

两种不同激素组配方式对魔芋愈伤的诱导效应

胡选萍^{1,2}

(1. 陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723000; 2. 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中 723000)

摘要:以魔芋芽鞘为试材,研究了2种不同激素组配方式对魔芋芽鞘外植体脱分化与愈伤组织诱导的效应。结果表明:2种不同激素组配方式对魔芋芽鞘外植体脱分化启动与愈伤组织诱导效果差异明显,表现在无论静态的膨大率与愈伤诱导率,还是动态的出愈速度差异均处于显著水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);综合各种效应变量,培养基中 6-BA : NAA 为 1.0 : 2.0 或 KT : 2,4-D 为 0.5 : 2.0 或 1.0 : 2.0 是魔芋芽鞘外植体诱导愈伤组织的合适激素配比条件。

关键词:魔芋;激素组配;愈伤组织

中图分类号:Q 939 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)07-0096-04

魔芋(*Amorphophallus*)属天南星科(Araceae)魔芋属(*Amorphophallus* Blume.)多年生草本植物,具有发达的地下块茎,富含果胶、生物碱、淀粉、17种氨基酸和多种微量元素^[1]。魔芋作为我国的特种经济作物,近年来被广泛应用于食品、医药、化工、纺织等各领域^[2-4]。陕南地区由于独特的地理位置与气候条件,魔芋种植历史悠久,现已成为全国魔芋生产的重要种植地区之一。在传统魔芋生产栽培中,通常用主球茎着生的根茎进行繁殖,繁殖系数低,易感病而腐烂,严重阻碍了魔芋大面积推广种植与相关深度开发产业的发展^[5-6],而利用组织培养技术是解决魔芋种质退化、满足生产需求的根本途径。该研究以魔芋为试材,分析2种不同激素组配对魔芋芽鞘外植体愈伤组织发生的效应方式与效应程度,为优化魔芋离体组织培养条件,促进种质筛选与快速繁育提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以陕南当地清江花魔芋球茎上剥离下来的芽鞘组织为外植体,魔芋球茎供试材料由陕西省汉中市农业科学研究所提供。

1.2 试验方法

1.2.1 材料预处理 将魔芋原球茎预先保藏在湿润的沙土中3~4个月,待顶芽长至2~3 cm,选取生长健壮、大小一致的球茎,用自来水冲洗掉试材表面的杂质,用手术刀将芽鞘剥离开来,在流水下冲洗0.5~1.0 h备

用。在超净工作台上,将芽鞘组织首先用75%乙醇漂洗30 s,再用0.1%升汞浸泡15 min,处理过程中不断摇动;然后用无菌蒸馏水漂洗4~5次,每次2~3 min。最后将消毒好的材料在无菌操作条件下,切成长、宽各0.5 cm左右的块备用。

1.2.2 2种激素组配的效应研究 以MS为基本培养基,内含蔗糖30 g/L,琼脂粉6.0 g/L, pH 5.8~6.0, PVP 0.1%,附加不同的激素种类与浓度配比。6-BA与NAA分别设0.5、1.0 mg/L与1.0、2.0 mg/L 2个水平,组合形成4种激素浓度配比分别是0.5 : 1.0、0.5 : 2.0、1.0 : 1.0、1.0 : 2.0。KT与2,4-D分别设0.5、1.0 mg/L与1.0、2.0 mg/L 2个水平,组合形成4种激素浓度配比分别是0.5 : 1.0、0.5 : 2.0、1.0 : 1.0、1.0 : 2.0,其它培养条件相同。无菌操作条件下,将预先切分好的芽鞘外植体,随机接种在上述培养基中,在温度(25±2)℃,相对湿度50%~60%,散射光条件下培养30 d,定期观察并统计外植体膨大的个数与诱导产生愈伤组织的外植体个数。

1.3 数据分析

膨大率(%) = 膨大外植体数/接种外植体总数 × 100%; 出愈率(%) = 诱导出愈伤组织的外植体数/接种外植体总数 × 100%; 出愈速度 = $(N_x - N_y) / [(X - Y) \times K]$; N_x 代表第X天出愈的外植体数, N_y 代表第Y天出愈的外植体数, K 代表接种外植体总数。

所得数据借助Excel与SPSS 16.0分析软件处理,对试验数据进行单因素方差分析,探索2种不同激素组配方式对魔芋芽鞘外植体愈伤组织诱导的效应。

2 结果与分析

2.1 2种不同激素组配方式对魔芋芽鞘膨大率的影响

将魔芋芽鞘外植体接种到不同激素组配的试验处

作者简介:胡选萍(1975-),女,硕士,讲师,现主要从事植物细胞工程等研究工作。E-mail:huxuanping@163.com.

基金项目:陕西省教育厅自然科学专项计划资助项目(2013JK0741)。

收稿日期:2013-11-14

理后,第3天左右部分芽鞘出现明显可见膨大,随着培养时间的延长,外植体开始上翘、卷凹或拱起,1周左右达到外植体膨大的高峰时期,以后外植体膨大个数逐渐趋于稳定,体积还在不断增大。对于不同激素种类、不同激素浓度配比,魔芋芽鞘外植体脱分化膨大情况见图1、2。

由图1、2可以看出,KT与2,4-D组合配比诱导魔芋芽鞘外植体脱分化效果略优于6-BA与NAA组配,具体表现在KT与2,4-D组配平均膨大率为90.27%,而6-BA与NAA组配其平均膨大率为85.44%,其外植体脱分化的主要差异分离于2种激素比例为0.5:2.0时。另外,从2种激素的具体配比分析,当6-BA与NAA组合配比为1.0:2.0时,膨大率达到最大,为95.05%,而这一点与KT和2,4-D的组配诱导效果具有良好的一致性,即当KT与2,4-D配比为1.0:2.0时,膨大效果最佳,膨大率为98.28%,由此可见,高浓度的细胞分裂素与生长素配合对于魔芋芽鞘外植体的启动脱分化是有利的。

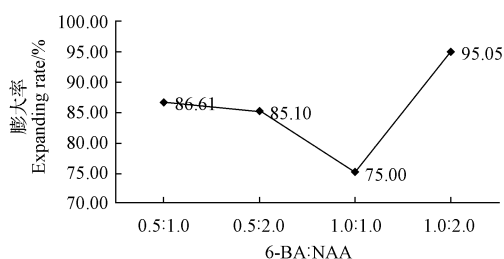


图1 6-BA与NAA不同配比对膨大率的影响

Fig. 1 The effect of 6-BA and NAA in different ratios on the expanding rate

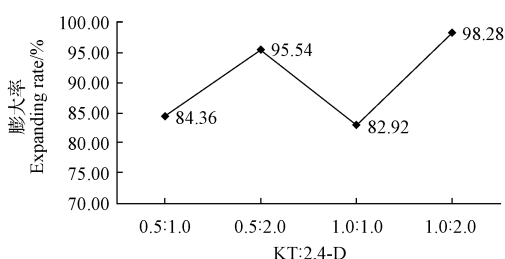


图2 KT与2,4-D不同配比对膨大率的影响

Fig. 2 The effect of KT and 2,4-D in different ratios on the expanding rate

2.2 2种不同激素组配方式对魔芋芽鞘愈伤诱导率的影响

魔芋芽鞘外植体接种至不同激素配比的培养基中,第10天左右开始出现愈伤组织,第20天左右愈伤诱导达到高峰。从愈伤组织的诱导方式上分析,6-BA与NAA组合配比处理中,外植体趋向于以2种方式形成愈伤组织:第一,从芽鞘内表皮处启动脱分化;第二,外

植体整体膨大,逐渐形成淡绿色愈伤组织。而对于KT与2,4-D组配,外植体愈伤组织的发生位置与愈伤颜色则表现出更为明显的多态性,芽鞘外植体的外表皮、内表皮、切口处等均有愈伤组织的出现,且愈伤颜色也丰富,白色、淡绿色、淡粉色或粉红色。由图3、4可知,对于不同激素的组配方式,魔芋芽鞘外植体愈伤诱导率差异明显。对于6-BA与NAA组配而言,除二者比例在1.0:2.0时,愈伤诱导率很高(95.05%),在其它浓度比例时,魔芋芽鞘愈伤组织诱导效率相对较低(<80%),而对于KT与2,4-D组配而言,当二者比例为0.5:2.0与1.0:2.0时,均能高效诱导愈伤组织的发生。

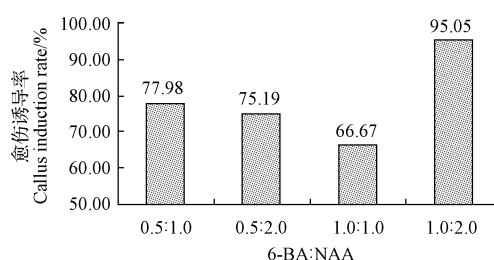


图3 6-BA与NAA不同配比对愈伤诱导率的影响

Fig. 3 The effect of 6-BA and NAA in different ratios on callus induction rate

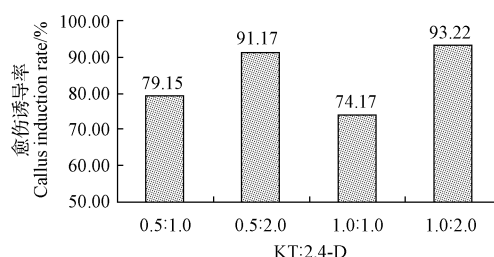


图4 KT与2,4-D不同配比对愈伤诱导率的影响

Fig. 4 The effect of KT and 2,4-D in different ratios on callus induction rate

2.3 2种不同激素组配方式对魔芋芽鞘出愈速度的影响

在特定激素种类与浓度配比条件下,出愈速度是评价魔芋芽鞘外植体诱导产生愈伤组织的外植体数量增长变化程度的一个重要变量,它能够从动态的角度衡量外植体愈伤形成与积累的快慢程度。

由图5、6可知,对于6-BA和NAA组配与NAA和KT组配2种不同的激素组合配比而言,其愈伤组织诱导速度相对最快的激素配比均为1.0:2.0,而这与魔芋芽鞘外植体愈伤诱导的静态指标膨大率与愈伤诱导率之间也表现出良好的协同性。另外从总体上分析,魔芋芽鞘外植体对于KT与2,4-D激素组合相对更为敏感,其平均出愈速度比6-BA与NAA组合配比约高出10%左右(0.0408个/d)。

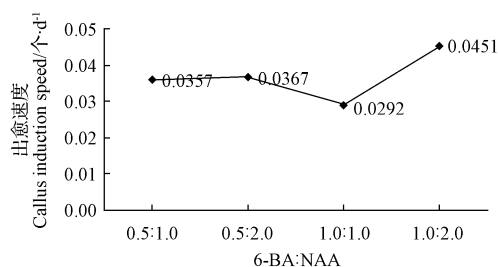


图5 6-BA与NAA不同配比对出愈速度的影响

Fig. 5 The effect of 6-BA and NAA in different ratios on callus induction speed

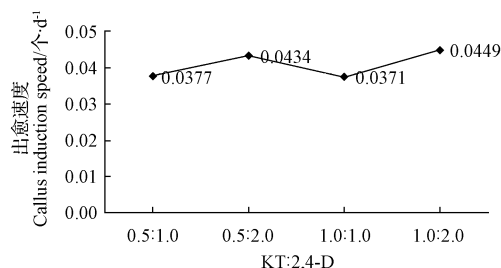


图6 KT与2,4-D不同配比对出愈速度的影响

Fig. 6 The effect of KT and 2,4-D in different ratios on callus induction speed

2.4 2种不同激素组配方式对魔芋芽鞘愈伤诱导的方差分析

不同激素组合配比是离体培养过程中影响外植体脱分化与愈伤组织诱导的重要控制变量。以2种不同激素组配方式为自变量,分别以膨大率、愈伤诱导率与出愈速度为因变量,做单因素方差分析。

表1 2种不同激素组配方式对魔芋芽鞘外植体愈伤诱导效应的F检验

Table 1 Ttest of two growth-regulators combination having on inducing of callus from coleoptile explants

单因素	6-BA : NAA				KT : 2,4-D			
方差分析	平方和	均方	F值	P值	平方和	均方	F值	P值
膨大率	0.041	0.014	68.486	0.001	0.036	0.012	10.211	0.024
愈伤诱导率	0.085	0.028	17.485	0.009	0.051	0.017	43.061	0.002
平均出愈速度	0.000	0.000	9.523	0.027	0.000	0.000	32.494	0.003

由表1可知,6-BA与NAA组配对魔芋芽鞘外植体脱分化与愈伤组织诱导效应显著,具体表现在对膨大率与愈伤诱导率99%水平上差异显著($F=68.486$, $F=17.485$, $P<0.01$),对于平均出愈速度而言在95%水平上差异显著($F=9.523$, $P<0.05$)。对于KT与2,4-D组配,同样表现出明显的效应差异($F=10.221$, $P<0.05$; $F=43.061$, $P<0.01$; $F=32.494$, $P<0.01$)。由此可见,2组不同激素组配方式是诱导魔芋芽鞘外植体脱分化出愈的重要调控变量,其合适配比的筛选对于魔芋离体培养条件优化具有重要意义。

3 讨论

相关研究报道愈伤组织的诱导发生受外植体类型、光照条件、植物基因型等诸多因素之间互动作用影响的复杂过程^[7],其中植物生长物质对植物离体培养中的细胞分化和形态建成具有明显的调节作用^[8],尤其是生长素类和细胞分裂素类的平衡对于诱导原基的形成非常重要^[9-10]。该研究以6-BA与NAA组配与KT与2,4-D组配,2种不同的激素组合配比方式为自变量,设计不同激素种类与浓度比例,分析其对魔芋芽鞘外植体愈伤组织的诱导效应。结果表明2种不同激素组配方式对魔芋芽鞘外植体脱分化启动与愈伤组织诱导效果差异明显,表现在无论静态的膨大率与愈伤诱导率,还是动态的出愈速度均表现出明显的生理调控效应($P<0.05$ 或 $P<0.01$),这也正为魔芋芽鞘外植体离体培养合适激素比例的选择提供了前提。另外,研究还发现对于6-BA与NAA组配方式,愈伤组织的发生多源自内表皮或整体膨大出愈,而采用KT与2,4-D组配方式,魔芋芽鞘外植体愈伤组织的发生位置与愈伤组织的形态、颜色等更趋于多样性,这一方面可能与魔芋芽鞘不同部位的分生状态及细胞活力水平有关,另一方面也可能与魔芋外植体对不同激素组配的敏感程度差异有关系;从试验结果中看,KT与2,4-D组配方式对魔芋芽鞘外植体启动脱分化的效应相对更强,尤其利于难以形成愈伤组织的部位,比如芽鞘外表皮,这对于魔芋离体愈伤诱导具有重要意义。此外,对于不同部位诱导出的不同类型的愈伤组织,其后期细胞的分裂增殖能力、变异潜力、分化水平以及产生次生代谢产物的能力等方面的差异还有待进一步分类进行系统研究。

参考文献

- [1] 刘佩瑛,孙远明.魔芋学[M].北京:中国农业出版社,2003.
- [2] 聂小宝,潘洪民,魏雪琴,等.魔芋葡甘聚糖在果品保鲜中应用研究进展[J].食品研究与开发,2012(3):231-234.
- [3] 刘喜纲,刘翠哲,常金花.魔芋葡甘聚糖作为药用辅料的应用概况[J].中国医院药学杂志,2009(23):2026-2028.
- [4] 尚晓娅,钦传光,牛卫宁,等.新型功能材料魔芋葡甘聚糖的研究与应用[J].材料导报,2009(13):32-36.
- [5] 徐炜,王婷婷,刘列平,等.陕西岚皋县魔芋软腐病原菌的分离与鉴定[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2011(11):97-102.
- [6] 杨英,何峰,金文闻,等.魔芋种植业发展存在的问题与对策[J].湖北农业科学,2008(9):1095-1098.
- [7] 申秋秀,胡根海,赵伟伟,等.不同浓度激素处理对棉花愈伤组织诱导的影响[J].种子,2009,28(7):101-104.
- [8] 吕冬霞,曲长福.植物生长调节剂对愈伤组织培养的影响[J].北方园艺,2004(5):68.
- [9] 朱青松,梅康凤,王沙生.外源生长素对烟草髓愈伤组织分化和内源IAA含量的影响[J].北京林业大学学报,1999,12(1):22-25.
- [10] 熊国胜,李家洋,王永红.植物激素调控研究进展[J].科学通报,2009,54(18):2718-2733.

影响辣椒愈伤组织诱导的关键因素分析

高素燕, 李素文, 吕敬刚, 焦定量, 黄亚杰

(天津科润蔬菜研究所, 天津 300384)

摘要:以 24 个辣(甜)椒品种为试材,研究了基因型、外植体、激素配比对愈伤组织诱导率的影响。结果表明:不同基因型愈伤组织诱导率差异显著,最高可达 100%,最低为 24%;真叶和茎段均可诱导出愈伤组织,茎段诱导效果好于真叶;以添加 1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA 的 MS 培养基为愈伤组织诱导的最佳培养基。

关键词:辣椒;愈伤组织;组织培养

中图分类号:S 641.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)07-0099-03

辣椒(*Capsicum annuum* L.)属茄科辣椒属一年生或多年生草本植物,世界各地均有栽培。辣椒组织培养是辣椒优良品种快速繁殖、突变体保存利用及基因工程的基础,特别是近年来,随着基因工程的兴起,通过改造基因来培育辣椒抗病品种越来越受到重视^[1],人们能定向地将一些抗病虫害的基因导入辣椒,以便改良辣椒种质资源。采用组织培养可以直接诱变和筛选出具有抗病、抗虫等优良性状的品种,有利于保存辣椒种质资源。

尽管目前国内外已有对辣椒组织培养和再生体系研究的相关报道^[2-3],但辣椒组培存在基因型差异大、再生周期长、再生频率低等难题,获得再生苗较难,限制了

组培技术在辣椒育种上的应用,因此,研究辣椒离体组织培养,特别是研究辣椒离体再生的关键影响因素对大量获得再生苗具有现实意义,同时也有助于辣椒单倍体培养、遗传转化等技术的发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为搜集到的 24 个辣(甜)椒品种,类型包括羊角椒、牛角椒、甜椒,熟性有极早熟、早熟、中熟和中晚熟,具体品种见表 1。

1.2 试验方法

从成熟辣椒植株上选取幼嫩叶片和茎段以 70%酒精浸泡 30 s,5% NaClO 灭菌 15 min,无菌水冲洗 3~4 次,接种于不含激素的 MS 培养基上。将叶片切成 1 cm×1 cm 的小块,茎段切成 0.5 cm 小段,平铺接种于含 KT、6-BA、NAA 的 MS 培养基(配比浓度见表 2),以不含激素的 MS 培养基为对照,20 d 后统计其愈伤组织

第一作者简介:高素燕(1983-),女,硕士,助理研究员,研究方向为辣椒遗传育种。E-mail:gsygsy0321@163.com

基金项目:天津市应用基础及前沿技术研究计划重点资助项目(11JCZDJC17500)。

收稿日期:2013-11-13

Effect of Two Different Growth-regulators Combination on Callus Induction of *Amorphophallus*

HU Xuan-ping^{1,2}

(1. School of Biological Sciences and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723000; 2. Shaanxi Key Laboratory of Bio-resources, Hanzhong, Shaanxi 723000)

Abstract: Taking *Amorphophallus* as material, the effect of the two growth-regulators combination exerted on callus induction from coleoptile explants of *Amorphophallus* were researched. The result showed that the two growth-regulators combination had significant influence on callus induction from coleoptile explants both in static variable of the rate of expanding and callus induction and dynamic ratio of the speed of callus induction ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Taking the comprehensive effect into consideration, the appropriate growth-regulators combination for callus inducing were 6-BA : NAA = 1.0 : 2.0, KT : 2,4-D = 0.5 : 2.0 or KT : 2,4-D = 1.0 : 2.0.

Key words: *Amorphophallus*; growth-regulators combination; callus