

•组织培养简讯•

花烛离体培养叶色变异株系的相关性状

徐彬¹, 辛伟杰¹, 王广东^{1*}, 郭维明¹, 文方德², 金剑平²

¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²珠海市园艺研究所, 珠海 519070

摘要 以花烛(*Anthurium andraeanum*)间接器官发生途径中再生出一株花叶变异植株为原始材料, 进行增殖并对得到的3个叶色变异株系的叶色相关性状进行了初步研究。结果表明: 通过愈伤组织器官发生途径和腋芽增殖途径对这一花叶苗进行增殖, 均分离到3种变异株系, 即花叶苗、黄化苗和天鹅绒绿色叶片苗; 天鹅绒绿色苗叶片中的叶绿素含量比正常离体苗的含量低; 叶片解剖结构表明, 叶绿体在叶肉细胞中的分布与其叶片表现型相同, 天鹅绒绿色叶片与正常叶片在解剖结构上无明显差异。花烛原套只具有1层细胞, 无明显的L2层分生结构, 因此叶肉的薄壁细胞完全由向各个方向分裂的原体细胞发育而来, 这种组织结构导致花叶叶片中含有叶绿体的细胞和不含有叶绿体的薄壁细胞呈不规则分布。这种花叶株系可以作为育种材料或直接作为盆栽花烛进行推广。

关键词 花烛, 叶色变异, 叶绿素含量, 解剖结构

Characteristics of Chimeras of *Anthurium andraeanum* from *in vitro* Mutation

Bin Xu¹, Weijie Xin¹, Guangdong Wang^{1*}, Weiming Guo¹, Fangde Wen², Jianping Jin²

¹College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

²Zhuhai Institute of Horticulture, Zhuhai 519070, China

Abstract One variegated plantlet resulting from chlorophyll loss of partly parenchymal tissue was obtained from the adventitious shoots regenerated from callus of *Anthurium*. Three types of chimeras were achieved in the process of propagation by indirect shoot regeneration via callus or axillary bud emergence, namely variegated types, albino types, and jade-green types, in which the chlorophyll content was lower than that of the normal *in vitro* plantlets. Anatomy structure of leaves indicated the consistency of phenotypes and chlorophyll distribution but little difference between the jade-green leaf and the normal leaf. One cell layer constitutes the tunica, and thus no L2 layer can be defined. So all the parenchymal cells were derived from meristem cells in corpus, which divided in all directions. This tissue structure explains the irregular distribution of parenchymal cells containing chloroplasts or not. The chimeras, especially the variegated plantlets, might be potential breeding materials or new cultivars.

Key words *Anthurium andraeanum*, leaf color mutation, chlorophyll content, anatomy structure

花烛(*Anthurium andraeanum*)为天南星科 (Araceae)花烛属(*Anthurium*)多年生草本花卉,

收稿日期: 2006-01-16; 接受日期: 2006-07-07

基金项目: 国家自然科学基金(No. 30300244)和广东省科技厅项目(No. K130532002-1-4)

* Author for correspondence. E-mail: gdwang@njau.edu.cn

其佛焰苞色泽艳丽, 色彩丰富, 瓶插期长, 叶片也具有一定观赏价值, 目前已成为仅次于热带兰的第二大热带观花观叶花卉(Laws and Galinsky, 1996)。花烛的新品种主要由 Anthura 和 AVO 等公司推出, 例如 Anthura 公司每年进行 6~8 个新品种的选育工作, 而每推出一个新品种大约需要 8~10 年(Laws and Galinsky, 1996; Marco 和夏绿蒂, 1999)。其具体种质资源收集、利用和育种手段等鲜有报道。除常规育种手段以外, 转基因技术和离体变异筛选也为创造更具有特殊优良性状的花烛品种提供新的途径。

2004 年 2 月, 我们在进行花烛品种 Sonate 的离体培养中发现, 由愈伤组织再生的无菌苗中出现上部叶色变异现象, 表现为黄绿相间的部分嵌合体(sectorial chimera)。通过两种增殖方式(间接器官发生和腋芽增殖)对该变异株系进行培养, 获得 3 种性状的叶色突变株系, 即花叶苗、黄化苗和天鹅绒绿色叶片苗, 对这 3 个株系的叶绿素含量和解剖结构等进行了初步研究, 研究结果为进一步稳定其突变性状, 并合理利用这一新种质提供了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

花烛(*Anthurium andraeanum*)品种 Sonate 的变异株系为初始试验材料, 以该变异株系增殖获得的 3 种叶色变异株系(花叶苗、黄化苗和天鹅绒绿色叶片苗)为供试材料。

1.2 两种增殖方式对变异株系性状的影响

将花叶变异株系通过腋芽发生途径增殖,

同时取变异叶片通过愈伤组织和不定芽再生途径增殖。比较两种增殖途径对花叶性状保持的影响。

1.3 变异株系叶绿素含量的差异

取经过增殖得到的变异株系(天鹅绒绿色叶片系和黄化叶系)和正常叶色无菌苗的叶片(图 1A~F), 采用丙酮法提取叶绿素并测定其含量(张宪政, 1985)。

1.4 变异株系叶片解剖结构的差异

将 3 个变异株系的叶片和正常无菌苗的叶片用 FAA 固定, 4℃ 下保存 24 小时以上, 70% 乙醇冲洗, 经过一系列的脱水、透明、渗蜡及石蜡包埋程序, 进行石蜡切片, 切片厚度为 8 μm, 番红和固绿染色, 中性树胶封片, 具体方法参考李正理(1996)的切片方法进行, Olympus BH-2 光学显微镜下观察并拍照。

1.5 花烛叶原基起源的解剖结构观察

将花烛茎尖用 FAA 固定, 采用石蜡切片法制作切片, 并拍照(具体步骤同上)。

2 结果与讨论

2.1 两种增殖方式对变异株系性状的影响

由表 1 结果可知, 通过愈伤组织再生不定芽途径和腋芽发生途径对花叶变异株系进行增殖均导致花叶性状的分离, 产生只具有黄化叶或天鹅绒绿色叶片和花叶的植株。其中, 只具有黄化叶的植株矮生, 生长较慢; 具有花叶性状的植株矮壮, 生长速度略低于正常苗; 只具有天鹅绒绿色叶片的植株生长正常。3 种变异株系都具有正常的根系。离体条件下体细胞无性系

表 1 两种增殖方式对花烛变异株系性状的影响

Table 1 Effects of two different propagation ways on the characteristics of <i>Anthurium andraeanum</i> chimeras					
Types of leaf color	Plantlets regenerated		Plantlets gained from		Note
	from calli		axillary buds		
	Number	Percentage (%)	Number	Percentage (%)	
Normal leaf	0	0	0	0	Normal plantlets
Variegated leaf	36	45.6	15	38.5	Stout plantlets with normal roots
Jade-green leaf	17	21.5	7	17.9	Normal plantlets
Albino leaf	26	32.9	17	43.6	Short plantlets with normal roots

变异的发生是一种普遍现象(Chawla, 2004)。本研究最初得到的花烛花叶嵌合体变异株是通过间接器官发生途径获得,表明经间接器官发生途径再生的植株存在一定的变异率。利用间接器官发生途径进行体细胞无性系变异诱导也可以作为花烛育种的有效途径(Burge et al., 2002)。

2.2 变异株系叶片叶绿素含量的差异

由表 2 结果可知,变异类型的叶绿素含量与表现型一致(图 1)。其中,天鹅绒绿色苗叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总含量比正常叶的低。黄化叶中的叶绿素 a、叶绿素 b 和

叶绿素总含量极低。由于花叶苗中绿色和黄色斑纹所占比例不同,其叶绿素含量可能介于黄化叶和天鹅绒绿色叶之间,其含量有待测定。

2.3 变异株系叶片解剖结构差异

由图 2A 可知,正常叶的中脉部分不含有叶绿体,叶片上层薄壁细胞含有丰富的叶绿体,下层薄壁细胞含有少量叶绿体;天鹅绒绿色叶片苗的叶片结构与正常叶组织结构无明显差异;黄化苗叶片中不含有叶绿体或个别细胞内含有少量叶绿体;花叶苗叶片中不含有叶绿体的薄壁细胞呈不规则分布,与花叶性状的表现型相对

表 2 花烛不同叶片类型的叶绿素含量

Table 2 Chlorophyll contents of different types of leaves of <i>Anthurium andraeanum</i>			
Types of leaf color	Content of Chl a (mg·g ⁻¹)	Content of Chl b (mg·g ⁻¹)	Total content of Chl (mg·g ⁻¹)
Normal leaf	1.709 ± 0.043C	0.810 ± 0.012C	2.515 ± 0.056C
Jade-green leaf	1.462 ± 0.004B	0.667 ± 0.016B	2.160 ± 0.040B
Albino leaf	0.019 ± 0.002A	0.010 ± 0.000A	0.029 ± 0.004A

大写字母表示显著性水平(P=0.01) Capital letter indicate significance (P=0.01)

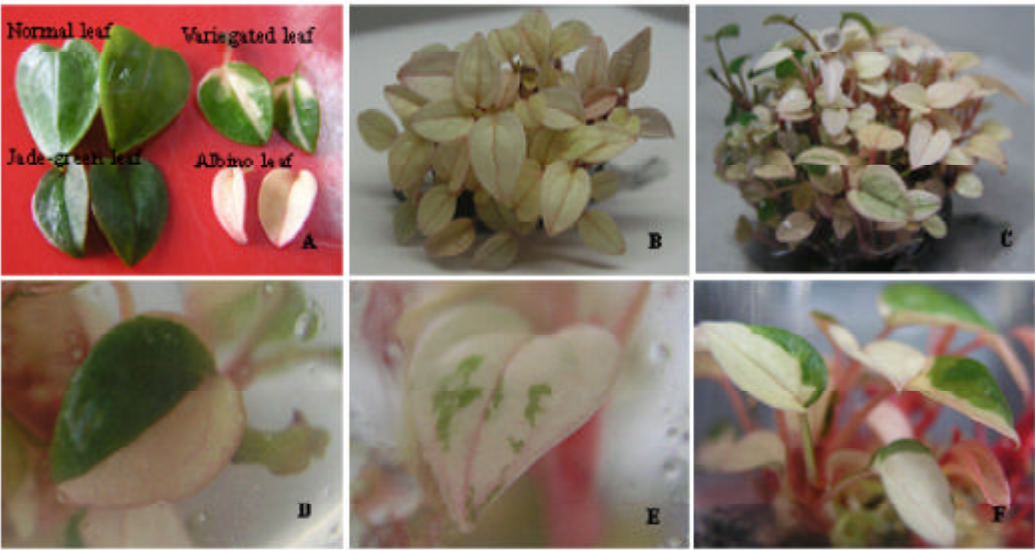


图 1 花烛变异株系的表现型

A. 正常苗、天鹅绒绿色苗、花叶苗和黄化苗的叶片; B. 生长势旺盛的黄化苗株丛; C. 由同一块愈伤组织再生出天鹅绒绿色苗、花叶苗和黄化苗; D~F. 不同斑纹的花叶

Fig. 1 Phenotypes of mutants of *Anthurium andraeanum*

A. Leaves of normal plantlets, jade-green plantlets, variegated plantlets, and albino plantlets; B. Vigorous albino plantlets; C. Jade-green plantlets, variegated plantlets, and albino plantlets regenerated from the same callus; D - F. Variegated leaves in different ways

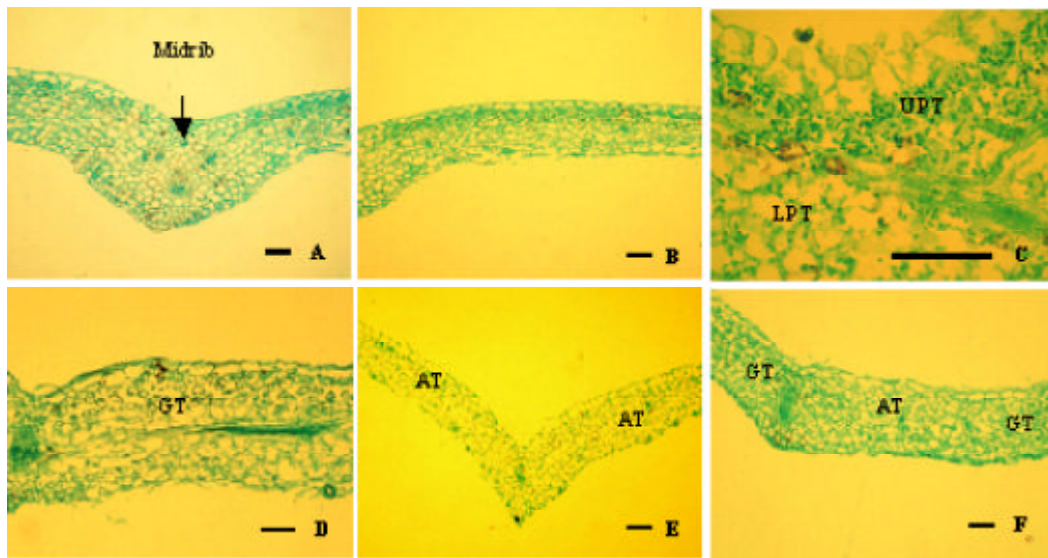


图2 花烛正常叶和变异叶的叶片解剖结构

A. 正常叶的中脉部分(示不含有叶绿体); B. 正常叶的叶片结构; C. 正常叶的叶片结构(示上层薄壁细胞含有丰富叶绿体; 下层薄壁细胞含有少量叶绿体); D. 天鹅绒绿叶的叶片结构(示与正常叶叶绿体构成相似); E. 黄化苗叶片结构(示不含有叶绿体); F. 花叶苗叶片结构 AT. 不含叶绿体的薄壁组织; GT. 含有叶绿体的薄壁组织; LPT. 下层薄壁细胞; UPT. 上层薄壁组织 (Bar = 0.1 mm)

Fig. 2 Anatomical structure of normal and mutant leaves of *Anthurium andraeanum*

A. Midrib of normal leaf (indicating midrib containing no chloroplast); B. Normal leaf tissue; C. Normal leaf tissue (indicating that upper parenchyma cells containing abundant chloroplasts while lower parenchyma cells containing few); D. Jade-green leaf tissue (indicating little difference can be observed from normal leaf); E. Albino leaf tissue; F. Variegated leaf tissue AT. Parenchyma tissue containing no chloroplast; GT. Parenchyma tissue containing chloroplast; LPT. Lower parenchyma tissue; UPT. Upper parenchyma tissue (Bar = 0.1 mm)

应(图1)。

2.4 花烛叶原基起源的解剖结构观察

通常叶片由顶端分生组织的原体和原套分化而来。花烛芽原基的原套由1层细胞构成, 只进行垂周分裂, 增加茎尖的表层面积, 并在特定生长阶段发生特异的垂周分裂, 使叶原基与芽原基分离; 原体由数层排列不规则并可以向各个方向进行分裂的细胞构成, 原体细胞的分裂增加了茎中心的体积(图3A~C)。根据 Satina 和 Blakeslee 提出的顶端分生组织的原套-原体学说(tunica-corpus theory), 被子植物茎顶端分生组织分为2个区, 即排列规则且主要进行垂周分裂的原套(包括L1和L2层)和排列不规则、可

以进行各种方向分裂的原体(包括L3层)(Szymkowiak and Sussex, 1996; Bowman and Eshed, 2000; 李明银和何云晓, 2005)。其中L1分化为表皮, L2产生栅栏组织和叶片边缘的所有海绵组织, L3产生海绵薄壁组织的上层和中层, 对叶片边缘无影响(周焱等, 1999; Carles and Fletcher, 2003)。根据切片观察发现, 花烛原套只有1层细胞, 即不存在明显的L2层(图3), 因此, L3层中能够向各个方向分裂、具有不同起源的细胞在形成成熟的叶原基薄壁细胞过程中, 具有完整叶绿体功能的细胞和不具有这种功能的细胞在薄壁组织中呈不稳定的分布。不同起源的分生细胞在原体中的不同组成比例导致

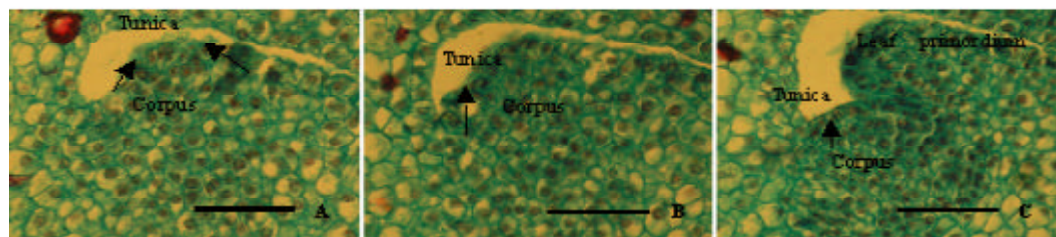


图3 花烛叶原基的形成过程

A. 未形成叶原基的顶端分生组织; B. 开始形成叶原基的顶端分生组织; C. 形成叶原基的顶端分生组织。
(Bar = 0.1 mm)

Fig. 3 Leaf primordium forming process of *Anthurium andraeanum*

A. Shoot primordium without leaf primordium formation; B. Shoot primordium with leaf primordium forming;
C. Shoot primordium with leaf primordium formed. (Bar = 0.1 mm)

了成熟叶片中黄绿斑块面积各异。此外,在相同培养条件下,天鹅绒绿色苗与正常苗之间的叶色差异也可能为突变的结果。3种叶色变异株系的叶色形成、叶片发育以及遗传机制尚需进一步深入研究。目前,国内外市场尚鲜见具有花叶性状的花烛品种。本研究中培养出的3种类型变异株系均能够通过器官发生途径离体再生和繁殖,并形成正常的根系,保持一定的生活力,说明3种变异株系,特别是花叶嵌合变异株系,有希望在育种上作为母本材料或直接作为栽培品种应用。

参考文献

- 李明银, 何云晓 (2005). 植物遗传嵌合体及其在观赏植物育种中的应用. 植物学通报 22, 641-647.
- 李正理 (1996). 植物组织制片学. (北京: 北京大学出版社), pp. 130-139.
- 张宪政 (1985). 植物叶绿素含量测定方法比较研究. 沈阳农学院学报 4, 81-85.
- 周焱, 周厚高, 张西丽 (1999). 观赏植物花叶现象研究

现状. 广西农业生物科学 18, 304-309.

- Marco, V.H., 夏绿蒂 (1999). 火鹤新品种介绍及栽培技术研讨会. 园艺之友(台湾) 75, 20-25.
- Bowman, J.L., and Eshed, Y. (2000). Formation and maintenance of the shoot apical meristem. Trends Plant Sci. 5, 110-115.
- Burge, G.K., Morgan, E.R., and Seelye, J.F. (2002). Opportunities for synthetic plant chimeral breeding: past and future. Plant Cell Tissue Organ Cult. 70, 13-21.
- Carles, C.C., and Fletcher, J.C. (2003). Shoot apical meristem maintenance: the art of a dynamic balance. Trends Plant Sci. 8, 394-401.
- Chawla, H.S. (2004). Introduction to plant biotechnology (2nd edition). (Beijing: Science Press), pp. 110-122.
- Laws, N., and Galinsky, B. (1996). Anthurium world market survey. Floraculture Intl. 6, 21-23.
- Szymkowiak, E.J., and Sussex, I.M. (1996). What chimeras can tell us about plant development. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47, 351-376.

(责任编辑: 孙冬花)