

韦庆华,周玉珍,娄晓鸣,等. 朱顶红新品种苏红离体增殖的影响因素[J]. 江苏农业科学,2015,43(3):36-38.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.03.011

朱顶红新品种苏红离体增殖的影响因素

韦庆华^{1,2},周玉珍^{2,3},娄晓鸣^{2,3},吕文涛^{2,3},蒋长松^{2,3},周渊文⁴

(1. 苏州星火园艺科技开发中心,江苏苏州 215008;2. 江苏省农业种质资源保护与利用平台球根资源圃,江苏苏州 215008;

3. 苏州农业职业技术学院,江苏苏州 215008;4. 苏州景盛绿化有限公司,江苏苏州 215008)

摘要:以朱顶红苏红的母株小鳞茎为外植体,通过在培养基中添加不同浓度组合的生长调节物质与抗褐化、污染的紫薯提取液、甲基紫提高增殖系数、降低褐化与污染。结果表明:在 MS + 6 - BA 2.0 mg/L、NAA 0.01 mg/L + 0.01 g/L 甲基紫培养基中,增殖系数最高,可达 11.4,并能有效控制真菌污染和褐化。在继代培养 1 ~ 13 代时,增殖系数基本保持在 9 ~ 11,继代 14 次以后增殖系数明显降低。

关键词:朱顶红苏红;离体增殖技术;甲基紫;褐化现象;增殖系数;外植体;生长调节;真菌污染;继代培养

中图分类号: S682.2⁺50.4⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)03-0036-02

朱顶红为石蒜科朱顶红属多年生鳞茎类草本植物,近几年作为高档盆栽花卉品种的种球都从国外引进^[1],我国缺少自主知识产权的品种与配套的规模化离体繁殖技术。苏州农业职业技术学院长期从事朱顶红品种资源引进与选育研究,近年从杂交后代中筛选出一批优良单株,通过分生扩繁形成株系,有些品系通过了江苏省农作物品种审定委员会的鉴定,其中朱顶红新品种苏红(*Hippeastrum hybridum* cv. Suhong)以其花大色艳且重瓣而深受市场青睐,因此离体快繁技术成为该新品种种球生产的关键技术。本试验通过对朱顶红新品种苏红离体增殖技术研究,为朱顶红种球的大量繁殖提供技术依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

外植体材料取自朱顶红新品种苏红种球,该品种花色草莓红(RAL3018)和纯白色(RAL9010)相间,重瓣,花瓣 18 ~ 20 瓣,冠径 18 cm,小花数 4 朵,株高 32 cm,花期 4—5 月。试验在苏州农业职业技术学院相城科技园组培室内进行。

1.2 方法

1.2.1 初代培养 春季取母球侧边新长出的小籽球,洗净,剥除外层的鳞片,保留 1 ~ 2 张长约 2 cm 的嫩叶,用洗衣粉将鳞茎清洗干净后,在流水下冲洗 1 h,用滤纸吸干表面水分后进行初代消毒处理,在超净工作台上用 75% 乙醇浸泡 30 s,倒出乙醇,再倒入 0.1% 氯化汞浸泡 12 min,用无菌水清洗 5 次,将小籽球的鳞茎横切成带鳞茎盘的 0.5 cm 小块接入初代培养基 MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 中,在培养室

中培养^[2],平均 50 d 转接 1 次,经 3 次同一培养基转接培养,球径长至 0.4 ~ 0.5 cm 时转入增殖培养基中,培养条件为:温度(25 ± 1) °C,光照 12 h/d,光照度 3 000 lx 左右。

1.2.2 继代(增殖)培养 将初代培养的小球茎转入添加不同生长调节物浓度的增殖培养基(MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L、MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L、MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L、MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L)中,将初代培养的种球按四分法切割,每小切块带有部分鳞茎盘,50 d 后对增殖系数与生根数进行统计。每瓶增殖系数 = 增殖后球茎发生数量/接种数,每处理统计 10 瓶,用于数据分析。

1.2.3 紫薯提取液制作与甲基紫添加方法 紫薯提取液制作方法参考 Lu 等的方法^[3]并进行改良。称取 250 g 紫薯 + 750 g 纯净水,先将称好的紫薯微波炉煮熟,紫薯和纯净水混合煮沸 10 min,将紫薯碾碎后与同煮的水混合,用 80 目筛过滤混合液,得过滤液 400 mL。紫薯液添加量分别为 0、50、150、200 mL/L,加入增殖培养基中备用,用增殖培养基添加 0.01 g/L 甲基紫作为对照,每处理 50 瓶,转接 30 d 后对培养瓶苗的污染与褐化率进行统计,50 d 后统计增殖生长情况。

2 结果与分析

2.1 不同生长调节剂对鳞茎增殖的影响

把鳞茎切割小块转接在添加不同生长调节剂的增殖培养基中进行培养,结果见表 1。表 1 显示,增殖培养基 MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L、MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L、MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 中培养的鳞茎增殖系数差异不显著(P > 0.05),其中培养基 MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 中鳞茎的增殖系数最高,为 11.0,但根数最少,为 0.2 条,根系细弱;培养基 MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 中的增殖系数最低,为 3.8,而平均根条数最多,为 4.9 条,且根系粗壮,与 MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L、MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L、MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 增殖培养基中鳞茎增殖系数差异显著。由此可以看出,初代培养基

收稿日期:2014-04-28

基金项目:江苏省农业三新工程(编号: SXGC[2013]364);江苏省教育厅科研项目(编号: JHB2012-76)。

作者简介:韦庆华(1976—),女,江苏丹阳人,工程师,从事园艺植物组织培养生产技术工作。E-mail:305887179@qq.com。

通信作者:周玉珍,博士,教授,从事园林植物遗传育种与种苗生产技术研究。E-mail:245741784@qq.com。

MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 已不适宜继续用于增殖培养中。

在培养基 MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L、MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 中的细胞分裂素 6 - BA 的浓度相同,提高生长素 NAA 的浓度则不利于增殖系数的提高,即在增殖培养中产生的根系越少,鳞茎的增殖系数越高,

表 1 不同生长调节剂对朱顶红球茎增殖的影响

| 培养基 | 平均增殖系数 | 平均根数 (条) | 备注 |
|--------------------------------------|--------|----------|-----------------|
| MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L | 11.0a | 0.2c | 根系细小 |
| MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L | 10.4a | 0.2c | 根系细小,分化小球有玻璃化现象 |
| MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L | 8.3a | 2.2b | 根系粗壮 |
| MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L | 3.8b | 4.9a | 根系粗壮 |

注:同列数据后不同小写字母代表在 0.05 水平差异显著。下同。

2.2 紫薯提取液、甲基紫对增殖培养的影响

在增殖培养基 MS + 2.0 mg/L + 0.01 mg/L 中添加不同量紫薯提取液,对褐化与污染的影响结果见表 2、表 3。表 2 显示,在增殖培养中添加 200 mL/L 紫薯提取液能有效控制褐化与污染。表 3 显示,添加紫薯提取液虽然有效抑制了污染与褐化,但影响了鳞茎的增殖与分化,增殖系数显著低于添加甲基紫的增殖培养基,而且叶片发黄;添加 0.01 g/L 甲基紫的增殖培养基虽然有 5% 的污染率,但对分化、增殖有较明显的促进作用,平均增殖系数达到 11.4,培养 50 d 后,新分化的鳞茎小球上分化出芽点。

表 2 不同紫薯用量对朱顶红增殖培养污染率与褐化的影响

| 紫薯提取液 (mL/L) | 瓶数 | 真菌污染 (瓶) | 细菌污染 (瓶) | 褐化现象 | 污染率 (%) |
|--------------|----|----------|----------|------|---------|
| 0 | 50 | 10 | 5 | 较重 | 30 |
| 50 | 50 | 0 | 5 | 未见 | 10 |
| 150 | 50 | 5 | 0 | 未见 | 10 |
| 200 | 50 | 0 | 0 | 未见 | 0 |

表 3 不同添加物质对朱顶红增殖分化的影响

| 添加成分 | 平均增殖系数 | 分化情况 | 污染情况 |
|----------------|--------|------|--------------------|
| 50 mL/L 紫薯提取液 | 4.4b | 叶色发黄 | 培养基本色为淡紫红色,污染率为 5% |
| 200 mL/L 紫薯提取液 | 4.1b | 叶色发黄 | 培养基本色为深紫红色,无污染 |
| 0.01g/L 甲基紫 | 11.4a | 已冒芽点 | 培养基紫色变淡,污染率为 5%。 |

2.3 继代次数对增殖系数的影响

在朱顶红子球的增殖培养过程中,每次用同一增殖培养基 MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 转接培养,按四分法切割子球鳞茎进行继代培养,平均 50 d 转接 1 次,每转接 2 代,随机抽取 10 瓶苗,统计增殖系数计算平均增殖系数,结果见图 1。图 1 显示,在继代培养中,从第 1 代到第 13 代培养中,增殖系数一直维持在 9.6 以上,从第 15 代开始,增殖系数呈下降趋势,为 4.2,转接至 19 代时,增殖系数一直持续在 4 左右。因此,在增殖培养中,如果要维持较高的增殖系数,继代的次数最好控制在 13 次以内。

NAA 应该控制在 0.01 mg/L。增殖培养基 MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L、MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 中培养的鳞茎增殖系数和根数差异不显著 ($P > 0.05$),可见细胞分裂素 6 - BA 浓度的提高并不利于鳞茎的增殖,还出现了小球的玻璃化现象,因此增殖培养的最佳配方为 MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L。

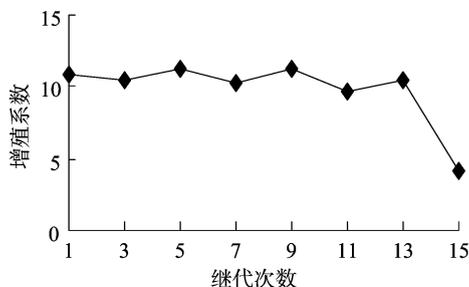


图 1 继代次数对朱顶红增殖系数的影响

3 结论与讨论

朱顶红为石蒜科朱顶红属多年生鳞茎类草本植物,在园林绿化中应用广泛,也作为高档年宵盆花供给市场,深受消费者喜爱。一般种球的繁殖方法主要有切割鳞茎分生繁殖^[2]与播种繁殖相比,分生繁殖的繁殖系数少,播种繁殖需要培养 2~3 年才进入开花阶段,不但培育时间长,而且性状不稳定。通过组培离体扩繁,不仅能在短时间内大量扩繁,而且可以保持品种的优良性状,缩短培育时间。对杂种朱顶红的组培扩繁研究也有报道,但由于品种的差异,结果各有不同^[4-7]。新品种朱顶红苏红为复瓣品种、不结实,因此利用植物组织培养能快速生产优质种球。在组培离体扩繁生产种球的过程中,增殖培养基的筛选是关键,既要达到一定增殖系数,又要使得到的子球健壮,培养基内添加的生长调节物质浓度、组合很重要,本试验筛选出朱顶红苏红最适增殖培养基为 MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L,采用“十”字形的四分法切割子球鳞茎继代培养,增殖系数最高达 11.0。

在朱顶红的组培初代和增殖过程中均有褐化现象的发生,在增殖培养的过程中,朱顶红的褐化现象很严重,主要是在鳞茎切口处分泌的酚类物质,在多酚氧化酶作用下氧化为醌类物质^[8],它影响了鳞茎块从培养基中吸收养分的能力,从而影响增殖系数。紫薯富含花青素,具有很强的抗氧化作用^[3],将紫薯提取液加入增殖培养基内,能有效控制鳞茎褐化与污染,但也同时降低了增殖系数;甲基紫别称龙胆紫,可作为染料、消毒剂,在本试验中作为对照用于抑制褐化与污染,结果显示,增殖培养基中添加 0.01 g/L 甲基紫,能有效抑制褐化与污染的同时,还促进了增殖与分化,因此继代增殖培

任敏,吴羽晨,张家洋,等. 金银花愈伤组织的诱导[J]. 江苏农业科学,2015,43(3):38-40.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.03.012

金银花愈伤组织的诱导

任敏,吴羽晨,张家洋,赵志英

(新乡学院生命科学与技术系,河南新乡 453003)

摘要:以金银花的叶片为外植体,在50组不同浓度 IAA、NAA、6-BA 组合的 MS 培养基上进行愈伤组织诱导,以探讨金银花的快速繁殖体系的培养条件。结果表明,IAA 和 NAA 的最佳浓度均为 1.0 mg/L,6-BA 的最佳浓度为 1.5 mg/L。确定适宜的诱导培养基为 MS + 1.5 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L NAA。

关键词:愈伤组织;金银花;组织培养;诱导培养基;配方;IAA;NAA;6-BA;最佳浓度

中图分类号: S567.7⁺90.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)03-0038-03

金银花(*Lonicera japonica* Thunb) 别称银花、双花、忍冬、二宝花,是忍冬科忍冬属多年生半常绿木质藤本植物^[1-2]。金银花单叶对生,叶片卵形或长卵形,两面被柔毛;每叶腋内由二花组成一小聚伞花序,花两侧对称,花冠唇形,初开时为白色,2~3 d 后变成金黄色,故名金银花^[3],花期为4—6月。金银花喜温暖湿润气候,适应性比较强,对土壤要求不严,耐寒、耐旱、耐涝,除东北、西北等高寒、干旱地区和海南外,全国各地均有分布。金银花全草均可入药,其主要药用成分是绿原酸和异绿原酸,具有清热解毒、除火、消炎等多种功效,主治温病、风热感冒、咽喉肿痛、痛肿溃瘍、痢疾、丹毒、肺炎等症^[4]。金银花的花蕾含有挥发性芳香油、皂苷、绿原酸、肌醇和黄酮类化合物等,还含有肉桂酸、茉莉醛、橙花醇等;其茎中含有生物碱;其叶中含有忍冬苷、忍冬素和木樨素等。根据药理研究,金银花对大肠杆菌、痢疾杆菌、葡萄球菌和肺炎双球菌等有抑制作用^[5-6],是我国著名的豫产道地中药材之一。尤其是在2003年的“非典”时期,以金银花为重要成分的中

草药对“非典”的预防作用十分显著。金银花除了作为用途广泛的中药材外,还具有良好的保健作用。此外,金银花茶香气宜人,对防治盛夏中暑、风热感冒、上呼吸道感染和肠胃疾病有良好的效果,可以制作饮料。尤其是对清除人体自由基、提高人体免疫机能和延缓衰老等具有良好的作用,因而也是高血压和心血管系统患者降低胆固醇的保健佳品。金银花花开清香宜人,黄白相间,繁华密布,也是优良园林绿化植物。目前,金银花仍采用传统的扦插和压条2种繁育方式^[7],但传统的繁殖方式繁殖速度慢、繁殖系数低,繁殖的苗木规格不一,商品化程度不高,不能满足金银花优良品种迅速推广种植的需要,因此,如何提高其繁殖速度,增加繁殖系数,并使其迅速推广种植已成为金银花生产中亟待解决的一个重要问题。而国内外对金银花的研究多集中在栽培、管理、加工、药理、制剂等方面,关于其组织培养、离体快繁的研究^[8-9]却报道得极少,仅见有凤爪金银花^[10]和蒙花1、2号金银花^[11]的组培报道,但封丘金银花组培还未见有报道。本试验以新乡学院校园内的封丘金银花品种的叶片为外植体,在不同浓度的 MS 培养基上进行愈伤组织诱导,通过对照不同的激素组合,以探索金银花的愈伤组织诱导的最佳条件,为金银花的快速繁殖和充分利用打下良好基础。

收稿日期:2014-04-16

基金项目:新乡学院创新基金(编号:12ZB16)。

作者简介:任敏(1962—),女,河南新乡人,教授,主要从事植物生理学研究。E-mail:skxsyzr@163.com。

养的最适培养基配方为 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L + 0.01 g/L 甲基紫,其诱导率最高为 11.4,但甲基紫的最适用量与原理还有待进一步研究。

继代次数对增殖系数与子球质量有明显的影响,继代培养第1代至第13代时,增殖系数基本保持在9~11的水平,但在第14代以后,其增殖系数明显降低。所以在组培苗生产中,应考虑继代至第13代时重新从母本上选取外植体进行初代培养,以利于组培苗工厂化生产的良性循环。

参考文献:

[1] 张林,成海钟,周玉珍,等. 朱顶红的研究进展[J]. 江苏农业科学,2011,39(5):225-228

[2] 吕文涛,娄晓鸣,周玉珍. 杂种朱顶红鳞茎切割繁殖方法研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(3):138-140.

[3] Lu L Z, Zhou Y Z, Zhang Y Q, et al. Anthocyanin extracts from purple sweet potato by means of microwave baking and ratified electrolysed water and their antioxidation *in vitro* [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2010, 45: 1378-1385.

[4] 朱旭东,田松青. 朱顶红的组织培养[J]. 江苏农业科学,2002(6):1002-1302.

[5] 刘群龙,段国锋,周兰. 朱顶红鳞茎芽诱导及植株再生体系的建立[J]. 西北植物学报,2007,27(12):2551-2554.

[6] 孙红梅,宋利娜. 大花朱顶红鳞茎不定芽的诱导[J]. 中国农学通报,2010,26(14):247-250.

[7] 娄晓鸣,周玉珍,孔贤等. 杂种朱顶红鳞茎不定芽诱导研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(34):16769-16770.

[8] 潘娟,李先源,李名扬. 植物组织培养过程中常见问题及解决方法[J]. 安徽农业科学,2009,37(6):2392-2394.