

绿花重瓣铁线莲愈伤组织诱导研究

张丽琼, 常权记, 廖咸康, 周 琼, 嵇 苏

(安康学院 农学与生命科学院, 陕西 安康 725000)

摘 要:以绿花重瓣铁线莲茎段为外植体, MS 为基本培养基, 研究了 2, 4-D 与 6-BA 对绿花重瓣铁线莲愈伤组织诱导效应的影响。结果表明: 2 种生长调节剂单独使用时, 均能诱导出愈伤组织, 且 2 种愈伤组织诱导的部位及形态有明显的不同, 2, 4-D 诱导的部位为茎段中部, 愈伤组织白色膨松, 6-BA 诱导的部位为茎段顶端, 愈伤组织浅绿色疏松; 2, 4-D 与 6-BA 配合使用时, 相互存在拮抗作用, 不利于愈伤组织的诱导。

关键词:绿花重瓣铁线莲; 愈伤组织; 诱导

中图分类号:S 687.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)20-0152-03

铁线莲属毛茛科多年生木质藤本植物, 有玫瑰红、粉红、紫色和白色等花色及重瓣和单瓣之分。因其适应性强, 抗旱耐寒, 花期长, 因而成为现代园林中进行垂直绿化的优良植材。绿花重瓣铁线莲是产于我国秦巴山区的一个优良地方原生品种。该品种具备了现代优良铁线莲品种所要求的典型特征: 花色新奇, 花瓣(实为萼片)为浅绿色, 这种颜色在铁线莲乃至其它花卉中都很少见; 重瓣, 每朵花有开展的花瓣百枚左右, 整个花朵犹如一只规整的绿色绣球; 花朵大, 盛开的花朵直径达 6~7 cm; 花多, 3 a 以上的植株几乎节节有花。重瓣铁线莲品种较少, 而能开绿色花朵者报道更少, 因此该品种具有极高的观赏性和开发前景^[1]。尽管该品种花色淡雅秀丽, 生长健壮, 移栽易于成活, 但繁殖却较为困难。由于不能产生种子, 只能采用无性繁殖, 扦插繁殖成活率很低。采用组织培养的方法可以快速繁殖植物, 但对于铁线莲的组织培养方法研究较少^[2-3], 特别是绿花重瓣铁线莲, 至今仍未研究出完整的组培方法。该试验在总结前人试验基础上^[4], 提高了生长调节剂的使用浓度, 研究利用绿花重瓣铁线莲茎段诱导愈伤组织的方法, 为利用组织培养方法快速繁殖该植物提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

安康市当地品种绿花重瓣铁线莲。

第一作者简介:张丽琼(1979-), 女, 云南个旧人, 硕士, 讲师, 研究方向为植物生物技术与作物栽培及土壤学。E-mail: yryzlj@akte.net.cn。

通讯作者:常权记(1962-), 男, 陕西户县人, 副教授, 研究方向为设施农业与植物遗传育种。

基金项目:安康学院专项科研计划资助项目(2005AZX019)。

收稿日期:2010-07-06

1.2 试验方法

1.2.1 材料预处理 将盆栽绿花重瓣铁线莲置于室内弱光下处理约 10 d 以新抽出的嫩枝为外植体进行愈伤组织的诱导。

1.2.2 材料消毒与接种 嫩枝用自来水清洗后用 75% 的酒精处理 5 s, 再用 0.1% 升汞消毒 8 min, 无菌水冲洗干净后将枝条切成 1 cm 左右的茎段接种于培养基中。在 25℃, 光照 1 600 lx、10 h/d 的条件下培养。培养基以 MS 为基本培养基, 蔗糖浓度为 0.2%, 琼脂 0.7%, pH 5.8。在此基础上附加不同浓度的 2, 4-D 与 6-BA, 各处理具体的培养基配方见表 1。

表 1 不同处理的培养基

处理	培养基/mg · L ⁻¹
1	MS
2	MS+2, 4-D 1.0
3	MS+2, 4-D 2.0
4	MS+2, 4-D 3.0
5	MS+6-BA 1.0
6	MS+2, 4-D 1.0+6-BA 1.0
7	MS+2, 4-D 2.0+6-BA 1.0
8	MS+2, 4-D 3.0+6-BA 1.0
9	MS+6-BA 2.0
10	MS+2, 4-D 1.0+6-BA 2.0
11	MS+2, 4-D 2.0+6-BA 2.0
12	MS+2, 4-D 3.0+6-BA 2.0
13	MS+6-BA 3.0
14	MS+2, 4-D 1.0+6-BA 3.0
15	MS+2, 4-D 2.0+6-BA 3.0
16	MS+2, 4-D 3.0+6-BA 3.0

2 结果与分析

分别于接种后第 14 天及第 28 天进行观察。试验结果呈现出 3 种明显不同的情况, 2 种生长调节剂配合使用的处理均未能诱导出愈伤组织; 单独使用 2, 4-D 的处理均能诱导出愈伤组织, 且愈伤组织形成于茎段中部, 呈白色膨松的形态; 单独使用 6-BA 的处理均能诱导出

愈伤组织,愈伤组织形成于茎段顶端,呈绿色致密的形态。由此可知,利用绿化重瓣铁线莲幼嫩茎段诱导愈伤组织时,2,4-D与6-BA 2种植物生长调节剂相互间有抑制作用,宜单独使用,不宜配合使用。

由表2可知,2,4-D的浓度大于1.0 mg/L时,才能诱导出愈伤组织,且随生长调节剂浓度的增大,诱导率增加,诱导出的愈伤组织也越膨松。

表2 2,4-D对绿化重瓣铁线莲愈伤组织诱导效应

处理	培养基 /mg · L ⁻¹	培养14 d		培养28 d	
		愈伤组织 形态	愈伤组织 诱导率/%	愈伤组织 形态	愈伤组织 诱导率/%
1	MS	无	0	无	0
2	MS+2,4-D 1.0	无	0	无	0
3	MS+2,4-D 2.0	白色透明	40	白色透明	60
4	MS+2,4-D 3.0	白色,疏松	50	白色,疏松	80

由表3可知,单独使用6-BA时诱导出的愈伤组织不仅不理想,而且诱导率低,最高仅30%,随时间延长,其极易褐变。因此,使用6-BA诱导绿化重瓣铁线莲幼嫩茎段愈伤组织时,浓度偏大,且转接要及时,否则易导致愈伤组织褐变。

表3 6-BA对绿化重瓣铁线莲愈伤组织诱导效应

处理	培养基 /mg · L ⁻¹	培养14 d		培养28 d	
		愈伤组织 形态	愈伤组织 诱导率/%	愈伤组织 形态	愈伤组织 诱导率/%
1	MS	无	0	无	0
5	MS+6-BA 1.0	浅绿色,致密	20	已褐变	20
9	MS+6-BA 2.0	浅绿色,致密	20	已褐变	20
13	MS+6-BA 3.0	浅绿色,致密	30	浅绿色,致密	30

在余下的8个处理中,均为2,4-D与6-BA配合使用,接种后外植体很快褐变,都未能诱导出愈伤组织。

3 结论

试验结果表明,以绿化重瓣铁线莲幼嫩茎段为外植体,使用2,4-D和6-BA诱导愈伤组织时,2种植物生长调节剂单独使用较好。

2,4-D为外源植物激素,可诱导愈伤组织生长,而6-BA能够促进细胞分裂、诱导植物组织分化。从试验结果可知,这2种激素对绿化重瓣铁线莲幼嫩茎段的愈伤组织诱导率均随浓度的增加而增加,但浓度相同时,2,4-D更容易诱导出愈伤组织。其次,二者的作用部位及诱导出的愈伤组织的形态明显不同。2,4-D作用部位在茎段中部,而6-BA的作用部位在茎段的顶端。此外,二者诱导出的愈伤组织形态也不相同,2,4-D诱导的愈伤组织白色蓬松,而6-BA诱导的愈伤组织浅绿致密。

2,4-D和6-BA配合使用不能诱导出愈伤组织,而在已研究过的试验中^[4],2,4-D和6-BA 2种植物生长调节剂再加以IAA,就能诱导出愈伤组织,说明在绿化重瓣铁线莲幼嫩茎段愈伤组织诱导中,如果同时使用2,4-D和6-BA,应该加入一定浓度的IAA或其它生长调节剂。

由该试验结果可知,利用组织培养技术诱导绿化重瓣铁线莲愈伤组织时,外植体的选择和植物生长调节剂种类及用量的选择是比较关键的几个技术。在外植体的选择上,应该对材料进行预处理,即在室内弱光条件下放置7~10 d,用抽出的嫩枝作为外植体容易诱导出愈伤组织。

在植物生长调节剂的使用上,不仅要考虑植物生长调节剂使用的种类和浓度,还要考虑相互之间的抑制作用。试验所用的2种植物生长调节剂之间就存在相互拮抗的作用,且愈伤组织诱导率、诱导愈伤组织的部位以及愈伤组织的形态明显不同。

综合该试验及前期的试验结果来看^[4],诱导绿化重瓣铁线莲的愈伤组织,适宜的外植体为经室内弱光处理后新抽出的嫩枝,诱导愈伤组织的速度较快,培养2周就能诱导出愈伤组织,而利用自然环境下生长的嫩枝,诱导速度慢,接种30 d后才开始出现愈伤组织^[4]。在使用的诱导培养基中如要同时使用2,4-D和6-BA,则在加大植物生长调节剂的同时可以考虑加入一定浓度的IAA。

4 讨论

绿化重瓣铁线莲具有良好的开发利用前景,但其种子繁殖较困难,无性繁殖扦插成活率低,因此,研究绿化重瓣铁线莲的组织培养技术,利用组织培养的手段来提高绿化重瓣铁线莲的繁殖速度具有重要的现实意义。从试验研究的进展看,利用组织培养技术繁殖绿化重瓣铁线莲是有可能的,但目前的技术还不太完善,有待进一步研究。在以后的研究工作中要进一步探索愈伤组织诱导的适宜的培养基配方,如2,4-D和6-BA与IAA以何种浓度配合使用较好,使用其它的生长调节剂等;探索诱导出的不同形态的愈伤组织,应采用何种分化培养基,才能分化培养出绿化重瓣铁线莲的组培苗;愈伤组织能呈现不同的形态,说明这些细胞的微观结构和组成是不同的,因此,分化培养基也不能千篇一律,需要进行大量的试验来探究;此外还要进一步探索组培苗的驯化移栽成活率。组培苗移栽成活是组织培养最后也最关键的一步,只有这一步成功了,整个绿化重瓣铁线莲的技术体系才完善。

参考文献

- [1] 廖成康,龚小松.珍贵的绿化重瓣铁线莲[J].花木盆景(花卉园艺版),2004(12): 6.
- [2] 倪新,马毓.红花铁线莲的组织培养[J].植物学通报,1984(2): 71-73.
- [3] 张启香,方炎明,吕梅,等.铁线莲'Multi-Blue'不定芽及体细胞胚发生的初步研究[J].园艺学报,2007,34(2): 465-468.
- [4] 周琼,张丽琼,屈国盛,等.重瓣铁线莲组织培养研究[J].陕西农业科学,2008(5): 92-93.

白牛槭休眠芽苞的离体培养

顾德峰¹, 赵和祥¹, 王 刚²

(1. 吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林省白河林业局两江林场, 吉林 白河 133600)

摘 要:以白牛槭休眠芽为外植体, 采用不同培养基和不同接种方法进行组织培养研究。结果表明: 剥去白牛槭休眠芽鳞片, 露出叶原基 2~4 mm, 进行接种的萌芽率最高; 且在培养基 MS+BA 0.5 mg/L+KT 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L, pH 5.6~5.8 中培养效果最好。

关键词: 白牛槭; 芽苞; 组织培养

中图分类号: S 792.35 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)20-0154-02

白牛槭(*Acer mandshuricum*)是东北地区观赏性较强的一种彩叶树种。入秋时节色艳夺目, 叶形秀丽, 在园林绿化中已被广泛认可^[1]。白牛槭现多以种子繁殖为主, 但生产规模较小且难以保持其优良种性, 所以无法解决市场彩化苗木短缺现状, 扦插繁殖由于较难生根致使幼苗成活率极低。因此, 非常有必要对其进行组织培养及离体快繁的研究。然而, 目前有关白牛槭的研究甚少^[2-3], 组培快繁的研究尚未见报道。现以白牛槭休眠芽苞为外植体, 研究其离体状态下的萌发条件, 为进一步离体快繁提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源及接种

4月中旬, 取吉林农业大学校园内白牛槭枝条休眠

芽。实验室无菌条件下用 0.1% 氯化汞灭菌 5 min, 无菌水冲洗 5 次, 滤纸吸干水分后接种于编号 B1~B5 的芽苞启动培养基中, 培养基成分组成如下: B1: MS+BA 0.2 mg/L+KT 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L, pH 5.6~5.8; B2: MS+BA 0.5 mg/L+KT 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L, pH 5.6~5.8; B3: MS+BA 1.0 mg/L+KT 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L, pH 5.6~5.8; B4: MS+BA 1.5 mg/L+KT 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L, pH 5.6~5.8; B5: MS+BA 2.0 mg/L+KT 0.01 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L, pH 5.6~5.8。

1.2 芽苞接种方法及培养条件

芽苞的接种方法分 4 种: 1. 解剖镜下将芽苞剥去鳞片, 露出顶端分生组织和叶原基, 保留顶部幼叶 2~4 mm; 2. 切除芽苞上半部分(图 2); 3. 灭菌后不修剪芽苞直接接种(图 3); 4. 芽苞带枝条接种(图 4)。培养条件: 白天最高温度 30℃, 夜间最低温度 8℃; 光照时间 12 h/d, 光照强度 1 000~2 000 lx。培养 30 d 后统计萌芽状况。

第一作者简介: 顾德峰(1956-), 男, 硕士, 教授, 现主要从事园林植物组织培养研究工作。E-mail: gu.df@163.com。

基金项目: 吉林省科技厅青年基金资助项目(20000556-2); 吉林省科技厅重大资助项目(200504163)。

收稿日期: 2010-05-25

Inducement of *Clematis florida* var. *plena* Callus

ZHANG Li-qiong, CHANG Quan-ji, LIAO Xi'an-kang, ZHOU Qiong, ZHUO Su

(College of Agriculture and Life Science Ankang University, Ankang, Shaanxi 725000)

Abstract: The effect of 2, 4-D and 6-BA to the callus inducement of *Clematis florida* var. *plena* were studied in this experiment, it had used the young stem to be the explants and used the MS medium to be the base medium. The results showed that the two plant growth regulators both can inducement callus when use them alone, and the growing position and form of the two callus was different distinctly. The callus of inducement by 2, 4-D was white and bulginess, and its growing position was the middle of the stem. The callus of inducement by 6-BA was light green and loose, and its growing position was the top of the stem. It was disadvantageous to the callus inducement when the two plant growth regulators being used altogether, maybe the two plant growth regulators can resist each other.

Key words: *Clematis florida* var. *plena*; callus; inducement