

高巍,马艳丽,尹立辉,等.君子兰未授粉子房组织培养研究[J].江苏农业科学,2015,43(12):57-58.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.016

君子兰未授粉子房组织培养研究

高巍¹,马艳丽¹,尹立辉¹,任跃英²

(1. 长春大学园林学院,吉林长春 130021;2. 吉林农业大学中药材学院,吉林长春 130118)

摘要:用君子兰未授粉子房为外植体,观察出愈率及愈伤组织形态,以期为君子兰单倍体培养提供理论依据。结果表明:以子房切半为外植体,MS+2,4-D 1 mg/L+KT 2 mg/L 培养基配方出愈率 88.89%;胎座连同胚珠接种培养的出愈时间为 19 d,出愈率达到 93.98%,胚珠为外植体出愈时间为 42 d,出愈率达到 57.78%;胎座连同胚珠为外植体愈伤组织为保守分裂型,以胚珠为外植体的愈伤组织是亢进分化型。因此,君子兰未授粉子房培养外植体的适宜形式是胎座连同胚珠,适宜培养基配方为 MS+2,4-D 1 mg/L+KT 2 mg/L。

关键词:君子兰;子房;组织培养;愈伤组织;出愈率

中图分类号:S682.310.4⁺3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)12-0057-02

子房和胚珠作为组织培养的重要外植体来源被广泛应用于多种植物的组织培养中^[1-3]。国内外有许多关于君子兰组织培养技术的研究报道^[4]。君子兰组织培养的外植体种类多样,利用未受精子房及胚珠离体培养是单倍体培养的另一条重要途径^[5-7]。本研究探讨了君子兰未授粉子房培养过程中最佳外植体形式、培养基配方对出愈率的影响,以期找到最适合的培养条件,为君子兰单倍体培养提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试君子兰选择大花君子兰胜利杂交品种,栽培于吉林农业大学药用植物苗圃温室内,正常栽培管理。外植体形式见表 1,每个处理接种外植体 30 个,3 次重复。

表 1 外植体处理方式

编号	处理方式
A1	将君子兰未授粉子房完整接种于培养基上
A2	未授粉子房横切,切口朝下接种于培养基上
A3	用解剖刀剥去君子兰幼嫩子房壁,将胚珠连同胎座接种于培养基上
A4	用解剖刀轻轻剥离胚珠,直接接种于培养基上

1.2 培养基配方

培养基种类为 MS 固体培养基(琼脂 8%,蔗糖 3%),pH 值 5.8。培养基中加入激素,激素种类和浓度见表 2。培养基 121 ℃ 高压灭菌 15 min。

1.3 试剂

用分析天平称取 10 mg 2,4-D,溶于少量 1 mol/L 的 NaOH 溶液中,水浴加热,加蒸馏水定容至 100 mL,配制 2,4-D 母液,按照浓度要求稀释。

收稿日期:2015-03-16

基金项目:吉林省教育厅科研项目(编号:201205013072)。

作者简介:高巍(1974—),女,博士,讲师,主要从事园林植物育种与植物配置研究。E-mail:77411865@qq.com。

通信作者:任跃英(1958—),女,博士,教授,博士生导师,主要从事药用植物育种研究。E-mail:381717169@qq.com。

表 2 培养基类型和激素配方

序号	培养基成分
I 1	MS+2,4-D 0.5 mg/L
I 2	MS+2,4-D 1 mg/L
I 3	MS+2,4-D 2 mg/L
I 4	MS+2,4-D 1 mg/L+KT 0.5 mg/L
I 5	MS+2,4-D 1 mg/L+KT 1 mg/L
I 6	MS+2,4-D 1 mg/L+KT 2 mg/L

用分析天平称取 10 mg KT,溶于少量 1 mol/L 的 HCl 溶液中,水浴加热,加蒸馏水定容至 100 mL,配制 KT 母液,按照浓度要求稀释。

1.4 方法

1.4.1 外植体消毒 选择君子兰未授粉子房,浸泡于 75% 乙醇 30 s,然后浸泡于 1% 次氯酸钠溶液中 5 min,无菌水冲洗 3 遍,用灭菌的滤纸吸干水分。

1.4.2 外植体处理 培养基激素种类选择 2,4-D 和 KT,将未授粉子房横切,切口朝下,接种于培养基上(表 2),测定激素种类和浓度对君子兰未授粉子房愈伤组织诱导的影响。测定不同外植体形式对君子兰子房愈伤组织诱导的影响时培养基为 MS+2,4-D 1 mg/L+KT 2 mg/L,将表 1 所示的外植体形式接种其上。

1.4.3 外植体培养 外植体接种完毕,置于恒温光照培养箱(GXZ 型)中,(25±1)℃培养,12 h 光照(光照度 66%),12 h 黑暗。

1.4 数据统计与分析

试验原始数据用 Excel 统计软件进行整理,采用 DPS 软件进行数据分析^[8]。

2 结果与分析

2.1 不同激素处理对君子兰子房愈伤组织的影响

MS+2,4-D 1 mg/L 培养基中接种数为 88 个,出愈率为 84.09%,出愈率高于 MS+2,4-D 0.5 mg/L 培养基和 MS+2,4-D 2 mg/L 培养基。MS+2,4-D 1 mg/L+KT 2 mg/L 培养基中接种数为 90 个,出愈率为 88.89%,出愈率为 6 种培

培养基配方中最高(表 3)。

2.2 不同外植体愈伤组织形成的比较

由表 4 可见,将子房整体接种于培养基上的出愈率为 36.84%,开始出愈时间为培养 53 d,愈伤形态见图 1-A;将子房横切处理的出愈时间为 22 d,出愈率达到 88.89%。胎座连同胚珠接种的处理出愈率为 93.98%,开始出愈时间为 19 d,愈伤形态见图 1-B;直接接种胚珠的出愈时间是 42 d,出愈率是 57.78%,愈伤形态见图 1-E、F。

表 3 不同培养基配方外植体出愈情况比较

序号	外植体数 (个)	开始出愈时间 (d)	出愈数 (个)	出愈率 (%)
I 1	82	28	59	71.95Bc
I 2	88	24	74	84.09Aab
I 3	90	24	72	80.00ABb
I 4	80	21	70	87.50Aa
I 5	83	19	73	87.95Aa
I 6	90	22	80	88.89Aa

表 4 外植体不同处理方式出愈情况比较

序号	外植体数 (个)	开始出愈时间 (d)	出愈数 (个)	出愈率 (%)
A1	76	53	28	36.84Cd
A2	90	22	80	88.89Bb
A3	83	19	78	93.98Aa
A4	90	42	52	57.78Bc

子房横切处理的愈伤形态如图 1-A 所示,外植体为胎座加胚珠的愈伤形态见图 1-B。后者颜色乳白,表面光滑整齐,这种愈伤组织生长较快,2 次继代以后可见绿色芽点,如图 1-C、D。

采用胚珠为外植体的处理愈伤出现时间较长。愈伤组织的出现有 2 种方式,一种是胚珠最初出现膨大现象,逐渐由膨大物生成愈伤组织,效果如图 1-E;另一种方式是愈伤组织直接从胚珠上长出,并且不断分裂扩大,如图 1-F。王海波研究表明愈伤组织分为 3 种类型:保守分裂型、亢进分裂型、衰败型^[9]。本研究外植体为整个子房和半个子房产生的愈伤组织致密,为保守分裂型,如图 1-G,这类愈伤容易分化成苗;胚珠生成的愈伤结构疏松,颜色鲜艳,是亢进分裂型,如图 1-H。

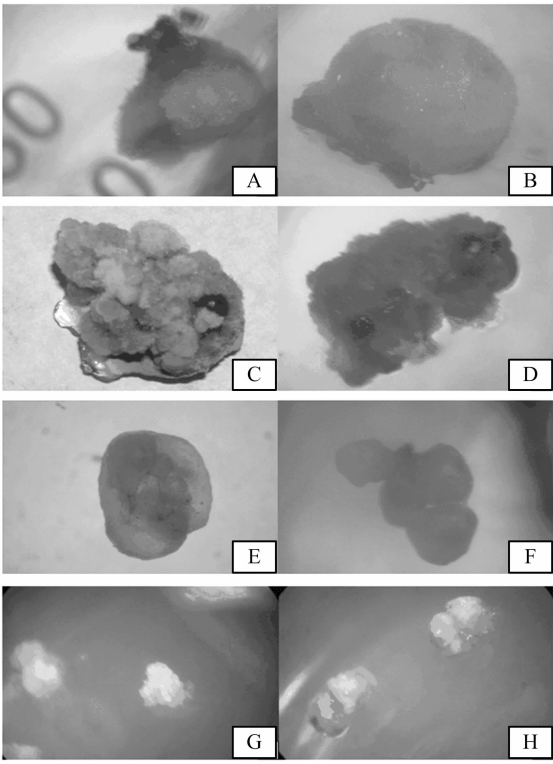
3 小结与讨论

关于激素对组织培养出愈率的影响已有研究^[10-12],卞桂杰等利用 MS+KT 2.0 mg/kg+IAA 0.5 mg/kg 培养基诱导甜菜未授粉胚珠,培养二倍体纯系^[13]。本研究中出愈率最高的培养基配方为 MS+2,4-D 1 mg/L+KT 2 mg/L,2,4-D 能够提高出愈率,这与前人的研究结果相同。君子兰子房培养最佳外植体形式是胎座连同胚珠接种,子房培养和胎座连同胚珠培养能形成保守分裂型愈伤组织,胚珠培养生成的愈伤结构疏松,颜色鲜艳,是亢进分裂型愈伤组织。

未授粉子房培养、胚珠培养以及胎座培养是诱导单倍体的一种手段,本研究结果可为君子兰单倍体培养提供参考。

参考文献:

[1] 汤飞宇,丁 菲,王国英. 从玉米传粉子房培养出单倍体植株[J]. 福建农业大学学报,2004,33(4):489-493.



A—完整子房的愈伤组织; B—子房横切产生的愈伤组织; C—子房横切产生的愈伤组织(上可见绿色芽点); D—愈伤组织上的芽点; E—胚珠的愈伤组织1; F—胚珠的愈伤组织2; G—白色的愈伤组织; H—绿色的愈伤组织

图1 君子兰愈伤组织形式

[2] 黄群策,邢树平,孙敬三. 通过子房培养获得同源三倍体水稻的研究[J]. 湖南农业科学,1998(1):14-15.

[3] 朱献辉. 辣椒未受精子房培养[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2008.

[4] Wang Q M, Gao F Z, Xiang G, et al. Regeneration of *Clivia miniata* and assessment of clonal fidelity of plantlets[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2012, 109(2):191-200.

[5] Finnie J F, van Staden J. *In vitro* culture of *Clivia miniata*[M]// *Clivia Yearbook 1. The Clivia Society, South Africa*, 1999:7-11.

[6] 敖光明,赵世绪,李广华. 从未受精的玉米子房培养出单倍体植株[J]. 遗传学报,1982,9(4):281-283.

[7] 祝仲纯,吴海珊. 从未授粉的小麦及烟草子房培养出单倍体植株[J]. 遗传学报,1979,6(2):181-183, 238.

[8] 唐启义,冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京:科学出版社,2002:40-46.

[9] 王海波. 组织培养中细胞状态的调控[J]. 作物杂志,1991(3):3-6.

[10] Ran Y D, Simpson S. *In vitro* propagation of the genus *Clivia*[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2005, 81(2):239-242.

[11] 王 蒂,冉毅东,王汉宁,等. 不同培养基对甘蓝型油菜花药和花粉培养的效应比较[J]. 中国油料,1996,18(2):1-3.

[12] Gao X, Yang D, Cao D H, et al. *In vitro* micropropagation of freesia hybrida and the assessment of genetic and epigenetic stability in regenerated plantlets[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2010, 29(3):257-267.

[13] 卞桂杰,黄淑兰,郑 毅,等. 利用胚珠诱变纯系创制甜菜四倍体品系的研究[J]. 吉林农业科学,2007,32(2):26-27, 39.