

中国水仙花器官愈伤组织诱导、分化及组织学观察

张晓晴, 高 健*, 彭镇华*

(国际竹藤中心,北京 100102)

摘要:为了建立中国水仙遗传转化体系,为转基因分子育种提供良好受体,以中国水仙‘金盏银台’品种的不同花器官为实验材料,以MS为基本培养基,研究了花药、花梗、子房、花柄愈伤组织诱导情况。对愈伤组织诱导效果较好的花梗和花药培养基中添加不同浓度6-苄基腺嘌呤(6-BA)、硫酸腺嘌呤(Ad)、萘乙酸(NAA)和2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D),筛选出愈伤组织诱导及鳞茎芽再生的最适培养基配方。结果表明:花梗愈伤组织诱导及鳞茎芽分化的最佳培养基为MS+1 g·L⁻¹ NaH₂PO₄+0.003 g·L⁻¹ 6-BA+0.001 g·L⁻¹ NAA+0.2 g·L⁻¹ Ad+30 g·L⁻¹蔗糖,花药愈伤组织诱导及鳞茎芽分化的最佳培养基为MS+0.002 g·L⁻¹ 6-BA+0.001 g·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹蔗糖;花梗愈伤组织诱导到鳞茎芽分化的时间需要30~35 d,而花药这一过程为80~90 d。对花梗愈伤组织诱导及鳞茎芽分化过程进行组织学观察表明:本研究中产生的小鳞茎是由愈伤组织再分化得来的,表明花梗更有利于作为转基因受体,从而解决了转基因研究过程的一个瓶颈问题。

关键词:中国水仙;愈伤组织;组织学观察

中图分类号:S682.2

文献标识码:A

Callus Induction, Differentiation and Histological Observation of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* Floral Organs

ZHANG Xiao-qing, GAO Jian, PENG Zhen-hua

(International Center for Bamboo and Rattan, Beijing 100102, China)

Abstract: In order to select the high-efficient *in vitro* regeneration approaches for transgenic receptor system, the floral organs of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* ‘Jinzhangyintai’ variety was served as explants and cultured in the MS basic medium. The influence of plant growth regulators on explants type, such as anther, peduncle, ovary and pedicel were studied. The effects of different concentrations of 6-BA, Ad, NAA, 2,4-D and their combinations on callus induction and shoots regeneration from anthers and peduncles were tested by *in vitro* culture. The results showed that the suitable media for callus induction and shoots regeneration from peduncles were MS + 30 g·L⁻¹ sucrose with 1 g·L⁻¹ NaH₂PO₄+0.003 g·L⁻¹ 6-BA+0.001 g·L⁻¹ NAA+0.2 g·L⁻¹ Ad, and that from anthers were MS + 30 g·L⁻¹ with 0.002 g·L⁻¹ 6-BA+0.001 g·L⁻¹ NAA. The process of callus from peduncles and differentiation lasted for 30~35 days and the process of callus from anthers and differentiation lasted for 80~90 days. Shoots were regenerated by peduncles callus for histological examination in the process of callus from peduncles and differentiation.

Key words: *Narcissus tazetta* var. *chinensis*; callus; histological observation

收稿日期:2012-03-21

基金项目:国家林业局“948”项目;花卉良种扩繁和精准栽培技术引进与创新(2006-4-C07)

作者简介:张晓晴(1981—),博士研究生,主要研究方向:花卉品种改良. Email: zhangxiaqing3112259@126.com

* 通讯作者:彭镇华,博士,教授,主要研究方向:竹藤品种改良. 高 健,博士,研究员,主要研究方向:林木遗传育种. Email: gaojian@

中国水仙 (*Narcissus tazetta* var. *chinensis*) 是我国的传统十大名花之一,其花色素雅,叶片浓绿,花姿秀美,花香馥郁,具有很高的观赏价值。以漳州水仙最为著名,是中国传统花卉出口中的佼佼者,在国内观赏植物出口创汇中占举足轻重的地位^[1]。目前,虽然我国的水仙种植面积和产量都在迅速上升,但是拥有自主知识产权的品种很少,不能满足花卉产业对花卉品种新、奇、特、异、美的要求。中国水仙虽栽植历史悠久,但少有品种创新,只有‘金盏银台’,‘玉玲珑’等少数几个品种^[2-6]。由于中国水仙是三倍体植株,不结实,传统的杂交育种无法进行,因此限制了中国水仙的发展。为满足产业发展需求,中国水仙育种技术急需新的突破。转基因技术能有效克服传统杂交育种的弊端,为中国水仙品种创新提供新的途径。

一个成熟、适应性强的转基因系统,依赖于高效、稳定且再生能力强的植株受体再生体系的建立。中国水仙转基因受体多集中在带部分鳞茎盘的双鳞片上^[7-9]。该方法再生体系的建立已经比较成熟,但其作为转基因受体材料,存在着一些重要的缺陷,如:与土壤直接接触的鳞茎盘灭菌复杂,不能采用常规灭菌法,污染率很高^[7,10];转基因效率低^[11]。因此,筛选出通过愈伤组织诱导并能高效分化的外植体是提高中国水仙转基因效率的最重要前提之一。目前,国内有一些关于中国水仙不同组织器官愈伤组织诱导的研究报道,但问题是愈伤组织继代困难,通过愈伤组织诱导小鳞茎再生时间较长,而且并没有证据证明小鳞茎的诱导途径。本研究旨在通过对不同花器官进行愈伤组织诱导研究,筛选出愈伤组织诱导、继代容易,愈伤分化能力强,再生效率高的外植体及培养基配方,并对小鳞茎再生途径进行组织切片检测,以建立中国水仙遗传转化体系的技术方法,为转基因分子育种提供有效受体材料。

1 材料与方 法

1.1 材 料

于2010年12月—2011年4月,以福建漳州3年生中国水仙‘金盏银台’商品球为供试材料,其花器官发育完全,均为未经水培的种球。

1.2 外植体灭菌

剥去种球鳞片,取出带花梗的花苞,自来水冲洗0.5 h。无菌条件下用75%的酒精灭菌30 s,0.5%的次氯酸钠溶液灭菌15~18 min,无菌水冲洗4~

5次。无菌滤纸吸干后,分别切取花梗和花柄,剥出花药和子房,接种到已准备好的培养基上。

1.3 培养条件筛选

1.3.1 不同外植体愈伤组织的诱导 花梗切段长为2~3 mm,按照生长极性的方向接种于培养基上;花柄切段长为5 mm,横向平放于培养基上;将花药的花丝朝下接种在培养基上,此时花药壁颜色为白色到浅黄色;取出子房切去柱头平放在培养基上。愈伤组织诱导培养基为MS + 1.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L⁻¹ NAA + 0.5 mg · L⁻¹ 2,4-D + 30 g · L⁻¹ 蔗糖 + 6 g · L⁻¹ 琼脂。

1.3.2 不同浓度6-苄基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)对花药愈伤组织诱导及分化的影响 取生长时期类似,花药壁均为浅黄色的花药接种到不同培养基上。诱导培养基为MS + 30 g · L⁻¹ 蔗糖 + 6 g · L⁻¹ 琼脂,分别添加不同浓度的6-BA、2,4-D和NAA,共18种培养基(表1)。

表1 花药愈伤诱导培养基配方

| 培养基编号 | 培养基配方 |
|-------|---|
| Ms-1 | MS + 1.0 mg · L ⁻¹ 2,4-D |
| Ms-2 | MS + 0.5 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ 2,4-D |
| Ms-3 | MS + 1.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ 2,4-D |
| Ms-4 | MS + 2.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ 2,4-D |
| Ms-5 | MS + 4.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ 2,4-D |
| Ms-6 | MS + 0.5 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ 2,4-D |
| Ms-7 | MS + 1.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ 2,4-D |
| Ms-8 | MS + 2.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ 2,4-D |
| Ms-9 | MS + 4.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ 2,4-D |
| Ms-10 | MS + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| Ms-11 | MS + 0.5 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| Ms-12 | MS + 1.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| Ms-13 | MS + 2.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| Ms-14 | MS + 4.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| Ms-15 | MS + 0.5 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ NAA |
| Ms-16 | MS + 1.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ NAA |
| Ms-17 | MS + 2.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ NAA |
| Ms-18 | MS + 4.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ NAA |

1.3.3 不同浓度6-BA、NAA和硫酸腺嘌呤(Ad)对花梗愈伤组织诱导及分化的影响 选取由花梗基部向上到花苞以下的部分为外植体。切段长为2~3 mm,按极性方向接种于不同培养基上,培养基为MS + 1 g · L⁻¹ NaH₂PO₄ + 30 g · L⁻¹ 蔗糖 + 6 g · L⁻¹ 琼脂,分别添加不同浓度的6-BA、NAA和Ad,共17种培养基(表2)。

表2 花梗鳞茎芽诱导培养基配方

| 培养基编号 | 培养基配方 |
|-------|---|
| M-1 | MS + 1.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-2 | MS + 1.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-3 | MS + 1.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 2.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-4 | MS + 2.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-5 | MS + 2.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-6 | MS + 2.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 2.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-7 | MS + 3.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-8 | MS + 3.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-9 | MS + 3.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 2.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-10 | MS + 4.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 0.5 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-11 | MS + 4.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-12 | MS + 4.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 2.0 mg · L ⁻¹ NAA |
| M-13 | MS + 3.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA + 200 mg · L ⁻¹ Ad |
| M-14 | MS + 3.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA + 250 mg · L ⁻¹ Ad |
| M-15 | MS + 3.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA + 300 mg · L ⁻¹ Ad |
| M-16 | MS + 3.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA + 350 mg · L ⁻¹ Ad |
| M-17 | MS + 3.0 mg · L ⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L ⁻¹ NAA + 400 mg · L ⁻¹ Ad |

1.3.4 培养条件与愈伤诱导率及鳞茎芽再生率的统计 外植体接种后,于(25 ± 2)℃的黑暗条件下进行愈伤组织诱导,待愈伤组织分化出明显的芽点后转到光照强度1 600 ~ 1 800 lx 24 h光照下培养。愈伤组织诱导率的计算方法为:能够诱导出致密且能继续增殖的愈伤组织数与接种的总外植体数的比值。鳞茎芽再生率为:能够诱导鳞茎芽的愈伤组织与接种的总外植体数的比值。

1.4 组织学观察

选取培养不同时期的花梗外植体,进行组织切片观察。样品用FAA固定液固定24 h以上,70%乙醇冲洗,经过一系列脱水、透明、渗蜡、包埋后,制作成石蜡切片。用番红-固绿法染色,中性树脂封固,在光学显微镜下观察拍照。

1.5 数据处理

每组实验重复3次。所有实验数据用SPSS13.0软件进行统计分析。EXCEL2003作图。

2 结果与分析

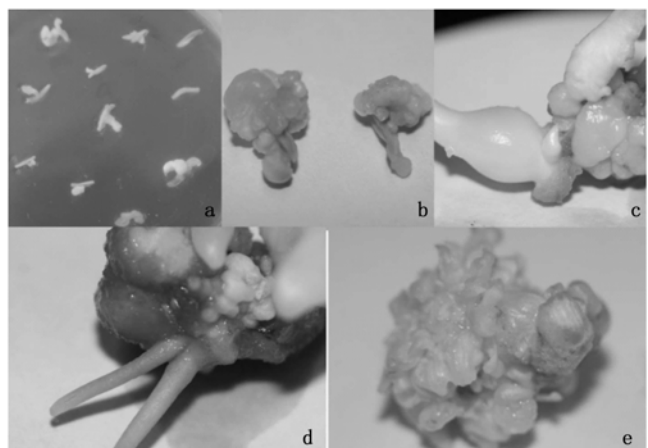
2.1 不同外植体愈伤组织的诱导

对花药、花梗、子房、花柄进行愈伤组织诱导实验,15 d观察统计愈伤组织分化与形态特征。结果表明:花药和花梗愈伤诱导均有肉眼可见的愈伤组织产生。其花药愈伤组织颜色为米黄色、致密,无水

渍状。花梗愈伤组织为白色、致密,并在外围处产生瘤状突起。花柄愈伤组织为水渍状,无分化能力。子房膨大,没有明显的愈伤组织出现。

2.2 花药愈伤组织诱导与分化培养基的筛选

花药在添加2,4-D的培养基上接种,10 d后在花丝连接处可见白色愈伤组织(图1-a)。添加NAA培养基则晚1周左右,需培养16 ~ 18 d可见愈伤组织。花药接种20 d愈伤组织的分化与诱导率结果(图2)表明:添加NAA的培养基愈伤组织诱导率是Ms-13最高,为56.79%,而添加2,4-D的培养基愈伤组织诱导率是Ms-5最高,为48.76%,明显低于添加NAA的培养基。因此,得到最优培养基配方为:MS + 2.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L⁻¹ NAA。将诱导的愈伤组织在原培养基上继续做愈伤分化培养,在培养90 d时,其表现为6-BA浓度低于0.5 mg · L⁻¹时,培养基中诱导分化出根状组织多(图1-d)。随着6-BA浓度的增加,其根状组织减少,开始芽的分化。当6-BA浓度继续升高到1.0 mg · L⁻¹时,分化出来的组织表现为类似叶或鳞片等不规则形态,但不形成球状鳞茎芽(图1-e)。6-BA浓度高于2.0 mg · L⁻¹的条件下,降低NAA浓度时分化不规则组织的现象更加明显,说明愈伤组织的分化可能与6-BA和NAA的比值存在关系。因此,确定最佳芽诱导培养基仍为MS + 2.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 1.0 mg · L⁻¹ NAA,该培养基中鳞茎芽再生率为20.6%(表3)。花药的愈伤组织诱导及再分化出鳞茎芽的时间大约需要80 ~ 90 d。(图1-a、b、c)



a 培养10 d的花药的愈伤组织;b 花药培养15 d愈伤组织的体积;c 花药分化的小鳞茎芽(90 d);d 花药诱导出的根状组织;e 花药诱导的不规则鳞片状组织

图1 花药愈伤诱导及鳞茎再生

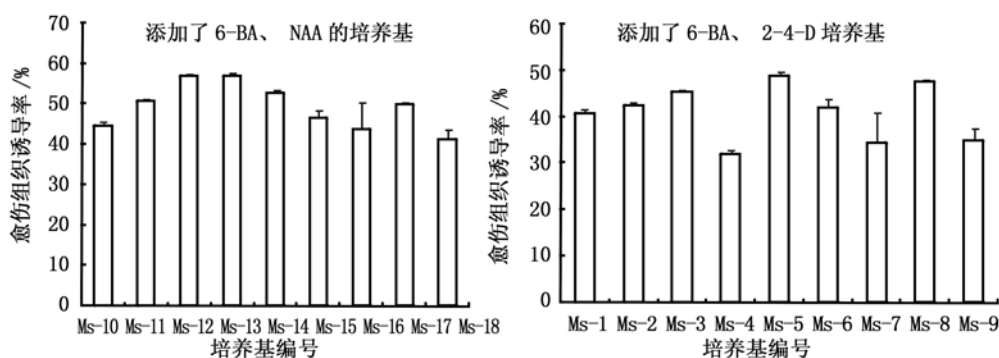


图2 不同培养基上花药愈伤组织诱导率的差异

表3 不同6-BA与NAA浓度对花药愈伤组织诱导鳞茎再生率的影响

| 培养基编号 | 浓度/(mg·L ⁻¹) | | 鳞茎芽再生率/% |
|-------|--------------------------|-----|----------|
| | 6-BA | NAA | |
| Ms-10 | 0.0 | 1.0 | 0.62a |
| Ms-11 | 0.5 | 1.0 | 3.10b |
| Ms-12 | 1.0 | 1.0 | 6.20c |
| Ms-13 | 2.0 | 1.0 | 20.60e |
| Ms-14 | 4.0 | 1.0 | 0.00a |
| Ms-15 | 0.5 | 0.5 | 10.10d |
| Ms-16 | 1.0 | 0.5 | 0.00a |
| Ms-17 | 2.0 | 0.5 | 0.63a |
| Ms-18 | 4.0 | 0.5 | 0.58a |

注:同列中不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

2.3 花梗愈伤组织诱导及分化培养基筛选情况

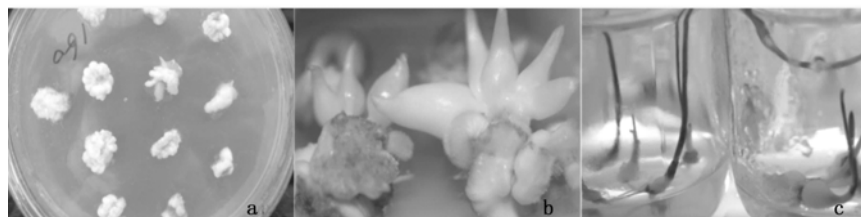
花梗外植体培养20 d,基部与培养基接触部位便形成黄色愈伤组织,且外围出现明显的白色瘤状突起(图3-a)。表4表明:在添加6-BA和NAA的不同培养基中,愈伤组织诱导率最高为16.05%,35 d后统计鳞茎再生率为13.58%,但培养过程中发现6-BA浓度稍高时有利于花梗愈伤组织的形成;因此在3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+1.0 mg·L⁻¹ NAA的培养基的基础上加入Ad和1 g·L⁻¹ NaH₂PO₄。表5表明:加入Ad后诱导率达43.33%,诱导率提高了近3倍。各个外植体在原激素浓度培养基中继续培养至

35 d,结果表明:Ad浓度过高不利于鳞茎芽的分化,Ad浓度高于250 mg·L⁻¹时会导致外植体褐变数增加。因此,筛选出花梗最佳愈伤组织诱导及分化的培养基为MS+1 g·L⁻¹ NaH₂PO₄+3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+1.0 mg·L⁻¹ NAA+200 mg·L⁻¹ Ad。花梗愈伤组织诱导到鳞茎芽分化的过程大约需要30~35 d,比花药缩短近60 d(图3-a、b、c)。

表4 不同浓度6-BA、NAA对花梗愈伤组织诱导率及鳞茎再生率的影响

| 培养基编号 | 浓度/(mg·L ⁻¹) | | 愈伤组织诱导率/% | 鳞茎再生率/% |
|-------|--------------------------|-----|-----------|---------|
| | 6-BA | NAA | | |
| M-1 | 1.0 | 0.5 | 5.56 ab | 1.11 ab |
| M-2 | 1.0 | 1.0 | 0.00 a | 0.00 a |
| M-3 | 1.0 | 2.0 | 0.00 a | 0.00 a |
| M-4 | 2.0 | 0.5 | 0.00 a | 0.00 a |
| M-5 | 2.0 | 1.0 | 9.52 bc | 5.95 bc |
| M-6 | 2.0 | 2.0 | 16.05 d | 13.58 d |
| M-7 | 3.0 | 0.5 | 3.33 a | 1.11 ab |
| M-8 | 3.0 | 1.0 | 12.50 cd | 9.72 cd |
| M-9 | 3.0 | 2.0 | 5.56 ab | 3.33 ab |
| M-10 | 4.0 | 0.5 | 4.60 ab | 2.30 ab |
| M-11 | 4.0 | 1.0 | 4.76 ab | 0.00 a |
| M-12 | 4.0 | 2.0 | 11.54 cd | 4.35 ab |

注:同列中不同字母表示处理间差异显著(P<0.05);鳞茎再生率为35 d后的统计结果。



a 培养15 d的花梗形成愈伤组织(白色瘤状凸起);b 培养35 d的花梗诱导出的小鳞茎芽;c 再生的小鳞茎

图3 花梗愈伤诱导及鳞茎再生

表5 不同浓度硫酸腺嘌呤(Ad)对花梗愈伤组织诱导率和鳞茎再生率的影响

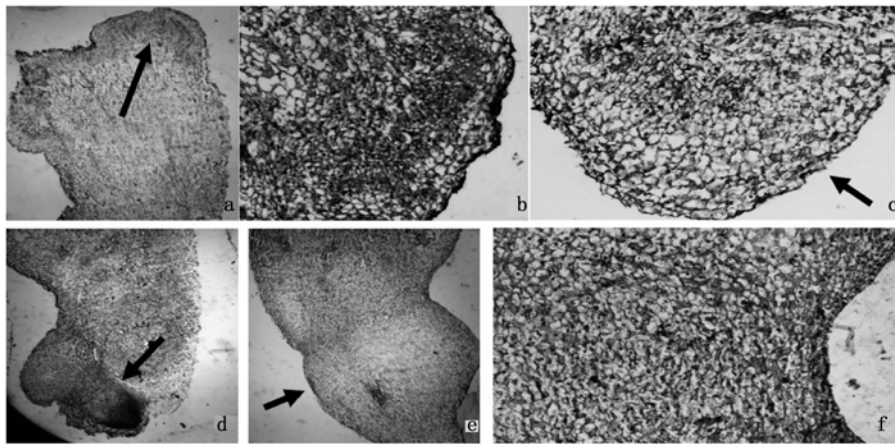
| 培养基编号 | Ad 浓度/(mg · L ⁻¹) | 愈伤组织诱导率/% | 鳞茎再生率/% |
|-------|-------------------------------|-----------|---------|
| M-13 | 200 | 43.33b | 43.33c |
| M-14 | 250 | 22.92a | 22.92b |
| M-15 | 300 | 24.24a | 9.09ab |
| M-16 | 350 | 41.67b | 0.00a |
| M-17 | 400 | 17.54a | 0.00a |

注:同列中不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

2.4 花梗愈伤组织诱导过程中组织细胞学的动态变化特征

花梗诱导愈伤组织过程中,对培养不同时期的

组织结构切片进行观察,以了解组织与细胞的形态特征。培养 10 d,外植体与培养基接触部位细胞开始迅速分裂,形成了愈伤组织(图 4-a、b、c);培养 20 d,靠近花梗外表皮部位的愈伤组织细胞继续分裂,形成可视突起(图 4-d);培养 30 d,可见球状鳞茎芽再生体(图 4-e),形成的鳞茎芽基部细胞体积小,细胞核大而浓,说明仍在继续分裂以形成完整的鳞茎组织(图 4-f)。没有与培养基接触的部位细胞体积变大,细胞核消失,没有继续发育的迹象,这可能是它们为愈伤组织诱导及愈伤组织分化提供营养后死亡(图 4-d)。



a 培养 10 d 的花梗诱导产生愈伤组织;b 处于分化状态的愈伤组织细胞;c 形成瘤状凸起;
d 培养 20 d 形成小鳞芽;e 培养 30 d 已形成鳞茎球;f 小鳞茎基部旺盛分裂的细胞(圆圈内)
(放大倍数:a、d、e, ×4;b、c、f, ×10)

图4 花梗愈伤组织诱导及分化

3 结论与讨论

中国水仙的离体培养,多是直接从外植体诱导不定芽^[3],但作为转基因的受体,最适宜的途径还是愈伤组织诱导。本研究结果显示:花药和花梗均可以诱导愈伤组织并进行鳞茎芽的分化,且每块愈伤组织分化芽数量为 3~5 个。在理论上这 2 种外植体均可用作转基因的受体,但花药愈伤组织诱导到鳞茎芽再生需要的时间较长,其间鳞茎芽的分化必须经过相当长的时间进行愈伤增殖,即需要一定的营养积累^[12]。只有当愈伤组织生长到直径约 1.5~2.0 cm 时才有鳞茎芽的分化;并且花药愈伤组织继代困难,造成分化率较低;而花梗却不需要愈伤增殖的过程,将花梗切段按极性方向接种在适宜的培养基上,分化率可达 43.33%,再生率完全达到转基

因受体的要求。其愈伤组织诱导到鳞茎球的分化一共需要 35 d 左右,基本解决了愈伤继代的问题,并且缩短了小鳞茎再生的时间,提高了小鳞茎的再生效率。这与前人关于花梗的研究报道相比是一个重大突破^[13-14]。

本研究中花梗具有很强的愈伤组织诱导及再生能力,是因为培养基中添加了 Ad。秦凡等^[15]、崔广荣等^[16]对蝴蝶兰的快繁研究中添加了 Ad 后效果很好,发现 6-BA 在促进蝴蝶兰体细胞胚胎发生过程中起着决定作用,且 6-BA 在较高浓度下与 Ad、NAA 相互配合使用时可以获得高效的胚状体诱导体系。另外,崔广荣等^[17]发现,6-BA 和 Ad 的配合使用对文心兰原球茎的诱导、增殖和对丛芽的诱导、增殖都有较强的“加性效应”。本研究采用了相似配比,得到了相似的结论,从而可以证明 6-BA 与 Ad 的合理组

合对中国水仙花梗愈伤组织诱导、鳞茎芽的分化也有很好的促进及增殖效应。

花梗组织中蕴含更多外植体发育所需要的营养物质,不需要靠愈伤组织增值来提供。这与花药再生情况相比十分优越;并且花梗愈伤组织分化率很高,在适合的培养基中愈伤组织分化率几乎达到100%。这与前人对洋葱(*Allium epa* L.)^[18]和孤挺花(*Amaryllis belladonna* (Ait.) Herb)^[19]的研究结果类似。因为植物在开花前小花都是由花梗部位发育来的,所以花梗具有很强的分化能力,且花梗取材容易,材料量较本研究中的其他花器官大。本研究中,花梗愈伤组织诱导分化的组织学分析表明了鳞茎芽的发育过程,即从愈伤组织诱导到愈伤组织分化为鳞茎芽是一个连续的过程,证实了小鳞茎的真正来源,确定了花梗作为遗传转化研究受体的重要意义;而且一块愈伤组织可诱导出约5个鳞茎芽,诱导效率很高。本文的研究结果表明:花梗更有利于作为转基因受体,从而解决了中国水仙转基因研究过程中的一个瓶颈问题。

参考文献:

- [1] 张清国,黄敏玲,叶秀仙. 中国水仙花药培养及植株再生体系建立[J]. 分子植物育种, 2010, 8(2):399-404
- [2] 陈林姣,缪颖,陈德海,等. 中国水仙种质资源的遗传多样性分析[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2002, 41(6):810-814
- [3] 栾爱业,徐海峰,曾黎辉. 中国水仙生物技术研究进展[J]. 生物技术, 2006, 16(6):77-80
- [4] 黄双龙,赖钟雄. 水仙花生物技术研究进展[J]. 亚热带植物学, 2007, 36(3):74-79
- [5] 王瑞,张亚楠,王雅英,等. 中国水仙六倍体的诱导和染色体数目的变异[J]. 分子细胞生物学报, 2007, 40(3):263-270
- [6] 陈段芬,高健,彭镇华. 水仙属植物研究进展[J]. 林业科学, 2008, 44(3):140-146
- [7] 庄晓英. 中国水仙遗传转化及离体诱变的研究[D]. 杭州:浙江大学,2005
- [8] 蔡文燕. 根瘤农杆菌介导人乳铁蛋白基因转化中国水仙的初步研究[D]. 福州:福建师范大学,2005
- [9] 邹清成,庄晓英,卢钢,等. 反义PSY基因植物表达载体的构建及其对中国水仙的转化[J]. 浙江林业科技, 2006, 26(3):25-30
- [10] 谢嘉华,袁建军. 中国水仙(*Narcissus tazetta* var. *Chinensis*)的组织培养[J]. 生物学杂志, 2002, 19(3):30-36
- [11] Gang Lu, Qingcheng Zou, Deping Guo, et al. Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* [J]. Plant Cell Reports, 2007, 26:1585-1593
- [12] LinJiao Chen, XueYi Zhu, Li Gu, et al. Efficient callus induction and plant regeneration from anther of Chinese narcissus (*Narcissus tazetta* var. *chinensis*) [J]. Plant Cell Reports, 2005, 24:401-407
- [13] 洪维廉,沈明山,郭洁,等. 中国水仙花梗组织培养及脱分化的电镜观察[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 1993, 32(增刊1):117-122
- [14] 栾爱业. 中国水仙不同花器官离体培养和鳞茎盘EMS离体诱变的研究[D]. 福州:福建农林大学,2008
- [15] 秦凡,周吉源. 不同生长调节剂对蝴蝶兰快速繁殖的影响[J]. 武汉植物学研究, 2003, 21(5):452-456
- [16] 崔广荣,侯喜林,张子学,等. 蝴蝶兰叶片离体培养胚状体的发生及组织学观察[J]. 园艺学报, 2007, 34(2):431-436
- [17] 崔广荣,刘士勋,何玉华,等. 文心兰试管苗丛生芽高效增殖体系的建立[J]. 西北植物学报, 2005, 25(3):562-567
- [18] Pike L M, Yoo K S. A tissue culture technique for the clonal propagation of onion using immature flower buds[J]. Scientia Horticulturae, 1990, 45:31-36
- [19] De Bruyn M H, Ferreira D I, Slabbert M M, et al. In vitro propagation of *Amaryllis belladonna* [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 1992, 31:179-184