

石进朝,陈 博,陈兰芬,等. 阳光毛白杨带芽茎段再生体系的构建[J]. 江苏农业科学,2021,49(14):50-55.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.14.009

阳光毛白杨带芽茎段再生体系的构建

石进朝,陈 博,陈兰芬,李彦侠

(北京农业职业学院,北京 102442)

摘要:以阳光毛白杨带芽茎段为材料,探讨适宜的外植体、消毒方法及 6-苄氨基嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和赤霉素(GA_3)对增殖生长和吲哚乙酸(IBA)、NAA 对生根的影响,并对适宜的瓶苗移栽生根长度、炼苗时期进行研究,构建阳光毛白杨带芽茎段再生体系。结果表明:(1)适宜的外植体为嫩枝带芽茎段及半木质化带芽茎段,发芽率分别达 86.7%、63.3%。(2)嫩枝带芽茎段消毒方法是先用 90% 乙醇(C_2H_5OH)溶液消毒 60 s,再用 0.1% 氯化汞($HgCl_2$)溶液消毒 4 min;半木质化带芽茎段消毒方法是先用 90% C_2H_5OH 溶液消毒 60 s,再用 0.1% $HgCl_2$ 溶液消毒 5 min。(3)适宜的增殖培养基为 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L+ GA_3 0.5 mg/L,适宜的生根培养基为 1/2 MS+IBA 0.5 mg/L。(4)炼苗移栽时,适宜的瓶苗根长为 1.5~3.5 cm,适宜的炼苗时期为每年的 3 月,能够获得 87.50% 的成活率。本再生体系为快速繁育优质阳光毛白杨苗木奠定了基础。

关键词:带芽茎段;增殖;生根;成活率;阳光毛白杨

中图分类号: S722.3⁺7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)14-0050-05

毛白杨(*Populus tomentosa*)是杨柳科(Salicaceae)杨属(*Populus* L.)白杨派落叶大乔木,是我国北方特有的造林绿化树种。阳光毛白杨是笔者于 2015 年在北京地区 1 株雄性毛白杨上发现的芽变体,它的特点是雄性不飞絮,新生叶在整个生长季节为金黄色,老叶渐变绿,为毛白杨的一个彩色变异体。我国北方地区乡土彩色大乔木树种不多,阳光毛白杨的诞生,为我国北方地区城乡绿化,特别是治理飞絮、增彩延绿等提供了新树种。阳光毛白杨扦插成活率低,繁殖系数不高,影响了它的推广与应用。关于毛白杨组织培养快速繁殖,许多学者进行了相关研究,提高了毛白杨的繁殖系数^[1-7]。如何在短期内繁殖出优质阳光毛白杨苗木,把这一乡土彩色树种早日应用到首都园林绿化中去,本研究于 2019 年 2 月至 2020 年 8 月对阳光毛白杨进行带芽茎段再生体系构建的研究,建立阳光毛白杨快繁体系,以期规模化繁育优质阳光毛白杨苗木奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为一年生阳光毛白杨(*Populus tomentosa* Sunny)芽变枝条。试验选取阳光毛白杨半木质化带芽茎段、嫩枝带芽茎段作为外植体材料。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体采集与消毒

1.2.1.1 外植体的采集 嫩枝带芽茎段的采集:参照花叶毛白杨外植体培养方法^[8]。2019 年 2 月 18 日从阳光毛白杨芽变枝条,采集芽体饱满、未萌发,生长健壮的一年生枝条,剪成 10~12 cm 枝段,放入 1 000 mL 烧杯中水培,置于 20~30 ℃有直射光的室内,当其芽萌发长度达到 4~5 cm,长出 4~6 张叶片时,选取其嫩枝带芽茎段作为外植体材料。

半木质化带芽茎段的采集:2019 年 5 月 16 日在室外露地选取当年生阳光毛白杨枝条上端半木质化带芽茎段作为外植体材料。

1.2.1.2 外植体的消毒 把采集到的阳光毛白杨外植体先用毛刷蘸取少许洗涤灵液,反复轻轻刷洗 5~6 次,用蒸馏水充分冲洗干净后,把半木质化枝条及嫩枝剪切成长为 1.0~1.2 cm 的带芽小段,再用蒸馏水冲洗 30 min,在洗涤灵溶液中振荡 15 min。先用 90% 乙醇(C_2H_5OH)溶液消毒 60 s,再用 0.1% 氯化汞($HgCl_2$)溶液分别消毒 3、4、5、6、7 min,共计

收稿日期:2020-11-01

基金项目:2019 年度北京市教委科技计划一般项目(编号:KM201912448005)。

作者简介:石进朝(1964—),男,陕西大荔人,硕士,教授,主要从事观赏植物繁育与生态研究。E-mail:shijincho88@163.com。

设置 5 个处理。每个处理 30 个样品。消毒后蒸馏水冲洗 6~8 次,再用无菌滤纸吸干水分后备用。

1.2.2 初代培养 把经过消毒的阳光毛白杨外植体接种在 MS 培养基上进行初代培养(图 1-a、图 1-b),培养室温度为(25±1)℃,光照度为 2 000~3 000 lx,光照时间为 12 h/d。在超净工作台上将无菌外植体接种于 100 mL 广口瓶中,用封口膜封口。

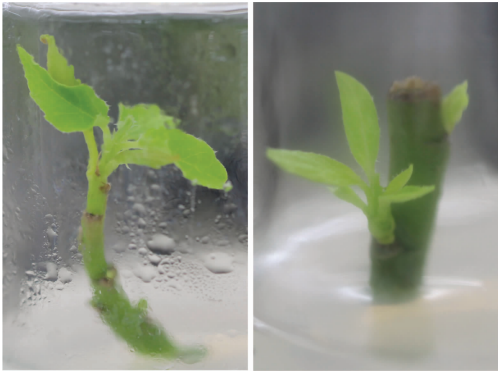


图1 阳光毛白杨初代培养

1.2.3 增殖生长中 6-苄氨基嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)及赤霉素(GA₃)适宜添加浓度的确定 当初代苗高度达到 6~8 cm,接近瓶盖时,以 MS 为继代增殖基本培养基,在其中加入不同浓度的 6-BA(A)、NAA(B)和 GA₃(C),设置为 3 个因素,每个因素 3 个水平,不考虑交互作用,采用 L₉(3⁴)均匀水平正交试验,共计 9 个处理,方案设计见表 1。

表 1 生长调节剂浓度正交试验设计方案

处理号	水平			因素		
	A	B	C	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	GA ₃ 浓度 (mg/L)
1	A ₁	B ₁	C ₁	0.1	0.01	0.1
2	A ₂	B ₁	C ₂	0.3	0.01	0.3
3	A ₃	B ₁	C ₃	0.5	0.01	0.5
4	A ₃	B ₂	C ₁	0.5	0.05	0.1
5	A ₁	B ₂	C ₂	0.1	0.05	0.3
6	A ₂	B ₂	C ₃	0.3	0.05	0.5
7	A ₂	B ₃	C ₁	0.3	0.1	0.1
8	A ₃	B ₃	C ₂	0.5	0.1	0.3
9	A ₁	B ₃	C ₃	0.1	0.1	0.5

将初代苗切成长为 2 cm 的带芽小段进行增殖培养,每个处理样品 30 个,继代 25 d 后,统计增殖倍数、高度(H)为 2.5 cm 及以上的增殖苗占比等数据,记录生长势。确定适宜的 6-BA、NAA 及 GA₃ 添加浓度。

1.2.4 生根培养基中,吲哚乙酸(IBA)及 NAA 适宜的添加浓度的确定 参照变叶金银木的方法^[9]。当继代苗生长到高 5~6 cm 时,以 1/2 MS 为生根基本培养基,在其中加入不同浓度的 IBA 及 NAA,每个处理 30 个样品,切取继代苗带芽茎段进行生根培养,25 d 后调查各处理瓶苗的生根数量、根长、根生长势,依此确定添加 IBA 及 NAA 的适宜浓度。

1.3 瓶苗生根长度与移栽时期试验

在生根培养 25 d 后,当阳光毛白杨瓶苗生长高度达 5~6 cm,有 4~6 张正常叶片时,将生长健壮的瓶苗打开瓶口 3 d,进行不同生根长度(≤1.5 cm、1.5~3.5 cm、≥3.5 cm)及一年中不同时期(3 月 12 日、7 月 21 日、9 月 15 日及次年的 1 月 20 日)的移栽试验。依据移植成活率,确定适宜的移植瓶苗生根长度及一年中适宜的移植时期。

1.4 数据处理

应用 SPSS 19.0 数据分析软件,对本试验中的数据进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对外植体发芽率的影响

2 种阳光毛白杨的外植体先用 90% C₂H₅OH 溶液消毒 60 s,再用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒处理不同时间。由表 2 可知,2 种阳光毛白杨外植体经不同时间 0.1% HgCl₂ 溶液消毒处理后,发芽率差异明显。半木质化带芽茎段的发芽率最高(63.3%)时的消毒时间为 5 min,用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒 7 min 时,发芽率为 0。可见,半木质化带芽茎段适宜的消毒方法为先用 90% C₂H₅OH 溶液处理 60 s,再用 0.1% HgCl₂ 溶液处理 5 min。

表 2 0.1% HgCl₂ 不同消毒时间对阳光毛白杨外植体发芽率的影响

编号	消毒时间 (min)	发芽率(%)	
		半木质化带芽茎段	嫩枝带芽茎段
1	3	13.3±0.2d	20.0±0.3b
2	4	43.3±0.4b	86.7±0.5a
3	5	63.3±0.5a	10.0±0.1c
4	6	30.0±0.3c	0
5	7	0	0

注:表中数据为平均值±标准差,同列数据后不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。表 6 同。

嫩枝带芽茎段作为外植体材料经过 3~7 min 0.1% HgCl₂ 溶液消毒处理后,最大发芽率为 86.7%,其对应的 0.1% HgCl₂ 溶液消毒时间为 4 min;随着消毒时间的增加,发芽率明显下降,消毒

6~7 min,发芽率降低为 0。可见,嫩枝带芽茎段为外植体时,适宜的消毒方法为先用 90% C₂H₅OH 溶液处理 60 s,再用 0.1% HgCl₂ 溶液处理 4 min。

2.2 不同浓度的 6-BA、NAA 及 GA₃ 对阳光毛白杨瓶苗增殖生长的影响

在 MS 基本培养基中分别加入不同浓度的 6-BA、NAA 和 GA₃,设置为 3 个因素,每个因素 3 个水平,采用 L₉(3⁴) 的均匀水平正交试验,共计 9 个处理。选择生长健壮,高度≥2.5 cm 的初代苗,将其剪切成 1.0 cm 的带芽茎段,进行接种,25 d 后平均增殖倍数、增殖苗高度(H)≥2.5 cm 百分比及生长势见表 3,方差分析结果见表 4、表 5。

由表 3 可知,在 MS 基本培养基中分别加入不同浓度的 6-BA、NAA、GA₃,培养 25 d 后均能诱导出继代增殖苗,增殖倍数为 2.39~4.62,增殖苗高

度(H)≥2.5 cm 的百分比为 11.3%~86.3%。结合表 4、表 5 中方差分析结果可以看出,6-BA 浓度对阳光毛白杨瓶苗增殖倍数和瓶苗高度均有极显著影响,而 NAA 和 GA₃ 的浓度变化对其影响不显著。较高浓度(0.3 mg/L)的 6-BA 对阳光毛白杨瓶苗的增殖生长有明显的促进作用,表现为增殖倍数高,苗木生长健壮(图 2);随着 6-BA 浓度的增加,丛生芽颜色有发黄迹象,玻璃化明显增多,长势变弱。依据增殖培养 25 d 后的平均增殖倍数、增殖苗高度(H)≥2.5 cm 的百分比及增殖苗生长势 3 项指标综合来看,阳光毛白杨瓶苗增殖生长时,适宜的 6-BA、NAA 及 GA₃ 浓度分别为 0.3、0.05、0.5 mg/L。即阳光毛白杨瓶苗增殖生长适宜的培养基为 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L。

表 3 不同浓度的 6-BA、NAA 及 GA₃ 对阳光毛白杨瓶苗增殖生长的影响

处理	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	GA ₃ 浓度 (mg/L)	增殖倍数 (倍)	H≥2.5 cm 的 增殖苗占比 (%)	生长势	备注
1	0.1	0.01	0.1	2.39	11.3	+	苗弱,不拔节
2	0.3	0.01	0.3	3.68	63.2	++	增殖苗生长中等
3	0.5	0.01	0.5	3.30	55.3	++	叶细长失绿,苗弱
4	0.5	0.05	0.1	3.17	46.1	++	叶细长失绿,苗弱
5	0.1	0.05	0.3	2.50	18.2	+	苗弱,不拔节
6	0.3	0.05	0.5	4.62	86.3	+++	叶大、生长旺盛、粗壮
7	0.3	0.1	0.1	4.10	54.1	++	叶小,生长中等,拔节少
8	0.5	0.1	0.3	2.81	33.5	++	出现玻璃苗
9	0.1	0.1	0.5	2.68	30.7	+	苗弱,出现玻璃苗

注: + 表示增殖苗生长势弱, ++ 表示增殖苗生长势中等, +++ 表示增殖苗生长势旺盛。表 7 同。

表 4 生长调节剂诱导瓶苗增殖倍数方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	39 972.687	2	19 986.343	19.327	0.002
B	1 555.447	2	777.723	0.105	0.902
C	4 385.840	2	2 192.920	0.315	0.741

注: P<0.05 表示差异显著, P<0.01 表示差异极显著。表 5 同。

表 5 生长调节剂诱导瓶苗高度方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	3 429.260	2	1 714.630	10.455	0.001
B	178.687	2	89.343	0.127	0.883
C	778.107	2	389.053	0.642	0.559

2.3 不同浓度 IBA 及 NAA 对瓶苗生根的影响

以 1/2 MS 为阳光毛白杨瓶苗生根基本培养基,在其中添加不同浓度的 IBA(0.3、0.5、0.8、1.0 mg/L)及



图2 阳光毛白杨继代培养植株

NAA(0.5、0.8、1.0、1.5 mg/L)。当继代苗生长高度为 5~6 cm,接近瓶盖时,将其剪切成 1.0 cm 的带芽茎段接种,进行生根培养,25 d 后调查瓶苗单株平均生根数量、生根长度、根生长势,结果见表 6。由表 6 可知,不同浓度 IBA 对阳光毛白杨继代苗生

根长度影响差异显著,在 IBA 浓度为 0.3~1.0 mg/L 范围内,单株平均生根数量呈正态分布,在 0.5 mg/L 时达最大值,为 8 条;平均生根长度与 IBA 浓度无明显相关性。根生长势表现为在 IBA 浓度为 1.0 mg/L 时,基部有愈伤组织形成,根少而短;IBA 浓度为 0.8 mg/L 时,瓶苗生根少,单株平均 3 条,根细长,长势弱;在 IBA 浓度为 0.5 mg/L 时,第 20 天开始生根,生根快,数量多,达 8 条,根生长势健壮。IBA 浓度为 0.3 mg/L 时,生根慢,数量少,为 2 条,根细长。

表 6 不同浓度 IBA 及 NAA 对瓶苗生根的影响

编号	IBA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	调查株数 (株)	生根数 (条)	根长 (cm)	根生长势
1	1.0	0	30	1	1.0±0.2d	有愈伤,根少,短
2	0.8	0	30	3	3.9±0.4a	根细长,弱
3	0.5	0	30	8	2.1±0.5c	生根多,健壮
4	0.3	0	30	2	4.1±0.3a	根少,细长
5	0	1.5	30	3	3.7±0.2ab	根少,细长
6	0	1.0	30	2	3.5±0.2b	根少,细长
7	0	0.8	30	0	0	
8	0	0.5	30	0	0	

2.4 影响阳光毛白杨瓶苗移栽成活率的因素

植物瓶生根苗炼苗移栽成活率受多种因素影响,如开瓶炼苗时间、生根苗地径^[8-9]、栽培基质及光照、温湿度等环境控制因子直接决定着炼苗成活率。

2.4.1 不同瓶苗生根长度对生根瓶苗移栽成活率的影响 瓶苗的生根长度及根的健壮程度与移栽成活率密切相关。把经过开口 3 d 的阳光毛白杨生根瓶苗,选择基径≥0.8 mm 的苗,洗去培养基,按不同生根长度(≤1.5 cm、1.5~3.5 cm、≥3.5 cm),在智能温室内移栽到穴盘中,以蛭石与珍珠岩混合物(体积比为 3:1)作基质。环境控制为初期保持 70%~80% 的相对空气湿度,温度控制在 20~30℃,适当遮阴,每隔 10 d 喷 1 次 80% 多菌灵 800 倍液,连喷 3 次,30 d 后调查成活株树、苗木生长势,统计成活率,结果见表 7。

表 7 不同瓶苗生根长度对移栽成活率的影响

编号	根长 (cm)	移栽数 (株)	成活数 (株)	成活率 (%)	苗木 生长势
1	≤1.5	72	33	45.83	+
2	1.5~3.5	72	63	87.50	+++
3	≥3.5	72	52	62.22	++

苗木根系过长,如根长≥3.5 cm 时进行移栽,须要对苗木进行修根处理,会造成伤根现象;苗木

当 NAA 浓度为 1.0、1.5 mg/L 时,阳光毛白杨继代苗有少量生根,单株平均生根数量分别为 2、3 条,平均生根长度小,根少而细长。显示出 IBA 比 NAA 更有利于阳光毛白杨瓶苗生根,有促进瓶苗生根的作用。

从瓶苗的平均生根数、根长、根生长势 3 项指标综合来看,阳光毛白杨瓶苗生根时,适宜的 IBA 添加浓度为 0.5 mg/L,即适宜的生根培养基为 1/2 MS+IBA 0.5 mg/L。

根系过短,如根长≤1.5 cm 时进行移栽,由于苗木根系幼嫩,移栽时也会成伤根,苗木根系过长或过短,都会影响移栽成活率。由表 7 可知,不同生根长度的阳光毛白杨生根瓶苗移栽到穴盘中的成活率呈现正态分布,根长为 1.5~3.5 cm 时成活率最高,为 87.50%,根长≥3.5 cm 的成活率次之(62.22%),根长≤1.5 cm 时,成活率最低(45.83%)。可见,在进行阳光毛白杨生根瓶苗移栽时,适宜的瓶苗根长为 1.5~3.5 cm。

2.4.2 不同移栽炼苗时期对生根瓶苗移栽成活率的影响 分别在一年中的 3 月 12 日、7 月 21 日、9 月 15 日及次年的 1 月 20 日,把已打开瓶口 3 d,选用基径≥0.8 mm、根长 1.5~3.5 cm 的阳光毛白杨生根瓶苗,移栽到装有蛭石的穴盘中,环境控制同“2.4.1”节,成活率见表 8。

表 8 不同移栽炼苗时期对生根瓶苗移栽成活率的影响

编号	炼苗时期 (月-日)	移栽数 (株)	成活数 (株)	成活率 (%)
1	03-12	72	63	87.50
2	07-21	72	35	48.61
3	09-15	72	59	81.94
4	01-20	72	28	38.89

一年中不同炼苗时期对苗木成活率的影响,实质上是温度、湿度等环境条件对苗木成活率的影

响。由表 8 可知,在 7 月 21 日移栽炼苗时,成活率较低(48.61%),这时候气温高,湿度大,苗木容易染病,成活率低;在 1 月 20 日移栽炼苗时,这时候是一年中寒冷的时期,成活率最低(38.89%);在 3 月 12 日、9 月 15 日,这时候室外温湿度适宜,移栽成活率较高(图 3),分别为 87.50%、81.94%。在进行阳光毛白杨生根瓶苗移栽时,一年中适宜的炼苗时间为 3 月和 9 月。3 月炼苗时,培养 30 d 后,生根苗高度为 15~20 cm(图 4),即可移栽到大田继续培养成大苗,不需要在温室中越冬;9 月炼苗时,需要在温室中越冬不能露地栽培,从节约成本方面考虑,阳光毛白杨适宜的炼苗移栽时期为 3 月。



图3 阳光毛白杨瓶苗移栽



图4 阳光毛白杨移栽穴盘苗

3 讨论与结论

3.1 讨论

3.1.1 提高阳光毛白杨外植体诱导率的途径 阳光毛白杨腋芽密被白色绒毛,消毒不易,易出现消毒过度或消毒不彻底等现象,尤其是从室外采集的半木质化带芽茎段,消毒灭菌困难,要么全部杀死,要么污染严重。本试验选择室内水培阳光毛白杨萌枝上嫩枝带芽茎段作为外植体,与变叶金银木组织培养外植体选择一样^[9],获得了较高的诱导成活率,探索出了阳光毛白杨嫩枝带芽茎段及半木质化

带芽茎段适宜的消毒灭菌方法,为规模化快速繁育优质阳光毛白杨苗木奠定了基础。

3.1.2 激素对阳光毛白杨组培体系构建的影响 生长调节剂是组织培养中诱导植物形态建成的主要因素^[10-11],细胞分裂素在植物增殖中起着重要的作用,6-BA 常与其他调节剂组合诱导不定芽产生和促进植物增殖^[12]。本试验结果显示,增殖率在一定的 6-BA 浓度范围内呈上升趋势,较低浓度的 6-BA 促进茎段不定芽的增殖,而达到最佳的浓度后,再增加 6-BA 的浓度则表现为抑制不定芽的诱导,同时外植体玻璃化的趋势加重。所以在实际操作中 6-BA 浓度不宜过高,否则会抑制外植体的整体生长。IBA 及 NAA 在生根诱导中使用广泛,通常较低浓度的生长素有利于外植体生根,浓度过高会产生抑制效果,本研究得出了相似的结果。NAA 除了促进生根外还能促进发芽,而 IBA 诱导生根的作用较强且发根数量较大,根系较粗壮。

3.2 结论

嫩枝带芽茎段是阳光毛白杨再生体系适宜的外植体材料,发芽率达 86.7%。半木质化带芽茎段也可作为阳光毛白杨外植体材料,诱导出腋芽的发生,发芽率为 63.3%。嫩枝带芽茎段适宜的消毒方法为先 90% C_2H_5OH 溶液消毒 60 s,再用 0.1% $HgCl_2$ 溶液消毒 4 min;半木质化带芽茎段适宜的消毒方法为先 90% C_2H_5OH 溶液消毒 60 s,再用 0.1% $HgCl_2$ 溶液消毒 5 min。阳光毛白杨再生体系适宜的增殖生长培养基为 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.05 mg/L + GA_3 0.5 mg/L,适宜的生根培养基为 1/2MS + IBA 0.5 mg/L。生根苗移栽炼苗时,适宜的生根瓶苗的根长为 1.5~3.5 cm,适宜的炼苗时期为每年的 3 月,能够获得 87.50% 的成活率。

参考文献:

- [1] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 2 版. 北京:中国农业大学出版社,2002:26
- [1] 李景琦,胡晓莉,王成社,等. 不同激素对三倍体毛白杨腋芽诱导和增殖效应的研究[J]. 西北林学院学报,2002,17(2):37-40.
- [2] 郝贵霞,朱 祯,朱之梯. 毛白杨叶片组培再生芽的玻璃化问题探讨[J]. 北京林业大学学报,1999,21(1):68-71.
- [3] 陆瑞菊,黄剑华,王亦菲,等. 三倍体毛白杨快繁技术研究[J]. 中国农学通报,2003,19(2):80-82
- [4] 朱红斌,魏晓兰,陈晓妮,等. 三倍体毛白杨组织培养再生系统的建立[J]. 甘肃林业科技,2002,27(3):6-7,36.
- [5] 左永忠,崔宝禄,李坤霞,等. 芽变毛白杨组织培养初步研究

陆玉建,张永磊.绿萝离体快繁体系的建立及其甲基磺酸乙酯诱变条件[J].江苏农业科学,2021,49(14):55-60.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.14.010

绿萝离体快繁体系的建立及其甲基磺酸乙酯诱变条件

陆玉建^{1,2,3},张永磊¹

(1. 滨州学院生物与环境工程学院,山东滨州 256603; 2. 山东省黄河三角洲野生植物资源开发利用工程技术研究中心,山东滨州 256603;

3. 山东省黄河三角洲生态脆弱带工程技术研究中心,山东滨州 256603)

摘要:为了探究绿萝离体再生的最适条件和甲基磺酸乙酯(ethyl methane sulphonate,简称 EMS)诱变绿萝的合适剂量,首先以绿萝叶柄为材料进行离体培养。结果表明,用叶柄诱导愈伤组织的最适培养基为 MS+0.5 mg/L 噻苯隆(TDZ)+0.3 mg/L 萘乙酸(NAA),不定芽分化最适培养基为 MS+3.0 mg/L 6-苄氨基嘌呤(6-BA)+0.5 mg/L NAA,生根最适培养基为 1/2MS+0.05 mg/L NAA。然后设置不同剂量的 EMS 诱变绿萝叶柄愈伤组织,并对其存活率、致死率进行统计,初步获得 EMS 诱变绿萝愈伤组织的半致死条件:0.6% EMS 诱变处理 4 h 或 0.8% EMS 诱变处理 2 h。研究结果对于今后利用 EMS 诱变绿萝愈伤组织、筛选性状优良的突变体具有重要意义。

关键词:绿萝;叶柄;愈伤组织;甲基磺酸乙酯(EMS);诱变

中图分类号:S687.904+.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)14-0055-06

绿萝(*Eipremnum aureum*)为天南星科绿萝属多年藤本植物,其形态优美,具有较高的观赏价值^[1]。绿萝吸收室内甲醛的能力较强,深受人们喜爱^[2]。此外,绿萝对铅、镉、铬等重金属具有一定的富集能力,并能够通过特定机制将根部积累的重金属运输到不同部位,因此在净化低浓度重金属污染的水体方面效果良好^[3-5]。目前绿萝多采用压条和扦插的方式进行繁殖,繁殖系数低、速度慢、遗传稳定性差,无法在短期内得到大量优质的植株^[6]。组织培养是实现绿萝快速繁殖的有效途径,近年来的研究主要以绿萝茎段为外植体,通过愈伤组织分化或直接诱导生芽的方式获得绿萝再生植株^[7-8]。由于外植体选材的局限性和植物生长调节剂对绿萝离体

再生影响的复杂性,现阶段还存在离体再生频率低的缺点。此外,绿萝还存在种质资源单一的不足。化学诱变育种是丰富植物种质资源的有效途径,化学诱变剂甲基磺酸乙酯(ethyl methane sulphonate,简称 EMS)因其诱变频率高、成本低廉、操作简便,已成为获得突变体、创制新种质的有效手段^[9-11]。鉴于此,为丰富绿萝种质资源、培育出观赏价值更高和污染清除效果更好的绿萝新品系,本研究在建立绿萝高频离体再生体系的基础上,通过 EMS 对绿萝愈伤组织进行诱变,探究 EMS 诱变绿萝愈伤组织的最佳剂量,研究结果对于下一步通过化学诱变、筛选性状优良的绿萝突变体具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

绿萝于 2019 年春购自山东省滨州市花卉市场,在滨州学院生物与环境工程学院人工气候室内进行培养。

收稿日期:2020-11-24

基金项目:国家自然科学基金(编号:D070106);山东省高等学校科技计划(编号:J18KA155)。

作者简介:陆玉建(1979—),男,河南南阳人,博士,讲师,主要从事植物生物技术研究。E-mail:luyujian79@163.com。

[J]. 河北林果研究,2006,21(1):10-13.

[6] 石超,何秀霞,李彦舫.三倍体毛白杨带芽茎段遗传转化系统的建立[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版),2003,18(3):232-234.

[7] 卢善发,赵华燕,魏建华,等.三倍体毛白杨组织培养再生系统的建立[J]. 植物学报,2001,43(4):435-437.

[8] 石进朝,陈兰芬.花叶毛白杨组织培养的研究[J]. 西北林学院学报,2007,22(4):90-94.

[9] 石进朝,陈兰芬,王晶,等.变叶金银木组织培养研究[J]. 中南林业科技大学学报(自然科学版),2011,31(6):116-121.

[10] Dagla H R. Plant tissue culture[J]. Resonance,2012,8(17):759-767.

[11] 宋跃朋,陈盼飞,卜琛,等.高产优质毛白杨良种组培繁育体系构建[J]. 北京林业大学学报,2019,41(7):121-127.

[12] 李慧,樊军锋,高建,等.毛白杨无性系 30 号组培再生体系的建立[J]. 北方园艺,2012(3):110-113.