

贾晓梅,周悦,曹柳青,等. 不同外植体及激素组合对贴梗海棠愈伤组织诱导的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(2):54-56.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.014

不同外植体及激素组合 对贴梗海棠愈伤组织诱导的影响

贾晓梅,周悦,曹柳青,黄璞璐
(保定学院生化系,河北保定 071051)

摘要:以当年生幼嫩枝条、2~3年生枝条的叶片为试验材料,分别采用0.1% HgCl₂溶液、2% NaClO溶液进行消毒处理,运用对比试验的方法进行贴梗海棠愈伤组织的诱导研究,结果表明,诱导愈伤组织的最适外植体为叶片,最适培养基为MS+0.5 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA。
关键词:贴梗海棠;外植体;激素组合;愈伤组织;诱导
中图分类号: S685.990.4⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)02-0054-02

贴梗海棠[*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai]是蔷薇科木瓜属植物,为落叶灌木,耐旱、喜光、耐寒,抗逆性极强。其花色艳丽,气味芳香,被广泛应用于城乡绿化、庭院美化;其果实别称皱皮木瓜,富含多种营养成分^[1],为常用中药,可舒筋活络、驱风止痛^[2];其叶片具有抗氧化和保肝功效^[3]。可见,贴梗海棠是一种具有多用途的优良园林绿化植物。

贴梗海棠的繁殖多采用传统的种子繁殖和无性繁殖(扦插、嫁接、压条等)^[4]。为提高贴梗海棠的品质,部分学者已对其育苗^[5]、花期调控^[6]、嫁接技术^[7]、栽培管理^[8]等方面进行了研究;为突破繁殖材料的数量限制,加快推广速度,部分学者已将组织培养技术应用于贴梗海棠的快速繁殖^[9-10],初步建立了快繁体系,但关于贴梗海棠愈伤组织培养的研究鲜有报道。通过研究不同外植体和激素组合对其愈伤组织诱导的影响,以期对贴梗海棠的遗传转化育种开辟一条有效途径,为该品种的开发和推广奠定技术基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料由三禾苗圃提供,取贴梗海棠当年生幼嫩枝条、2~3年生枝条的叶片为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 材料消毒 将新生幼嫩枝条用加入少量皂粉的自来水浸泡30 min,再用自来水冲洗1.0~1.5 h,去除肉眼可见的灰尘及其他杂质。在无菌操作台内,将试验材料用75%乙醇消毒30 s后分为两半,一半转入0.1% HgCl₂溶液中浸泡7~8 min,再用无菌水冲洗3~4次;另一半转入2% NaClO溶液

中浸泡15 min,再用无菌水冲洗3~4次。将消毒后的材料置于无菌滤纸上,吸干接种材料表面的多余水分。将叶片切成0.5 cm²的小块,或在完整叶片上划出网格状伤口,嫩茎、幼芽的长度均为0.5~1.0 cm,分别接种于诱导愈伤培养基上。每种外植体分别在各体积分数梯度激素的培养基上接种10瓶,叶片每瓶接种4块,茎段每瓶接种4段,幼芽每瓶接种3个。

1.2.2 培养基 以MS为基本培养基,附加不同种类激素体积分数配比组成的9种培养基(表1)。培养基均附加蔗糖30 g/L、琼脂8 g/L,pH值为5.8,培养温度为(25±2)℃,光照度为2 000 lx,每天光照8 h。

表1 培养基类型

序号	外植体	培养基类型
1	叶片、茎段、幼芽	MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA
2	叶片、茎段、幼芽	MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA
3	叶片、茎段、幼芽	MS+0.5 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA
4	叶片、茎段、幼芽	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA
5	叶片、茎段、幼芽	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA
6	叶片、茎段、幼芽	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA
7	叶片、茎段、幼芽	MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA
8	叶片、茎段、幼芽	MS+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA
9	叶片、茎段、幼芽	MS+2.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对污染率的影响

在对外植体的消毒过程中,分别选用2% NaClO溶液、0.1% HgCl₂溶液进行消毒处理。由表2可知,选用0.1% HgCl₂溶液进行浸泡消毒的外植体污染率远远低于选用2% NaClO溶液消毒的外植体,2% NaClO溶液处理后污染率均在10%及以上,而0.1% HgCl₂溶液处理后消毒效果明显改善,叶片、茎段、幼芽污染率分别为2.5%、2.5%、0。

2.2 不同处理方式对诱愈结果的影响

由表3可知,在诱愈培养基上接种20 d后,通过诱导过程发现划有网格状伤口的全叶外植体出愈率(22%)远远低于切成小块的叶片外植体(67%),故将经过处理的全叶外植

收稿日期:2015-03-31
基金项目:河北省高等学校科学技术研究项目(编号:Z2013008);保定学院本科教学工程建设项目(编号:20120205、Xk20130601);保定学院科研基金(编号:2012Z08);保定学院科研团队(编号:KYTD2013001);河北省科技计划(编号:15227527)。
作者简介:贾晓梅(1978—),女,硕士,副教授,主要从事植物生理和生物技术研究。E-mail:jxmjiang@aliyun.com。

表 2 不同消毒剂处理对污染率的影响

材料	消毒剂	接种数 (块)	污染数 (块)	污染率 (%)
叶片	2% NaClO	40	5	12.5
	0.1% HgCl ₂	40	1	2.5
茎段	2% NaClO	40	4	10.0
	0.1% HgCl ₂	40	1	2.5
幼芽	2% NaClO	30	3	10.0
	0.1% HgCl ₂	30	0	0

表 3 叶片不同处理方式对诱愈结果的影响

叶片处理方式	接种数量 (块)	培养时间 (d)	出愈数 (块)	出愈率 (%)
完整叶片上划出网格状伤口	45	20	10	22
切成 0.5 cm ² 的小块	45	20	30	67

体切成 0.5 cm² 的小块,转接至相应培养基中。

2.3 不同激素组合对茎段愈伤组织的影响

茎段愈伤组织产生于两端切面处,诱导初期质地松软、呈半透明乳白色。在诱愈培养基上接种 20 d 后,有 84% 茎段均诱导出愈伤组织,与叶片、嫩芽等外植体相比,茎段愈伤组织出现最早。将茎段产生的愈伤组织继代转接,均能增殖。培养 20 d 发现大部分培养基中增殖的愈伤组织与诱导初期一样质地松软、没有光泽,并随培养时期的延长而褐变死亡,仅 3、5、9 号培养基上的愈伤组织出现生长,其中 9 号培养基上的愈伤组织状态最好,出现质地松脆的绿色愈伤组织(表 4)。

表 4 茎段产生愈伤组织结果

培养基	接种数量 (瓶)	培养时间 (d)	出愈率 (%)	褐化率 (%)	质地	继代培养结果
1	10	20	63	35	软松	褐变死亡
2	10	20	90	30	松软	褐变死亡
3	10	20	80	40	松脆	乳白色愈伤组织
4	10	20	95	42	松软	褐变死亡
5	10	20	80	30	松脆	乳白色愈伤组织
6	10	20	90	45	松软	褐变死亡
7	10	20	90	50	松软	褐变死亡
8	10	20	83	52	松软	褐变死亡
9	10	20	100	40	松脆	绿色愈伤组织

2.4 不同激素组合对叶片愈伤组织的影响

叶片愈伤组织多发生于切面,少数愈伤组织由叶片表层细胞产生,多数呈乳白色,少数呈绿色。由表 5 可知,接种 20 d 后约 80% 叶片能诱导出愈伤组织,但 4、5、7 号培养基出愈率较低,仅为 60%。在转接愈伤组织继代培养的过程中,2、3、6 号培养基中愈伤组织的增殖能力远远高于其他培养基;其他培养基上的愈伤组织虽能增殖,但表现松、软、过于散碎,并随培养时间的延长陆续褐变死亡。在 3 号培养基上诱导出的绿色愈伤组织与茎段、幼芽等外植体诱导出的状态良好的愈伤组织相比质地更松脆。

2.5 不同激素组合对幼芽诱导的影响

在诱愈培养基上接种 10 d 左右,幼芽开始伸长生长;20 d 后部分培养基中的幼芽平均可长至 3.3 cm。在诱导过程中幼芽基部长出丛芽,而幼芽所诱导的愈伤组织多在丛芽部位,

表 5 叶片产生愈伤组织结果

培养基	接种数量 (瓶)	培养时间 (d)	出愈率 (%)	褐化率 (%)	质地	继代培养结果
1	10	20	82	30	松软	褐变死亡
2	10	20	100	30	松脆	乳白色
3	10	20	100	20	松脆	绿色愈伤组织
4	10	20	60	50	松软	褐变死亡
5	10	20	60	40	松软	褐变死亡
6	10	20	100	30	松脆	乳白色愈伤组织
7	10	20	60	50	松软	褐变死亡
8	10	20	75	40	松软	褐变死亡
9	10	20	90	45	松软	褐变死亡

其质地松软,转接后增殖培养,褐化率高达 97%,短时期内均褐变死亡。由表 6 可知,在幼芽诱导与继代增殖的过程中,接种于 8 号培养基的幼芽生长速度最为迅速,且形成的丛芽数量也多于其他培养基,与接种于其他培养基的幼芽相比具有明显优势。

表 6 不同激素组合对幼芽诱导的影响

培养基	接种数量 (瓶)	培养时间 (d)	出愈率 (%)	褐化率 (%)	幼芽平均 高度(cm)	平均每株形 成丛芽量(个)
1	10	20	10	100	3.0	2
2	10	20	12	100	3.5	2
3	10	20	18	90	2.0	1
4	10	20	15	95	2.5	1
5	10	20	9	97	3.0	2
6	10	20	13	100	2.5	1
7	10	20	10	95	4.2	3
8	10	20	8	95	5.5	4
9	10	20	3	100	3.5	2

3 结论

本试验选择贴梗海棠的叶片、茎段、幼芽作为外植体,研究不同外植体及激素组合对贴梗海棠愈伤组织诱导的影响。结果表明,在选择消毒剂时,0.1% HgCl₂ 溶液处理远远好于 2% NaClO 溶液处理;叶片进行 0.5 cm² 的分割处理出愈率高于划有网格状伤口的全叶。在所有外植体愈伤组织的诱导和继代增殖过程中,茎段、叶片、幼芽的愈伤组织出愈率分别为 84%、80%、11%,而幼芽的褐化率最高(97%)、叶片最低(37%),且由叶片产生的绿色愈伤组织质地更为松脆,增殖能力比茎段和幼芽产生的更强。由此确定诱导愈伤组织的最适外植体为叶片,最适培养基为 MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L NAA。

参考文献:

[1] Mihova T, Blagov A, 宋来庆. 贴梗海棠主要果实营养成分分析[J]. 烟台果树, 2013(2): 13-14.

[2] 崔波, 李服, 马杰. 郑州植物志[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2008.

[3] 孔祥密. 垂丝海棠和贴梗海棠抗氧化和保肝作用研究[D]. 开封: 河南大学, 2014.

[4] 马冬菁. 贴梗海棠培育技术研究进展[J]. 防护林科技, 2010(6): 49-51.

林夏斌,黄华达,黄怀妹,等. 白花拟万代兰(*Vandopsis undulata*)组培苗的增殖、生根与炼苗[J]. 江苏农业科学,2016,44(2):56-59.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.015

白花拟万代兰(*Vandopsis undulata*)组培苗的增殖、生根与炼苗

林夏斌,黄华达,黄怀妹,彭东辉,翟俊文,吴沙沙

(福建农林大学园林学院,福建福州 350002)

摘要:白花拟万代兰(*Vandopsis undulata*)花大素雅,具芳香,有很高的观赏价值,并有很大的市场前景。为缩短白花拟万代兰从无菌播种到成苗的时间并保证组培苗移栽成活率,以无菌播种获得的白花拟万代兰小苗为材料,合并其增殖和生根阶段最适培养基的筛选,继而对最适移栽基质进行了筛选研究。结果表明,丛生芽增殖的最佳培养基为MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA+250 mL/L 椰子汁,平均增殖系数达3.57;丛生芽生根培养的最佳培养基为MS+2.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L IAA+50 mL/L 椰子汁;所用移栽基质中,泥炭土和木屑对白花拟万代兰栽培成活率有显著影响,最优的基质体积配比为:苔藓:泥炭土:珍珠岩:木屑=1:3:2:2。

关键词:白花拟万代兰;组织培养;移栽基质;6-BA;NAA

中图分类号:S682.310.4⁺3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)02-0056-04

白花拟万代兰(*Vandopsis undulata*)为兰科(Orchidaceae)拟万代兰属典型的热带附生兰,产中国云南南部至西北部(勐海、腾冲和怒江河谷)、西藏东南部(墨脱、背崩),生于海拔1 800~2 200 m的林中树干上,尼泊尔、锡金、不丹和印度东北部也有分布^[1]。在兰科植物中,拟万代兰属约5种,目前,均未实现工厂化生产供应市场,野外资源急需保护和人工扩繁^[2]。白花拟万代兰花大素雅,具芳香,有很高的观赏价值,具有很大的市场前景。拟万代兰属约有5种,中国仅有拟万代兰(*V. gigantea*)和白花拟万代兰2个种。兰科植物单个果实种子量大是其显著优势,利用种子进行大规模繁殖是对保护兰科植物的重要手段^[3]。兰花种子又称种胚,其细如粉尘,只有在显微镜下才能看清,没有胚乳,处于原胚阶段,缺乏营养^[4-5],多数兰科植物依靠其自身营养则难于萌发,因此外源营养对兰花种子的萌发显得尤其重要^[6]。传统的繁殖方式,繁殖系数低、速度慢^[7],不能满足日益增长的市场需要。找到一个快速繁殖种苗的方法对其种质资源的保护和开发利用将具有重要的现实和理论意义。

本试验采用不同培养基配方、栽培基质,对白花拟万代兰增殖、生根及组培苗移栽成活率进行了研究,探讨在无菌培养、移栽过程中不同因素对其成活、生长发育的影响,以期获得最适宜的无菌培养配方和移栽条件,为提高白花拟万代兰的繁殖系数,获得大量优质组培苗提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2013年9月,对购自云南腾冲的白花拟万代兰植株上未开裂果荚内的种子进行无菌播种,所用培养基为:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA+8 g/L 琼脂+30 g/L 蔗糖+2 g/L 活性炭。丛生芽的增殖与生根培养材料来源于无菌播种90 d的无根种胚苗。炼苗所用植物材料为生根培养90 d的组培苗。

1.2 试验方法

1.2.1 丛生芽的增殖与生根 以无菌播种90 d后,芽长为0.5~1.0 cm尚未生根的白花拟万代兰小苗为材料,采用L₉(3⁴)正交试验研究不同基本培养基、6-BA、IAA、椰子汁(新鲜椰子汁)对丛生芽增殖和生根的影响(表1)^[8]。每瓶接种7株(图1-A),每个处理30瓶,3次重复。培养条件为:温度(25±2)℃,相对湿度70%~80%,光照度1 000~1 500 lx,光照时间12 h/d。培养30 d后统计增殖数、生根数、叶片数,测量根长,并对每个处理中随机选择的10株植物进行生长状况评分,以1~4分计:1表示植株长势差,增殖数

收稿日期:2015-09-08

基金项目:福建省特色花卉品种创新与种苗设施繁育产业(编号:2014S1477-7)。

作者简介:林夏斌(1990—),男,硕士研究生,主要从事园林植物应用研究。E-mail:xiabinlin1916@126.com。

通信作者:吴沙沙,博士,讲师,从事园林植物资源与应用研究。E-mail:shashawu1984@126.com。

[5]唐新华. 贴梗海棠育苗技术[J]. 林业实用技术,2005(11):24-25.

[6]张秀省,黄勇. 贴梗海棠的栽培及花期调控技术[J]. 农村实用工程技术,2001(10):13.

[7]封丙军. 贴梗海棠乔木化嫁接技术[J]. 农村科技,2007(4):56-57.

[8]邓运川,沙刚. 贴梗海棠的栽培管理[J]. 中国花卉园艺,2010(14):34-35.

[9]陈昱,叶景丰,马冬菁,等. 贴梗海棠组培快繁技术研究[J]. 北方园艺,2008(8):186-187.

[10]袁秀秀,张仙云,马杰. 贴梗海棠组培快繁技术研究[J]. 河南科学,2009(2):175-177.