

大花萱草—金娃娃组培苗继代增殖因素的研究

路 光, 王 岩, 涂传炜

(吉林省长春市园林科学研究所, 130062)

中图分类号: S682.1⁺9; S603.6 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2006)06-00139-02

大花萱草金娃娃为百合科(Liliaceae)萱草属(Hemerocallis L.)多年生草本植物。是从多倍体萱草(Hemerocallis fulva Var. flore pleno)后代中选育出的矮生优良品种^[1]。其花色金黄艳丽宜人。萌芽早、枯黄晚。6月初开花,可持续到10月上旬,花期长达4个月。具有抗寒、抗旱、抗病虫害、耐盐碱、花期长和绿色期长等特点,是优秀的园林绿化新材料。

金娃娃结实率低,种子萌芽率低,利用植物组织培养微繁殖技术是解决多倍体萱草金娃娃种苗大量繁殖的最有效途径。大花萱草金娃娃组培苗增殖与继代培养是组培微繁的关键技术。因此我们对影响金娃娃组培苗增殖与继代培养的因素进行了研究与探讨。

1 材料与方法

1.1 试验材料

金娃娃(Stelladaoro)试材取自长春市园林科学研究所花卉研究室实验基地。该品种是长春市园林科学研究所2001年从沈阳市农科院引入。试验时间为2002年6月至2004年4月末。试验地点在长春市园林科学研究所实验室。采用MS为基本培养基,pH5.8,除了研究光照和温度对组培苗的影响外,其他试验处理中的培养温度为22~24℃,光照强度1200~1600 Lx,每天光照时间12~14 h,光源为白色日光灯管。

1.2 试验设计与方法

收稿日期: 2006-08-20

响也最大,伤害最严重,加重褐化的发生,这与前人的研究结果一致;通过本试验发现,Zn、K和Ca能一定程度减轻褐化的发生,三种元素Zn处理的褐化指数最低。但在这三种矿质元素中,除Ca以外,其他两处理的外植体都出现不同程度的失绿,所以在培养过程中,培养基中减少Cu和Fe的含量,适当增加Zn、K和Ca的含量可以减轻褐变。

参考文献:

- [1] 周志宏,梁小敏,吴森生.蝴蝶兰试管生根试验研究[J].江西园艺,2003,(4):37-38.
- [2] Hildebrandt V, Hamey PM. Factor affecting the release of phenolic exudates from explant of Pelargonium hortorum Bailey 'Sprinter Scarlett'. J. Hort Sci, 1998, 63(4): 651-657.
- [3] Loomis WD, Battail J. Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. Phytochem, 1966, 5: 423-438.

1.2.1 光照强度 设置4种光照强度,黑暗(0 Lx)、500、1000、2000 Lx,测量的光强以瓶顶为准。将诱导的丛生芽适当分割,转接到继代培养基中。继代培养均用MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,蔗糖30 g/L,琼脂6.5 g/L,其他条件与前期培养相同。每个处理接种10瓶,每瓶4株,30 d后调查。

1.2.2 蔗糖和琼脂 试验所用的培养基为MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,蔗糖用食用糖代替,浓度为:10、20、30、40 mg/L;琼脂浓度为:6、8、10 mg/L。采用拉丁方试验设计,以上各试验继代培养2~3次,每个处理接种10瓶,每瓶3株。

1.2.3 低温保存 转接分化的不定芽苗20瓶,每瓶3株接于MS+BA 1.0+NAA 0.1 mg/L中。取其中10瓶,在0~4℃冰箱内保存,30 d后取出,在培养室内培养,蔗糖30 g/L、琼脂6.5 g/L,另外10瓶作为对照,30 d后进行正常继代培养,然后与冰箱内保存材料,共同放置在培养室内培养,30 d后调查记录。

2 结果与分析

2.1 光照强度对芽增殖的影响

光照是植物生长过程中不可缺少的因素,光照强度是指在特定的时间内植物所接触到的光能的量,光强对光合作用的影响最大^[2]。本试验结果表明(表1),增殖系数与光照强度变化有密切关系。当光照强度为0 Lx时,增殖系数为1.5,光照强度2000 Lx时,增殖系数为3.0,增加了100%;光照

- [4] 周俊辉,周家容,曾浩森.园艺植物组织培养中的褐化现象及抗褐化研究进展[J].园艺学报,2002,27(增刊):481-486.
- [5] 张妙霞,孔详生,郭秀璞,等.柿树组织培养防止外植体褐变的研究[J].河南农业大学学报,1999,33(1):87-91.
- [6] 梅兴国,董妍玲,潘学武.红豆杉细胞继代培养防褐变措施的研究[J].天然产物研究与开发,2001,(13):8-12.
- [7] 顾之中,江绍玟.水稻愈伤组织发生褐变的影响因素研究[J].江西农业大学学报,1992,14(3):206-211.
- [8] 寇莉苹,刘兴华,薛惠岚.富士苹果果肉褐变研究现状[J].西北农林科技大学学报(自然科学版)增刊,2001,29(1).
- [9] 丁学义,黄林生.钙锌硼抑制油桃果肉褐变的效应[J].中国果树,1997,(3):28-29.
- [10] 郁志芳,彭贵霞,夏志华.鲜切山药酶促褐变机理的研究[J].食品科学,2003,(24):44-50.

强度 2 000 Lx 比光照强度 500 Lx 增殖系数增加了 41%；光照强度 2 000 Lx 比光照强度 1 000 Lx 增殖系数增加了 9%。这说明了:光照强度在 0~2 000 Lx 范围内,随光照强度的增加,增殖系数增大,速度加快;芽的增殖需要有光照,当无光照时增殖缓慢;光照强度 1 000 Lx 和 2 000 Lx 处理的增殖系数在 0.05 水平上达到了显著,在 0.01 水平上未达到极显著差异。从瓶苗的生长状况来看,随着光照强度的增加,培养物玻璃化苗率显著降低,光照强度为 2 000 Lx 处理的瓶苗效果最好。1 000 Lx 处理的玻璃化率仅为 6.7%。因此多倍体萱草金娃娃组培苗继代增殖的适宜光照强度应为 1 000 Lx~2 000 Lx。

表 1 光照强度对金娃娃芽增殖的影响

光照强度 (Lx)	接种 数	分化 芽数	增殖 系数	玻璃化苗率 (%)	培养物生长状况
0	40	60	1.50 de	100.0	分枝少,生长势弱,苗黄化
500	40	85	2.13 cB	26.7	分枝中等,生长势中等,苗翠绿
1000	40	110	2.75 bA	6.7	分枝中等,生长势强,苗深绿粗壮
2000	40	120	3.00 aA	0.0	分枝中等,生长势强,苗深绿粗壮

注: a、b、c、d 表示在 0.05 水平上, A、B、C、D 表示在 0.01 水平上 Duncan 新复极差检测结果

表 2 蔗糖和琼脂对金娃娃组培苗继代增殖的影响

琼脂+蔗糖 (g)	分化芽数 (个)	增殖系数	玻璃化芽数 (个)	培养物生长状况
6+10	24	0.8	24	苗黄绿、长势弱
6+20	54	1.8	8	苗深绿、长势中等
6+30	113	3.76	4	苗浓绿、健壮长势优
6+40	94	3.13	5	苗深绿、长势中等
8+10	40	1.33	9	苗不长、黄化、部分死亡
8+20	47	1.57	5	苗绿色、长势中等
8+30	115	3.83	3	苗浓绿、生长健壮
8+40	80	2.67	0	苗绿色、长势较弱
10+10	30	1.0	2	苗绿色、长势弱
10+20	58	1.93	0	苗绿色、长势一般
10+30	52	1.73	6	苗较弱、长势一般
10+40	43	1.43	8	苗较细弱、长势弱

2.2 蔗糖和琼脂对继代增殖的影响

在组织培养中蔗糖不仅是碳素来源和能量来源,又是重要的渗透压调节剂,它对于离体组织的形态发生有着特殊作用^[3]。琼脂是一种从海藻中提取的高分子碳水化合物,它是固体培养中最常用的固定剂,本身不提供任何营养,主要作用是使培养基凝固,支撑培养材料^[4]。蔗糖、琼脂用量不同,对培养物芽的分化、苗的玻璃化程度以及生长状况均有不同的影响。试验结果如(表 2)所示。当琼脂用量达 10 g/L 时,培

养物的增殖系数及生长状况均较差,造成的原因可能是由于此时培养基过硬,不利于养分的扩散和吸收,使植株生长发育迟缓。随着蔗糖浓度的增加,芽的分化有增加的趋势,当蔗糖的浓度达到 30 g/L 时增殖系数达到最高,随后开始下降,这说明当蔗糖浓度超过一定值时,培养物的生长会受到抑制,长势变弱。由试验可以看出,当琼脂的浓度为 6 g/L 或 8 g/L,蔗糖浓度为 30 g/L 时,为较适宜的用量。此时芽的增殖系数较高,培养物的生长状况良好,玻璃化程度较低,但从降低成本的角度考虑,琼脂浓度为 6 g/L 时是最适合的用量。

2.3 低温贮存对芽苗继代增殖的影响

温度条件的改变在一定程度上能够影响芽苗的增殖。天竺葵的一个品种分别用 10、20、30℃等不同温度处理 1~4 周,培养 8 周后,以 10℃处理的茎尖繁殖数最高,20℃处理其次,30℃处理最差。在木本植物的胚培养中,发现胚在 2~5℃条件下进行一定时间的低温处理,有利于提高胚的成活率^[6]。本试验(表 3)对金娃娃瓶苗在 2~4℃下保存的结果表明,低温处理的培养物,无论是从培养物的分化枝数、植株颜色、生物产量、玻璃化苗率、生长势等方面均优于对照品种。对照分化苗数为 3.5 个,处理的分化苗数达 5.5 个,而且苗的颜色深绿,玻璃化苗率低。根据调查结果对分化苗数进行了 T 检验分析,结果表明分化苗数差异达到了极显著水平,表明低温处理对分化苗数有极其显著的影响。经过低温处理可以调整芽苗增殖的节奏,促进芽苗的分化,使芽苗更加健壮,有利于继代培养的完成。

表 3 低温冷藏对金娃娃组培苗继代增殖的影响

处理	分化苗数(个)	玻璃化苗率(%)	平均生物产量(g/株)	培养物颜色
2~4℃	5.5	8.3	0.64	深绿
22~24℃(CK)	3.5	16.7	0.41	浅绿

3 结论

芽的继代增殖的适宜条件为,培养基 MS+BA0.5 mg/L+NAA0.01 mg/L,光照 1 000~2 000 Lx,pH 值 5.8,蔗糖 30 g/L,琼脂 6 g/L。

参考文献:

[1] 王香春.城市景观花卉[M].北京:中国林业出版社,2001.
[2] I. V. Halk. Callus formation in stem internode section of low bush blueberry (Vaccinium angustifolium ait.) cultured on a medium containing plant growth regulation. Hort. Rev. 1976, 16: 29—35.
[3] 黄学林.高等植物组织离体培养的形态建成及其调控[M].北京:科学出版社,1995.
[4] 熊丽.观赏花卉的组织培养与大规模生产[M].北京:化学工业出版社,2002.
[5] 曹孜义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].甘肃科学技术出版社,1996.