

石刁柏花药培养植株群体的遗传多态性

沈光华

提 要 对芦笋(石刁柏)5个品种花药离体培养的植株进行了倍性鉴别,统计分析表明:花药培养植株群体倍性间的变异差异极显著($p < 0.01$).其中,单倍体占2.1%,二倍体占67.0%,多倍体占23.9%,非整倍体占6.4%.但各品种间的倍性频率差异不显著($p > 0.05$).此外,讨论了遗传多态性表现中的若干问题.

关键词 芦笋;品种;花药培养;倍性;频率

中图法分类号 Q343

0 引 言

石刁柏(*Asparagus officinalis*),俗称芦笋,百合科.经测定,芦笋富含多种氨基酸、蛋白质和维生素.特别是芦笋中的天冬酰胺和微量元素硒、钼、铬、锰,具有调节机体代谢,提高机体免疫力的功效,对高血压、心脏病和癌症的预防和治疗具有特别的药理效应.因此,芦笋作为高级营养蔬菜和保健食品,深受消费者的欢迎.

芦笋是典型的雌雄异株植物,用有性杂交方法来改良和提高芦笋种性,培养新品系,程序复杂,周期很长,一个新品种从培育到推广,一般需要20年时间^[1].70年代起,离体培养技术特别是花药培养技术的研究和发展,为芦笋新品系的选育开辟了新途径.它克服了有性杂交带来的种子量少、遗传性不一的弊病,简化了选育程序,大大加快了芦笋品系的选育速度.目前在国际上,先进国家已将花药培养这一细胞工程技术作为芦笋育种中的重要手段.国内近年来刚开始研究利用此项技术解决芦笋育种问题.

1993年,我们利用离体培养技术获得了芦笋的花药植株^[2],并对花药培养植株群体进行了遗传多态性研究,取得了初步结果.

1 材料与方 法

1.1 鉴定材料

利用芦笋不同品种花药离体培养的植株,品种分别为:UC72,UC157,UC309,UC711,

收稿日期:1995-04-25

作者沈光华,男,副教授,上海师范大学生物系,上海,200234

MW500. 每品种取样鉴定株数在50株左右.

1.2 鉴定时期

每品种分别在愈伤组织分化出正常根、芽一个月,待试管苗长达10~15cm左右,移栽前取样.

1.3 鉴定方法

取培养植株根长1~2cm时的根尖,材料置0~3℃蒸馏水中预处理24h,再经卡诺氏液中固定12~24h,洗涤后置于1mol/L盐酸(HCl)中,60℃下处理10~15min.用改良苯酚品红染色,压片法显微观察和照相.

1.4 资料统计

每份样品观察统计100~150个细胞,计算各类型细胞所占百分比.统计资料经反正弦 $\theta = \sin^{-1} \sqrt{p}$ 转换后用L. S. R.法进行方差分析^[3].

2 结果

2.1 花药培养植株群体的倍性表现

对花药培养植株的根尖细胞学观察显示,花药培养植株群体的倍性表现较复杂,变异范围大.在各个品种的花药植株中都观察到单倍体(图1,2)、二倍体(图3,4)、多倍体(图5)及非整倍体(图6)的类型.表1显示了5个品种花药植株的倍性变异情况.

表1 5个品种花药植株的倍性频率统计(%)

品 种	单倍体	二倍体	多倍体	非整倍体
MW500	2.1	64.6	25.0	8.3
UC72	3.6	70.9	23.7	1.8
UC157	1.9	67.3	23.1	7.7
UC309	2.0	61.2	28.6	8.2
UC711	3.8	71.2	19.2	5.8
平 均	2.7	67.0	23.9	6.4

统计显示,5个品种花药植株群体的单倍体($n = 10$)比例都较低,平均为2.7%,变异幅度1.9~3.8%;二倍体($2n = 20$)比例较高,平均为67.0%,变异幅度61.2~71.2%;多倍体($2n = 40$)平均为23.9%,变异幅度19.2~28.6%;非整倍体(14~17%)平均为6.4%,变异幅度1.8~8.3%.

2.2 不同品种的花药植株倍性比较

为便于分析,将表1资料经反正弦转换后进行了方差分析.表2显示5个品种间的倍性变异无实质性差异($F = 0.06, p > 0.05$),也即在花药培养植株群体中的倍性差异,在各个品种中都以相似的比例发生.

表2 方差分析表

变异来源	SS	df	MS	F	$F_{1/2}^2(0.05)$	$F_{1/2}^2(0.01)$	$F_{1/2}^3(0.05)$	$F_{1/2}^3(0.01)$
品种间	2.4	4	0.6	0.06	5.9	14.37	8.74	27.05
倍性间	6322.7	3	2107.6	211.82**				
误差	119.4	12	9.9					
总变异	6444.5	19						

2.3 不同倍性的花药培养植株比较

表2同时显示,由5个品种组成的花药培养植株群体表现的倍性间的差异是极为显著的($F = 211.82, p < 0.01$).将统计资料进一步用L.S.R.测验法进行了多重比较(表3).表3显示,在花药培养植株群体中,二倍体产生的频率最高,依次为多倍体、非整倍体及单倍体.同时还显示,不同倍性间的差异均为极显著($p < 0.01$)或显著($p < 0.05$).

表3 不同倍性间的差异比较

倍性	平均值	互比差数		
二倍体	55.0			
多倍体	29.2	25.8**		
非整倍体	14.2	40.8**	15.0**	
单倍体	9.3	45.7**	19.9**	4.90*

* 5%显著平准

** 1%显著平准 平均数为反正弦转换后数据

3 讨论

3.1 倍性多样化的产生

关于花药培养诱导植株的研究中,国内外已在水稻^[4]、烟草^[5]、三叶橡胶^[6]等多种作物上报道过发生倍性变异的例子,在芦笋上也有相同报道^[6].试验中观察到倍性变异的相似情况.我们认为,在花粉启动分裂形成愈伤组织的过程中,由于核内有丝分裂不正常,核分裂和核膜形成不同步,核内再复制和核融合现象均可造成花粉细胞的倍性多样化.

3.2 二倍体占多数的原因

试验中,获得的单倍体植株为2.7%,二倍体植株为67.0%,与文^[6]中获得的比例相似.为什么二倍体植株的比例要占群体的2/3左右呢?我们认为有如下原因:(1)花粉单倍体细胞在培养过程中,核内复制所引起的自然加倍的结果.图7为同一培养植株中,不同倍性细胞共存的一个例子,说明单倍体细胞($n = 10$)在离体培养过程中可以发生自然加倍.(2)由培养花药的药壁、药隔、花丝等二倍体细胞($2n = 20$)诱导形成的再生植株.因此,在二倍体花药植株群体中,既有生殖细胞(花粉)再生来的植株,又有体细胞诱导再生来的植株.

对芦笋花药植株群体的遗传多态性的初步研究证明,花药培养植株的倍性呈现了多样化,成株的单倍体状态已较少,大部分表现为二倍体.而在二倍体群体中,对生殖细胞诱导的再生植株还需采取措施加以鉴别.

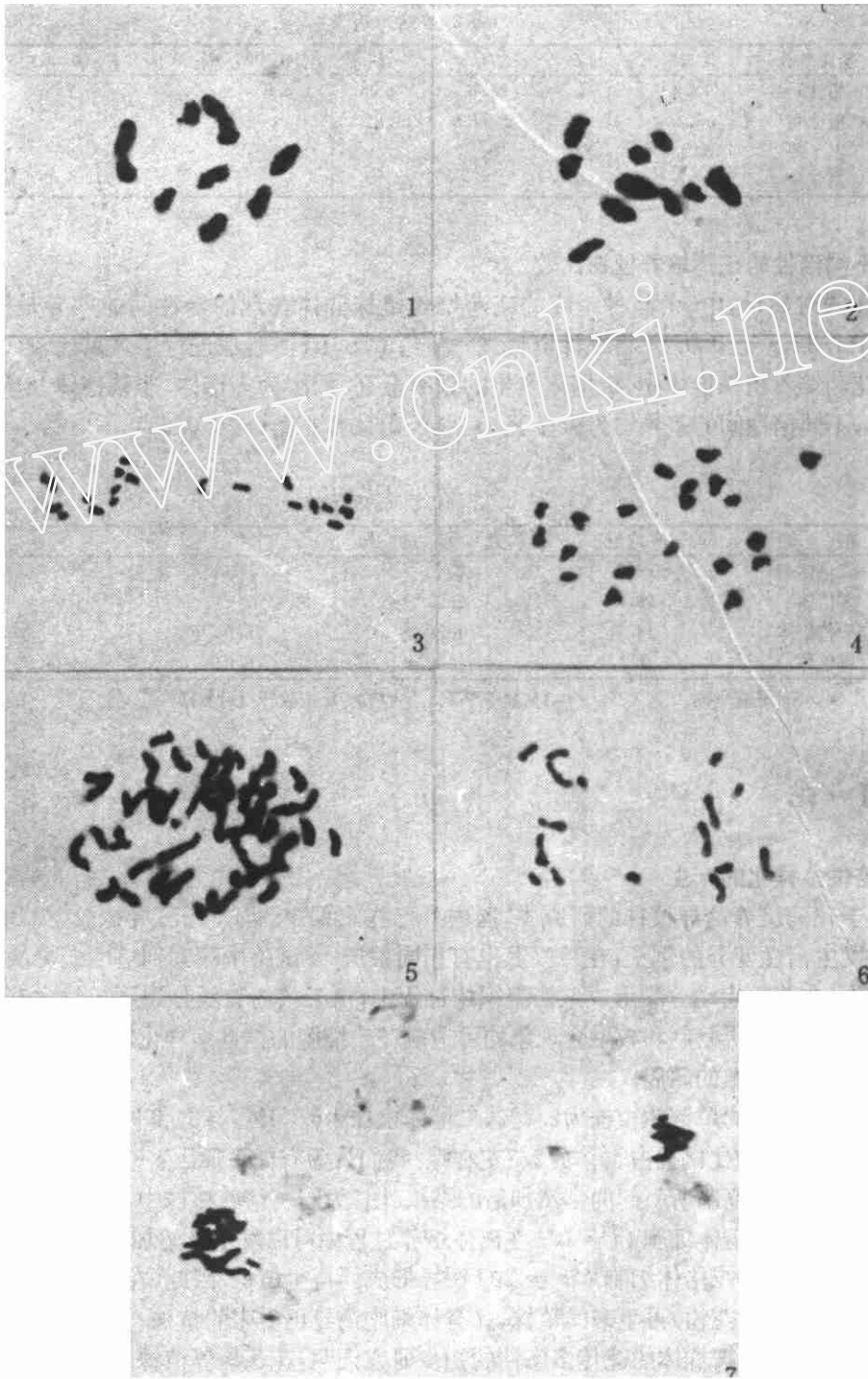


图 1~2 单倍体($n=10$), 图 3~4 二倍体($2n=20$), 图 5 多倍体($2n=40$),
图 6 非整倍体(16), 图 7 同一培养植株中细胞的不同倍性(左: 二倍体, 右: 单倍体)

参 考 文 献

- 1 周维燕. 芦笋组织培养及育种中的应用. 北京: 高等教育出版社, 1992
- 2 沈光华等. 石刁柏花药离体培养若干因素的探讨. 上海师范大学学报, 1995, 24(1): 50~54
- 3 童一中. 生物统计法. 长沙: 湖南科技出版社, 1987
- 4 Nizeki H, Oeno K. Induction of rice plant from anther culture. Proc Japan Acad, 1968, 44: 554~557
- 5 中科院植物研究所. 单倍体育种资料集. 第一集. 北京: 科学出版社, 1972
- 6 中国遗传学会. 中国的遗传学研究. 长沙: 湖南科技出版社, 1987

Genetic Polymorphism of Plant Population from Anther Culture in *Asparagus officinalis* L

Sheng Guanghua
(Department of Biology)

Abstract The ploidy of plant population in *Asparagus* anther culture in vitro of five varieties was distinguished. The results obtained from the analysis of variance are as follows: there is significant differences in frequency among different ploidy of anther plants ($p < 0.01$). In which, haploid is 2.7%, diploid is 67.0%, polyploid is 23.9%, aneuploid is 6.4%. But there is no significant differences in frequency among different varieties ($p > 0.05$). In addition, some questions on genetic polymorphism were discussed.

Key words *Asparagus*; variety; anther culture; ploidy; frequency