explants-influence of activated charcoal [J]. Plant Cell Tissue Org Cult, 1995(40):231-235.
- [6] 周焱,周厚高,张西丽.观赏植物花叶现象研究现状[J].广西农业生物科学,1999,18(4):304-309.
- [7] 易清,何业华,刘颂颂,等.3个也门铁品种高效离体繁殖体系的建立[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2007,33(3):48-54.

【责任编辑 柴 焰】

(上接第69页)

以叶片上有一圈灰绿色或白色的晕斑而明显区别于同属的其他种^[3]。

3 广序假卫矛(卫矛科)

Microtropis petelotii Merr. et Freem. in Proc. Am. Acad. 73:291. 1940;中国高等植物图鉴补编2:247,图8823. 1983;Fl. Reip. Pop. Sin. 45(3):157, 1999.

广东:梅州市丰顺县铜鼓峰,2006-10-14,曾宪锋,唐光大,李清湖,刘乐,吴艳艳,温沙蒙,柯欢 2840 (CANT). 生于海拔900 m密林下。

分布:广西及云南南部。越南。广东省首次记录。

叶近革质,较窄小,以蒴果较小与大叶假卫矛 *M. macrophyllus* Merr. et Freem. 相区别^[4]。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第

36卷[M]. 北京:科学出版社,1974:246-247.

- [2] 福建省科学技术委员会《福建植物志》编写组. 福建植物志:第2卷[M]. 福州:福建科学技术出版社,1985:321-326.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第52卷第1分册[M]. 北京:科学出版社,1999:213-232.
- [4] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第45卷第3分册[M]. 北京:科学出版社,1999:157-159.
- [5] 吴德邻. 广东植物志:第4卷[M]. 广州:广东科技出版社,2000:167,181-187.
- [6] 吴德邻. 广东植物志:第3卷[M]. 广州:广东科技出版社,1995:143-151.
- [7] 叶华谷,彭少麟. 广东植物多样性编目[M]. 广州:广东世界图书出版社,2006:213-214,137-138,266-268,293-295.

【责任编辑 李晓卉】