

何静茹,李振坚. 外源激素对美花石斛试管内花芽分化的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(11):71-73.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.11.020

外源激素对美花石斛试管内花芽分化的影响

何静茹¹, 李振坚²

(1. 四川建筑职业技术学院风景园林系,四川成都 611130;

2. 中国林业科学研究院林业研究所/林木遗传育种国家重点实验室,北京 100091)

摘要:以美花石斛初代培养诱导出的腋芽作为供试材料研究外源激素对花芽分化的影响。结果表明,适宜浓度的 TDZ 与 NAA 结合可诱导花芽分化,MS + TDZ 0.15 mg/L + NAA 0.2 mg/L 效果最佳,花芽诱导率达到 27.78%;ABA 与 PP₃₃₃ 预处理可使花芽分化率有所上升,以浓度为 2 mg/L 的 PP₃₃₃ 预处理诱导出的腋芽 15 d 后再转接入 MS + TDZ 0.15 mg/L + NAA 0.2 mg/L 培养基中,可使花芽诱导率上升 13.3%。

关键词:美花石斛;外源激素;试管;花芽分化

中图分类号: S682.310.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)11-0071-02

美花石斛 (*Dendrobium loddigesii* Rolfe) 为兰科石斛属春季开花植物^[1],花色丰富,花姿优美,很多品种有香味,花期长达 30~50 d^[2],是近年来非常具有观赏价值与市场潜力的兰花商业品种。石斛属植物营养生长时间长,成花需要 2~3 年^[3]。试管内离体成花技术可以人为调节植物成花的影响因子,系统研究成花体系机理,为研究植物从营养生长向生殖生长的转变机制,花芽分化和发育提供了理想的途径;该技术不受地域与季节限制随时诱导成花的特点^[4],可以为花期不育的品种杂交提供便利,促进新品种的培育;能够缩短整个开花周期,节约时间和经济成本,对美花石斛的观赏价值体现与市场化生产的推动都具有重要意义。

作为四大观赏洋兰之一,一些石斛属植物的离体开花在国内外已有研究,如铁皮石斛^[5-6]、霍山石斛^[7]、报美花石斛^[8]、索菲亚 17 号^[9]等,其中大部分以组培苗、原球茎作为离体成花的研究材料^[10]。本试验以美花石斛假鳞茎节间萌发的腋芽作为花芽诱导材料,相比组培苗与原球茎获取途径更加广泛与容易,通过外源激素的调控从而影响离体植物内源激素水平,促进花芽分化,从腋芽诱导开始到试管内成花,只需要 70 d 左右,大大缩短成花周期。这在国内美花石斛离体成花诱导研究中尚属首次,研究结果可以为美花石斛的离体花芽诱导提供较为理想的外源激素调节方案,为整个美花石斛离体成花体系的建立完善提供阶段性的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

美花石斛假鳞茎,由中国林业科学研究院提供。去掉假鳞茎上面的叶片和叶鞘,切成长约 2 cm 的带节茎段,用软毛刷蘸取洗洁精液清洗茎段表面,再用自来水持续冲洗 1 h。滤

干水分后在 70% 乙醇中浸泡 8 s,用无菌水冲洗 2~3 次,再用 10% 次氯酸钠浸泡 10 min,最后用无菌水冲洗 3~5 次,于超净工作台上将带节茎段水平接种到 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 培养基中,20 d 后于节间诱导出腋芽,以此作为本试验的供试材料。

1.2 试验方法

1.2.1 植物激素对美花石斛试管内花芽诱导的影响 诱导出的腋芽继续生长 15 d 后,转接入 MS + TDZ (0.025、0.05、0.1、0.15、0.2 mg/L) + NAA 0.2 mg/L 与 MS + TDZ 0.15 mg/L + NAA (0.0、0.1、0.2、0.3、0.4 mg/L) 的花芽诱导培养基中进行培养。

1.2.2 预处理对美花石斛试管内花芽诱导的影响 将诱导出的腋芽分别接入 MS + PP₃₃₃ (0.5、1.0、2.0、3.0 mg/L) 与 MS + ABA (0.5、1.5、3.0、4.5 mg/L) 的培养基中预培养 15 d,再转接入 MS + NAA 0.2 mg/L + TDZ 0.15 mg/L 培养基中培养。

以上每个处理均接种 30 瓶,每瓶接种 1 个腋芽,重复 3 次。接种后置于温度 (24 ± 2) °C、光照度 1 600~2 000 lx、光照时间 14 h/d 环境中培养,接种后 20 d,对诱导的花芽瓶数进行统计,计算花芽诱导率 (花芽诱导率 = 诱导的花芽瓶数/接种的总瓶数),分析外源激素处理对美花石斛试管内花芽分化的影响。

2 结果与分析

2.1 TDZ 对美花石斛试管内花芽诱导的影响

由图 1 可见,一定浓度的 TDZ 结合 NAA 可诱导美花石斛试管内花芽的分化。当 TDZ 浓度为 0.25 mg/L 时,没有花芽形成,接种的腋芽只增殖出丛生芽。其他 4 个处理均能诱导腋芽分化出花芽,并且长出花蕾,诱导率随着 TDZ 浓度的增加先上升后下降,TDZ 浓度为 0.15 mg/L 时,花芽诱导率达 27.78%,明显高于其他处理。

2.2 NAA 对美花石斛试管内花芽诱导的影响

花芽分化的诱导,需要配合适宜浓度的生长素,当诱导出的腋芽转接到不添加 NAA 的培养基时,诱导试管内没有分化的美花石斛花芽,只增殖出少量的丛生芽,说明没有添加

收稿日期:2014-11-08

基金项目:中央级公益性科研院所专项基金(编号:2060302)。

作者简介:何静茹(1987—),女,硕士,助教。E-mail:hejingru5@163.com。

通讯作者:李振坚,博士,副研究员。E-mail:zhenjianli@163.com。

NAA 而只有 TDZ 的培养基无法诱导花芽的分化。由图 2 可见,添加 NAA 处理均能诱导花芽分化,NAA 浓度为 0.2 mg/L 时,花芽分化率达到最大(27.78%)。

2.3 PP₃₃₃ 预处理对美花石斛试管内花芽诱导的影响

PP₃₃₃ 预处理能促进 TDZ 与 NAA 诱导美花石斛试管内花芽分化,不同浓度 PP₃₃₃ 预处理 15 d 后,再转接入 MS + TDZ

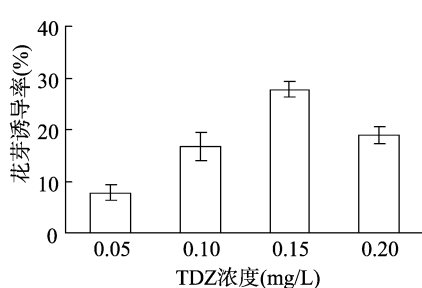


图1 TDZ 对花芽诱导率的影响

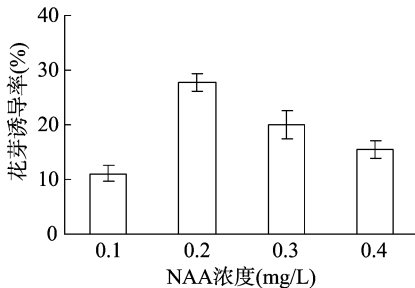


图2 NAA 对花芽诱导率的影响

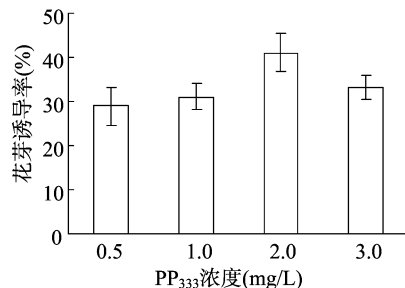


图3 PP₃₃₃ 预处理对花芽诱导率的影响

2.4 ABA 预处理对美花石斛试管内花芽诱导的影响

ABA 预处理对 TDZ 诱导美花石斛试管内花芽的分化促进效果不明显,不同浓度 ABA 预处理 15 d 后,再转接入 MS + NAA 0.2 mg/L + TDZ 0.15 mg/L 培养基中培养,诱导率上升效果不如使用 PP₃₃₃ 进行预处理。由图 4 可见,ABA 浓度达到 3 mg/L 时,花芽的诱导率达到最大,为 34.45%,诱导率仅比对照增加了 6.67 百分点。

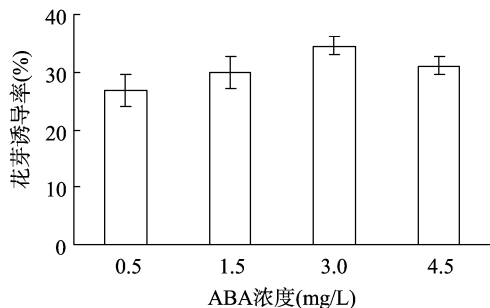


图4 ABA 浓度对花芽诱导率的影响

3 讨论

有研究表明,植物激素在促进离体植物花芽的形成过程中具有重要的作用^[11],特别是内源细胞分裂素与开花系统的建立具有明显的相关性^[12]。本试验通过使用不同种类不同浓度外源激素对美花石斛组织培养过程中诱导的腋芽进行处理,从而调节植物体内源激素,探索外源激素对美花石斛试管内离体成花的影响。多数研究使用 6-BA 与 NAA 配合对离体植物进行花芽诱导,但本次试验发现适宜浓度的 TDZ 与 NAA 配合也可成功诱导分化出花芽(图 5)。但是 TDZ 浓度过低(0.025 mg/L),只能增殖出丛生芽而无法诱导出花芽,随着 TDZ 浓度的增加,花芽诱导率先增加后降低;单纯施用 TDZ 而不配合 NAA 也同样无法诱导花芽分化,MS + NAA 0.2 mg/L + TDZ 0.15 mg/L 是美花石斛花芽诱导最适宜的激素浓度组合,花芽诱导率最大,但总体来说花芽诱导率都比较低;PP₃₃₃ 与 ABA^[13] 预处理对离体花芽的诱导有影响,可使诱导率上升,使用 ABA 预处理效果不如 PP₃₃₃,但经过 PP₃₃₃ 预处理后的植株普遍有矮化趋势^[14],且在本试验的 4 个浓度水平

0.15 mg/L + NAA 0.2 mg/L 培养基中培养,花芽诱导率均有所增加。由图 3 可见,诱导率随着 PP₃₃₃ 浓度的增大先上升后下降;PP₃₃₃ 浓度为 0.5 mg/L 时,效果不明显,与对照相比诱导率仅增加 1.1 百分点,可以忽略不计;PP₃₃₃ 浓度为 2 mg/L 时,花芽诱导率达到 41.1%,明显高于其他处理,诱导率比对照增加了 13.3 百分点。

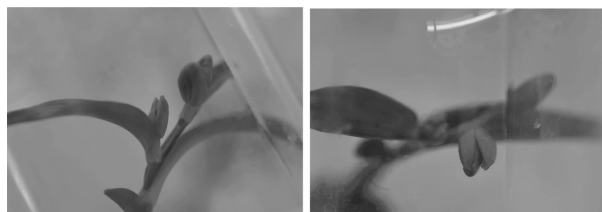


图5 春石斛离体诱导分化的花芽

中,PP₃₃₃ 浓度越大,矮化趋势越明显。

诱导产生花芽后,陆续有花蕾产生,15 d 左右,少部分花蕾开放,但成花质量不好,不管有无经过预处理,开放的花朵基本都是畸形花,缺乏完整的花器官(图 6)。因为瓶内温度较高且植株本身不完整(没有根系)的缺陷,所以开放的花朵花期短于室外正常开放的花朵。



图6 春石斛试管内产生的畸形花蕾

本试验对美花石斛试管内开花进行了有益探索,筛选出了适宜促进花芽离体分化的激素种类与浓度,并在之后形成花蕾,但是此后的成花过程并不顺利,没有解决花蕾到成花过程中败育以及形成畸形花的问题,即没有改善离体成花质量。影响离体植物成花的因素有很多,除了内源激素外,还包括光周期、温度、培养基成分、外植体种类等^[15],如何能保证成花质量,使诱导出的花蕾顺利开花,形成完善的离体成花体系,需要从各个因素的影响上综合考虑,有待于进一步探索研究。

郑素月,郑伟,邢志伟,等.冀中南地区 16 个平菇栽培菌株的 ISSR 分析[J].江苏农业科学,2015,43(11):73-75.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.11.021

冀中南地区 16 个平菇栽培菌株的 ISSR 分析

郑素月,郑伟,邢志伟,卢月霞

(河北工程大学农学院,河北邯郸 056038)

摘要:应用 ISSR 分子标记技术对 16 个平菇栽培菌株进行遗传多样性研究。从 16 个 ISSR 引物中筛选出 8 个引物,扩增到 78 个多态性位点,其大小分布在 200~3 000 bp 之间。聚类分析结果表明,16 个平菇菌株在遗传相似系数为 0.75 处可分为 6 个组群:第 1 组包括以 89 为代表的 5 个菌株;第 2 组包括白平菇菌株;第 3 组包括以冀农 11 为代表的 4 个菌株;第 4 组包括 558 菌株;第 5 组包括以 99 为代表的 3 个菌株;第 6 组包括以夏抗 8 为代表的 2 个高温菌株。

关键词:平菇;ISSR;遗传多样性;聚类分析

中图分类号:S646.1⁺40.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)11-0073-03

平菇营养丰富,味道鲜美,具有较高的营养价值和保健功能,是人们喜爱的食用菌之一。平菇抗逆性强、适应性好、产量高、易栽培,是我国栽培规模最大、产量最高的一种食用菌。目前,生产上平菇菌种混杂、种源不清、同物异名严重,严重制约平菇产业的发展。随着科学技术的迅猛发展,许多生化和分子生物学手段已在食用菌种质资源研究中得到了广泛应用。微卫星间区分子标记技术具有多态性丰富、稳定可靠、试验重复性好等优点,在食用菌种质鉴定方面得到了广泛的应

用。张金霞等利用 ISSR 技术对侧耳属菌株进行研究^[1-2];李辉平等利用 ISSR 技术研究木耳菌株的遗传多样性^[3-4];李莹等研究杏鲍菇的 ISSR 标记多态性^[5];秦莲花等用 ISSR 鉴别香菇生产用种^[6-7]。本试验采用 ISSR 分子标记技术,对河北省冀中南地区 16 个平菇生产菌株进行鉴别及遗传多样性分析,可为解决平菇品种混乱、对平菇进行资源利用和品种选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株及来源

供试平菇菌株共 16 个,分别收集于河北省冀中南地区,由笔者所在实验室保存。菌株编号、名称见表 1。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 PDA 培养基平板上铺玻璃纸隔膜培养菌

收稿日期:2015-04-07

基金项目:河北省现代农业产业技术体系食用菌产业创新团队建设专项;河北省科技支撑计划(编号:15226404D)。

作者简介:郑素月(1969—),女,河北石家庄人,博士,教授,主要从事食用菌新品种选育与菌种生产技术方面的研究。E-mail:zhengsuyue@sina.com。

参考文献:

- [1] Goh C J. Production of flowering orchid seedlings and plantlets[J]. Malayan Orchid Rev, 1996, 30: 27-29.
- [2] 张孟锦,陈文贞,杨志娟,等.春石斛生物学特性及栽培技术研究进展[J].中国农学通报,2011,27(6):35-39.
- [3] 陈肖英,徐明全,郑平,等.兰花试管开花研究进展[J].华南热带农业大学学报,2006,12(4):27-31.
- [4] 刘义存,周俊辉,白志川.试管开花的研究评述[J].西南园艺,2006,34(5):20-22.
- [5] 王光远,许智宏,蔡德发,等.铁皮石斛的离体开花[J].中国科学 C 辑:生命科学,1997,27(3):229-234.
- [6] Hossain M M, Sharma M, Pathak P. *In vitro* propagation of *Dendrobium aphyllum* (Orchidaceae) - seed germination to flowering[J]. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 2013, 22(2): 157-167.
- [7] Lee P L, Chen J T. Plant regeneration via callus culture and subsequent *in vitro* flowering of *Dendrobium huoshanense* [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36(10): 2619-2625.
- [8] Deb C R, Sungkumlong. Rapid multiplication and induction of early *in vitro* flowering in *Dendrobium primulinum* Lindl [J]. Journal of

- Plant Biochemistry and Biotechnology, 2009, 18(2): 241-244.
- [9] Tee C S, Maziah M, Tan C S. Induction of *in vitro* flowering in the orchid *Dendrobium Sonia* 17 [J]. Biologia Plantarum, 2008, 52(4): 723-726.
- [10] Wang Z H, Wang L, Ye Q S. High frequency early flowering from *in vitro* seedlings of *Dendrobium nobile* [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 122(2): 328-331.
- [11] Sim G E, Loh C S, Goh C J. High frequency early *in vitro* flowering of *Dendrobium* Madame Thong - In (Orchidaceae) [J]. Plant Cell Reports, 2007, 26(4): 383-393.
- [12] Jaime A, Silva T D, Zeng S J, et al. *In vitro* flowering of *Dendrobium* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2014, 119: 447-456.
- [13] Wang G Y, Xu Z H, Chia T F, et al. *In vitro* flowering of *Dendrobium candidum* [J]. Science in China Series C - Life Sciences, 1997, 40(1): 35-42.
- [14] Ren X Q, Liang H W, Chen B Q, et al. Dwarfing effects of plant growth regulators on narcissi [J]. Journal of Forestry Research, 2003, 14(4): 339-341.
- [15] 徐京,庞基良.兰花离体开花的研究进展[J].北方园艺,2010(24):215-218.