

张立娜, 张晓东, 王怡天, 等. 大叶蒲公英耐盐性变异株系的培育[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(14): 174–177.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.14.032

大叶蒲公英耐盐性变异株系的培育

张立娜¹, 张晓东¹, 王怡天¹, 董梅英², 鲁雪林¹, 王秀萍¹

(1. 河北农林科学院滨海农业研究所/唐山市植物耐盐研究重点实验室, 河北唐山 063000; 2. 河北省怀来县农牧局, 河北怀来 075400)

摘要:以大叶蒲公英耐盐愈伤组织为试验材料, 采用植物组织培养的方法, 研究不定芽诱导培养基、培养光质、移栽基质配比对其耐盐性愈伤组织分化和组培苗生长的影响。结果表明, 在相同不定芽诱导培养基上, 随盐胁迫浓度梯度升高, 大叶蒲公英耐盐性愈伤组织分化率呈现降低的趋势; 在大叶蒲公英耐盐性组培苗培养过程中, 选择红: 白 = 2: 3 的光质, 有利于组培苗的生长; 幼苗移栽到 蛭石: 营养土: 珍珠岩 = 1: 4: 3 的混合基质上成活率最高, 为 78%。最优培养条件的确定对大叶蒲公英组培苗的后期高成苗率提供了保障。

关键词:大叶蒲公英; 组织培养; 基质配比; 耐盐性; 株系; 成活率

中图分类号:S567.23+9.043

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2020)14-0174-04

我国从滨海到内陆, 从低海拔地区到高原地区都分布着不同类型的盐渍化土壤, 而且由于气候变化、农业灌溉方法不当、过度放牧等原因, 土壤次生盐渍化现象日趋严重^[1]。在耕地面积有限的情况下, 开发利用盐荒地、选择培育耐盐植物品种及寻找提高植物耐盐性的途径和方法是国内外研究的热点^[2]。

蒲公英为菊科多年生的草本植物, 耐性好, 适应性强, 为常用的清热、解毒、消炎药, 同时也是一种保健野菜, 被国家卫生部列为药食兼用食品^[3]。随着人们对蒲公英功能特性研究的深入和对健康生活追求不断提升, 市场对优良蒲公英品种的需求日益增长, 开发利用蒲公英的耐盐特性, 培育优良的耐盐品种对于蒲公英的开发利用以及盐渍化土壤的利用和改良都具有重要的意义^[4]。大叶蒲公英的营养价值、医疗价值和经济价值都较高, 而且生物量大, 开发利用前景广阔。通过组织培养筛选耐盐的愈伤组织, 进而培育出耐盐的品种或品系, 是蒲公英生物技术抗性育种的研究方向之一^[5]。陈华等利用植物组织培养技术建立了药蒲

公英的植株再生体系^[6]; 张新果等通过筛选药蒲公英的愈伤组织获得药蒲公英的耐盐愈伤组织, 并进一步研究其生理生化特性^[7-8]; 刘艳芬等以大叶蒲公英为材料, 建立了完整的蒲公英再生体系, 并筛选到不同梯度的耐盐愈伤组织, 诱导获得大叶蒲公英耐盐变异株^[9-10]。

笔者所在课题组前期以大叶蒲公英叶片为外植体, 通过组织培养技术, 在含盐培养基上筛选获得了不同盐浓度梯度下的耐盐愈伤组织^[9-10], 并通过进一步诱导分化获得了不同盐浓度梯度下的耐盐性变异株系。本研究以不同盐浓度梯度下的大叶蒲公英耐盐性变异株系为试验材料, 研究不定芽诱导培养基、培养光质、移栽基质配比对其生长的影响, 以期为进一步快速、高效地培育大叶蒲公英耐盐品种及促进蒲公英产业发展提供保障。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以大叶蒲公英叶片为外植体, 经不同盐浓度梯度(0.5%、0.8%、1.0%、1.2%、1.5%、1.8%)培养基筛选得到耐盐性愈伤组织, 分别命名为 T1、T2、T3、T4、T5、T6^[9], 通过进一步诱导分化获得了蒲公英耐盐再生株系。培养温度为(25±2)℃, 光照度为 1 500~2 000 lx, 光照时间为 16 h/d。

1.2 试验方法

1.2.1 大叶蒲公英耐盐性愈伤组织在不定芽诱导培养基上的分化情况 以 MS 为基础培养基, 将耐盐性愈伤组织在 MS+0.2 mg/L 6-苄氨基嘌呤

收稿日期: 2019-08-09

基金项目: 河北省农林科学院现代农业科技创新工程(编号: F18R18001); 河北省重点研发计划(编号: 16226304D)。

作者简介: 张立娜(1983—), 女, 河北任丘人, 硕士, 研究实习员, 主要从事物种质创新及基因挖掘研究。E-mail: 3336905069@qq.com。

通信作者: 张晓东, 副研究员, 主要从事滨海盐碱地高效利用方面的研究。E-mail: bhszxd@163.com。

(6-BA)+0.01 mg/L 萘乙酸(NAA)的不定芽诱导培养基上进行培养(前期试验),连续观察 25 d,并记录组培苗不定芽生长分化情况。

1.2.2 培养光质对大叶蒲公英耐盐性变异组培苗生长势的影响 以“1.2.1”节中的试验结果为依据,选择大叶蒲公英耐盐性变异体 T2 作为后续试验材料。继代培养后,将生长健壮的 T2 组培苗分为 2 组(Y1-T2、Y2-T2),每组 10 瓶,在红白光(2:3)和日光灯的光照条件下培养。25 d 后测定并记录组培苗叶长、干质量、鲜质量。

1.2.3 基质配比对大叶蒲公英耐盐性变异组培苗移栽的影响 选取直径为 50 mm 的育苗盆,每盆装 60 g 不同配比基质进行试验。第 1 组试验共 6 个基质配比处理(A~F),每个处理 5 个重复;在第 1 组试验结果基础上,改良营养土和蛭石比例,并添加不同比例珍珠岩,进行第 2 组 6 个基质配比处理(G~L),每个处理 5 个重复(表 1)。幼苗生长温度控制在(25±2)℃,相对湿度控制在(70±2)%,分别在移栽后 5、10、15、20、25、30 d 记录幼苗成活率,根据成活率及生长状况选取最适宜生长基质配比。

2 结果与分析

2.1 大叶蒲公英耐盐性愈伤组织在 不定芽诱导培养基上的分化情况

将大叶蒲公英耐盐性愈伤组织在 MS+0.2 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA 的不定芽诱导培养基上培养,15 d 后,蒲公英耐盐性愈伤组织 T1~T6 均出现分化增殖现象,幼苗基部逐渐肿大,

表 1 大叶蒲公英耐盐性变异组培苗移栽基质配比

编号	基质配比(体积比)
A	蛭石
B	蛭石:营养土=1:1
C	蛭石:营养土=2:3
D	蛭石:营养土=1:2
E	蛭石:营养土=3:2
F	营养土
G	蛭石:营养土:珍珠岩=2:3:1
H	蛭石:营养土:珍珠岩=1:3:2
I	蛭石:营养土:珍珠岩=2:4:2
J	蛭石:营养土:珍珠岩=3:4:1
K	蛭石:营养土:珍珠岩=1:4:3
L	蛭石:营养土:珍珠岩=1:5:4

并有新的愈伤生成,新叶逐渐生长,颜色为浅绿色。20 d 后,蒲公英耐盐性愈伤组织 T1~T6 组培苗均发生不同程度的不定芽分化,25 d 后剔除褐变及染菌材料,统计诱导发生情况。观察发现,同种不定芽诱导培养基对不同大叶蒲公英耐盐性愈伤组织的不定芽分化影响不同(表 2),随着盐胁迫浓度增高,愈伤组织不定芽分化程度降低。蒲公英耐盐性愈伤组织 T1~T3 不定芽分化较多,幼苗生长较好;蒲公英耐盐性愈伤组织 T4~T6 不定芽分化减少,叶片发黄,幼苗长势弱(图 1)。蒲公英耐盐性愈伤组织 T2 的不定芽增殖倍数较高,为 8.3,分化率高,且幼苗生长状态良好,所以后期幼苗移栽等试验选取愈伤组织 T2 分化形成的蒲公英耐盐性变异株系。

表 2 大叶蒲公英耐盐性愈伤组织在 不定芽诱导培养基上的分化情况

愈伤组织	不定芽生长状况	增殖倍数
T1	不定芽多,分化率高,但叶片细小卷曲	8.6a
T2	不定芽数量较多,分化率高,生长良好	8.3a
T3	不定芽数量较多,叶片卷曲,生长态势较好	8.2a
T4	不定芽数量较少,叶片细小,卷曲,生长态势一般	7.8b
T5	不定芽数量少,叶片细小,叶片生长缓慢,生长态势一般	7.3bc
T6	不定芽数量少,叶片细小,有少量玻璃化苗,生长态势较弱	6.9c

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

2.2 培养光质对大叶蒲公英耐盐性变异组培苗生长势的影响

从图 2 可以看出,不同光谱条件对蒲公英组培苗生长势有着明显的影响,2:3 红白光照射下的 Y2-T2 比日光灯照射下的 Y1-T2 长势好,生长速度快。Y2-T2 的叶片平均长度为 6.5 cm,而 Y1-T2

的叶片平均长度仅为 4.3 cm(图 2-B)。Y2-T2 的平均干质量为 0.81 g,鲜质量为 1.77 g,Y1-T2 的平均干质量为 0.39 g,鲜质量为 1.23 g(图 2-A)。在 2:3 红白光照射下,幼苗的叶片长度,干质量、鲜质量都大于日光灯下。因此,在蒲公英组培苗培养过程中时,可选择红:白=2:3 的光质,以

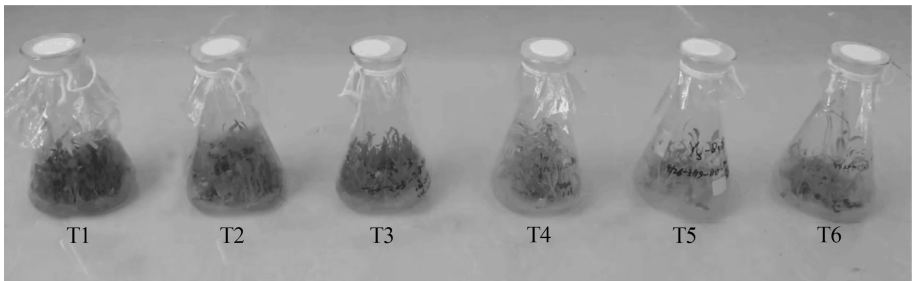


图1 大叶蒲公英耐盐性再生株系在不定芽诱导培养基上的分化情况

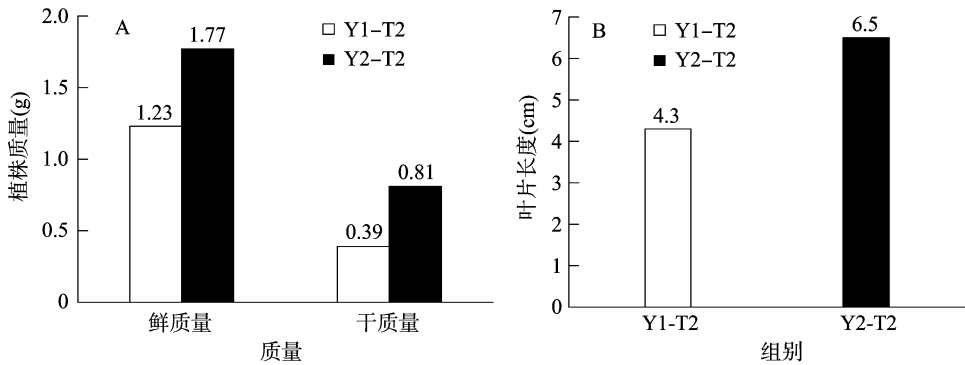


图2 不同光照处理对叶片生长的影响

提高蒲公英组培苗的生长速度及幼苗长势。

2.3 基质对比对大叶蒲公英耐盐性变异组培苗移栽的影响

由第1组试验结果(表3)可知,幼苗移栽到基质中30 d后,蛭石和营养土的比例为2:3时幼苗成活率最高,为60%。但是叶色黄绿,长势一般,根系生长弱。为了进一步提高移栽幼苗成活率,第2组试验适当调节蛭石和营养土比例,并加入了一定量的珍珠岩。当蛭石、营养土和珍珠岩比例为

1:4:3时成活率最高,为78%,且幼苗叶片呈青绿色,叶基坚挺,根系长势较好,新根长出1~4条,说明该比例较适于幼苗移栽成活。

3 讨论与结论

3.1 大叶蒲公英耐盐性愈伤组织在不定芽诱导培养基上的分化情况

盐胁迫能够改变细胞膜的正常透性,影响细胞一系列的生理代谢,造成植物发育迟缓,抑制植物

表3 不同基质对比对移栽成活率的影响

组别	编号	成活率(%)					
		5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d
1	A	90	45	33	30	25	10
	B	100	60	55	45	30	30
	C	100	80	75	65	65	60
	D	100	65	60	60	53	42
	E	90	50	47	35	35	28
	F	90	80	75	60	40	35
2	G	100	85	73	70	65	60
	H	100	80	75	75	73	70
	I	100	80	77	75	70	65
	J	100	85	83	80	78	75
	K	100	90	87	85	80	78
	L	100	85	75	70	60	55

组织和器官的生长和分化^[11]。徐爽在对苹果属 2 种植物愈伤组织和组培苗的生长发育研究中发现,盐胁迫使得 2 种苹果属植物的生长速率受到了较大的影响,并且出现了不同程度的组织损伤,给苹果的健康带来了较大损害^[12]。本研究中,相同的不定芽诱导培养基对不同蒲公英耐盐性愈伤组织的不定芽分化影响不同,随盐胁迫浓度梯度增高,愈伤组织不定芽分化率逐渐降低。蒲公英耐盐性愈伤组织 T1 ~ T3 不定芽分化较多,幼苗生长较好;蒲公英耐盐性愈伤组织 T4 ~ T6 不定芽分化减少,叶片发黄,幼苗长势弱。说明前期的盐胁迫培养对愈伤组织细胞产生了渗透损伤,使得愈伤组织的分化能力降低,且随着盐胁迫浓度的增高,这种损伤增大,愈伤组织分化程度降低且幼苗长势变弱。

3.2 培养光质对大叶蒲公英耐盐性变异组培苗生长势的影响

魏星等通过研究不同光质对菊花组培苗生长的影响认为,新型半导体光源 LEDs 是植物组织培养的理想光源^[13]。苏俊等对烟草组培苗的研究发现,与对照相比,红蓝绿和红蓝白组合光质,使烟草组培苗植株株高、叶长、叶宽、叶面积、茎粗、根数、根长和干质量显著增加,植株叶绿素含量也有提高但差异不显著^[14]。任桂萍等使用 LED 的不同光源照射蝴蝶兰组培苗,结果发现,不同光源对其生根和分化增殖效果的影响不同,红色的 LED 光照射可以促进叶芽的生长,而对于叶绿素的生长没有促进作用^[15]。孙翊等对非洲菊组培苗的研究发现,不同 LED 光质条件下,非洲菊组培苗的增殖系数差异显著,其中红蓝光比例为 4 : 1 处理显著高于其他处理^[16]。在本研究中,大叶蒲公英组培苗培养过程中,选择 2 : 3 红白光质,增强了植物的光合作用效率,使得幼苗叶片长度及干鲜质量都有明显增加,提高了组培苗的生长速度,为快速繁育大叶蒲公英耐盐性变异株提供了有利条件。

3.3 基质配比对大叶蒲公英耐盐性变异组培苗移栽的影响

细蛭石保水性效果好,珍珠岩透气性较好,二者混合,保证了基质的保水透气性,搭配适量营养土,能够提供植物生长所需土壤营养成分,提高大叶蒲公英耐盐性变异株移栽成活率。本研究将根系生长良好的大叶蒲公英耐盐性变异株,移栽于营

养土:蛭石:珍珠岩=1:4:3的混合基质中时,移栽成活率最高,达 78%。

经过对大叶蒲公英耐盐愈伤组织的不定芽分化诱导、培养光质的选择和移栽基质的筛选,使其组培苗移栽技术得以完善,基本建立了大叶蒲公英耐盐性变异株系的培育体系,为后续培育和开发应用大叶蒲公英耐盐株系提供理论基础。

参考文献:

- [1] 李建国,濮励杰,朱明,等. 土壤盐渍化研究现状及未来研究热点[J]. 地理学报,2012,67(9):1233-1245.
- [2] 刘云芬,彭华,王薇薇,等. 植物耐盐性生理与分子机制研究进展[J]. 江苏农业科学,2019,47(12):30-36.
- [3] 石国慧,陈远才,王旭德,等. 药食同源品蒲公英抗肿瘤活性及其作用机制的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2017,34(9):858-862.
- [4] 杨小玲,侯正仿,季静. 耐盐植物育种研究进展[J]. 中国农学通报,2008,24(8):213-216.
- [5] 陈华,李银心. 蒲公英研究进展和用生物技术培育耐盐蒲公英展望[J]. 植物学通报,2004,21(1):19-25.
- [6] 陈华,李平,刘晶,等. 药蒲公英再生体系的建立和优化[J]. 生物工程学报,2005,21(2):244-249.
- [7] 张新果,陈显扬,姜丹,等. 耐盐药蒲公英(*Taraxacum officinale* Weber.)愈伤组织筛选及生理生化特性分析[J]. 生物工程学报,2008,24(7):1202-1209.
- [8] 张新果,李银心,陈华,等. 药蒲公英(*Taraxacum officinale* Weber.)耐 1.5% NaCl 变异体的筛选及特性分析[J]. 生物工程学报,2008,24(2):262-271.
- [9] 刘艳芬,王秀萍,陈翠果,等. 大叶蒲公英愈伤组织耐盐突变体诱导与鉴定[J]. 河南农业科学,2018,47(2):102-106.
- [10] 刘艳芬,王秀萍,陈翠果,等. 大叶蒲公英耐盐突变体的筛选与植株再生[J]. 江苏农业科学,2018,46(21):106-109.
- [11] 赵晓惠. 盐胁迫下旱稻郑 2 愈伤组织的生理生化响应[D]. 兰州:兰州大学,2007.
- [12] 徐爽. 盐胁迫下苹果属两种植物愈伤组织和组培苗的生长发育以及耐盐机理研究[J]. 北京农业,2015(9):15.
- [13] 魏星,顾清,戴艳娇,等. 不同光质对菊花组培苗生长的影响[J]. 中国农学通报,2008,24(12):344-349.
- [14] 苏俊,刘映雯,杨凡,等. 不同光质对烟草组培苗生长及生理特性的影响[J]. 西北植物学报,2014,34(6):1206-1212.
- [15] 任桂萍,王小菁,朱根发. 不同光质的 LED 对蝴蝶兰组织培养增殖及生根的影响[J]. 植物学报,2016,51(1):81-88.
- [16] 孙翊,殷丽青,张永春,等. 不同 LED 光质对非洲菊组培苗生长及生理特性的影响[J]. 分子植物育种,2017,15(12):5140-5147.