

不同激素组合对辛夷花瓣愈伤组织诱导的影响

赵松峰

(河南省烟草技工学校, 河南许昌 461000)

摘要:以辛夷幼嫩花瓣为外植体, 接种于附加不同激素及其不同浓度配比的 MS 培养基中。结果表明: 不同激素组合对辛夷幼嫩花瓣愈伤组织诱导的影响不同, 其中, MS+6-BA 1.0 mg · L⁻¹+NAA 0.5 mg · L⁻¹ 的培养基愈伤组织诱导率最高, 达 31.1%。

关键词: 辛夷; 愈伤组织; 诱导

中图分类号: S567. +9

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2009)02-0012-02

Influence of Different Hormone Combination on the Petal Callus Induction of *Lily magnolia*

ZHAO Song-feng

(Henan Tobacco Technical School, Xuchang, Henan 461000)

Abstract: The petal of *Lily magnolia* was used as the explants to the different culture mediums. The result showed that the effects of different hormone combinations to the petal callus induction of *Lily magnolia* were different. The optimal medium for callus induction of *Lily magnolia* was MS with 6-BA 1.0 mg · L⁻¹+NAA 0.5 mg · L⁻¹ and the induction rate was 31.1%.

Key words: *Lily magnolia*; callus; induction

辛夷(*Lily magnolia*)为木兰科木兰属玉兰亚属植物^[1], 别名玉兰、望春花, 以其花蕾(学名辛夷花)供药用, 具有镇痛、镇静、消炎、降压及收缩鼻黏膜血管等功能, 为常用中药材^[2]。有关资料显示, 辛夷挥发油的质量分数高达 5.41%, 是名贵的香料资源。它不但在医药、香料等方面用途广泛, 而且还是木材和庭园绿化的优良树种, 开发前景非常乐观^[3]。

但由于辛夷植物两性花中雄蕊早落或雌雄花花期不同等原因, 使得其自然繁殖能力很差。在我国自然分布或引进的 30 多个树种中, 除望春玉兰(*biondii* M.)、玉兰(*denudanta* M.)、紫玉兰(*liliflora* M.)等少量树种被较多应用外, 大多数树种因种源稀缺等原因而未被妥善经营和利用。同时, 由于对该类植物的开发和利用研究起步较晚, 加之某些种的分布地域狭窄, 采种困难等诸多因素, 致使该类植物繁殖研究滞后, 开展辛夷植物无性繁殖技术研究, 不但可有效增加这些树种的资源存量, 为经营和利用打下物质基础, 而且对这些树种的物种保护和永续利用均有重要意义。因

此, 加强辛夷树种的无性繁殖工作具有重要的生态意义和经济价值^[4]。

当前, 对辛夷植物进行的无性繁殖研究中, 主要包括扦插、嫁接和组织培养, 在生产实践中, 由于该类植物扦插生根困难, 人们常常采用高枝压条来进行无性繁殖, 成株率高, 但繁殖系数小。因此, 对辛夷树种的组织培养工作正在受到众多科研工作者的重视, 建立优良的无性系, 对保存珍贵的辛夷种质资源具有重大意义。但就目前的具体情况来看, 有关辛夷的组织培养的报道并不多, 大部分处于初步探索的阶段。其中, 广东周丽华等 1999 年 5 月从以黄兰为砧木的紫玉兰嫁接苗上采其当年生的嫩梢作外植体进行了组织培养工作, 得出紫玉兰芽的增殖和继代的最适宜的培养基为 MS+6-BA 2.0 mg · L⁻¹+IAA 0.1 mg · L⁻¹+3%蔗糖, 紫玉兰再生无根苗生根的适宜培养基为 1/2MS+IBA 2.0 mg · L⁻¹+NAA 0.2 mg · L⁻¹+1.5%蔗糖, 为辛夷组织培养提供了宝贵的经验^[5]。本实验通过以辛夷幼嫩花瓣为外植体, 利用不同激素及其不同浓度配比对其愈伤组织诱导进行研究, 为辛夷的组织培养提供有效的方法, 从而为辛夷的快速繁殖提供新的途径。

收稿日期: 2008-09-08

基金项目: 河南省科技攻关资助项目(0624050023)

作者简介: 赵松峰(1969-), 男, 河南许昌人, 学士, 讲师, 主要从事植物生理学研究。Tel: 13782206729; E-mail: zsf78@yeah.net.

1 材料与 方法

1.1 材料

河南南召辛夷, 以未开放的花蕾为实验材料。

1.2 方法

1.2.1 无菌材料的获得 2 月下旬采集辛夷花蕾, 放在冰箱中保存。实验时取辛夷的幼嫩花蕾, 在自来水下冲洗 25 min, 去除其表面黏附物。在超净工作台上, 用 75% 的酒精浸泡 50 s, 并不断摇晃, 然后放入 0.1 % 的升汞溶液中浸泡 6 min(通过预实验可得消毒时间为 6 min 时外植体污染率最低。当缩短灭菌时间时, 外植体污染率较高; 当增加灭菌时间时, 外植体死亡率升高), 再用无菌水冲洗 4 次。将灭菌后的外植体放在灭过菌的滤纸上, 吸干其表面的水分, 再将辛夷花蕾近基部 1/4 处切除, 剥去苞片, 取出幼嫩花瓣并横切成两块作为外植体备用。

1.2.2 外植体接种及培养 将切好的花瓣接种于愈伤组织诱导培养基中, 正交设计如表 1: 6-苄氨基嘌呤(6-BA)浓度(0.5、1.0、2.0、3.0 mg ° L⁻¹), 萘乙酸(NAA)浓度(0.5、1.0、2.0、3.0 mg ° L⁻¹), 每组合接种三皿, 接种密度都为每皿(直径为 7.5 cm 的培养皿)10 块花瓣, 再用封口膜封口, 将其放在温度为(23±2) °C 的培养室

表 1 正交设计

| 组合 | 6-BA/mg ° L ⁻¹ | NAA/mg ° L ⁻¹ |
|-----------------|---------------------------|--------------------------|
| A ₁ | 0.5 | 0.5 |
| A ₂ | 0.5 | 1.0 |
| A ₃ | 0.5 | 2.0 |
| A ₄ | 0.5 | 3.0 |
| A ₅ | 1.0 | 0.5 |
| A ₆ | 1.0 | 1.0 |
| A ₇ | 1.0 | 2.0 |
| A ₈ | 1.0 | 3.0 |
| A ₉ | 2.0 | 0.5 |
| A ₁₀ | 2.0 | 1.0 |
| A ₁₁ | 2.0 | 2.0 |
| A ₁₂ | 2.0 | 3.0 |
| A ₁₃ | 3.0 | 0.5 |
| A ₁₄ | 3.0 | 1.0 |
| A ₁₅ | 3.0 | 2.0 |
| A ₁₆ | 3.0 | 3.0 |

表 3 同一 6-BA 浓度下愈伤组织诱导率随 NAA 浓度变化的情况

| 6-BA/mg ° L ⁻¹ | NAA 浓度梯度/mg ° L ⁻¹ | 愈伤组织诱导率变化情况/% |
|---------------------------|-------------------------------|---------------------|
| 0.5 | 0.5→1.0→2.0→3.0 | 11.1→10.0→2.2→2.2 |
| 1.0 | 0.5→1.0→2.0→3.0 | 31.1→26.7→17.8→16.7 |
| 2.0 | 0.5→1.0→2.0→3.0 | 21.1→20.0→10.0→8.9 |
| 3.0 | 0.5→1.0→2.0→3.0 | 14.4→4.5→3.3→0 |

表 4 同一 NAA 浓度下愈伤组织诱导率随 6-BA 浓度变化的情况

| NAA/mg ° L ⁻¹ | 6-BA 浓度梯度/mg ° L ⁻¹ | 愈伤组织诱导率变化情况/% |
|--------------------------|--------------------------------|---------------------|
| 0.5 | 0.5→1.0→2.0→3.0 | 11.1→31.1→21.1→14.4 |
| 1.0 | 0.5→1.0→2.0→3.0 | 10.0→26.7→20.0→4.5 |
| 2.0 | 0.5→1.0→2.0→3.0 | 2.2→17.8→10.0→3.3 |
| 3.0 | 0.5→1.0→2.0→3.0 | 2.2→16.7→8.9→0 |

中进行暗培养。接种后每隔 5~10 d 观察, 20 d 后统计诱导率。本实验设计 3 次重复, 每次重复采用 30 个外植体(3 个培养皿, 10 个外植体/皿⁻¹)。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对辛夷花瓣愈伤组织诱导的影响 外植体接入附加不同激素组合的培养基上, 第 5 天花瓣开始长大, 随着培养的时间加长, 花瓣越长越大, 有些花瓣的颜色变浅。培养 14 d 后花瓣开始膨大、变厚, 并逐渐产生愈伤组织, 但不同激素组合对辛夷幼嫩花瓣愈伤组织的诱导作用不同(见表 2)。

表 2 不同浓度激素组合对愈伤组织诱导的影响

| 组合 | 外植体总数 | 愈伤个数 | 诱导率/% |
|-----------------|-------|------|-------|
| A ₁ | 90 | 10 | 11.1 |
| A ₂ | 90 | 9 | 10.0 |
| A ₃ | 90 | 2 | 2.2 |
| A ₄ | 90 | 2 | 2.2 |
| A ₅ | 90 | 28 | 31.1 |
| A ₆ | 90 | 24 | 26.7 |
| A ₇ | 90 | 16 | 17.8 |
| A ₈ | 90 | 15 | 16.7 |
| A ₉ | 90 | 19 | 21.1 |
| A ₁₀ | 90 | 18 | 20.0 |
| A ₁₁ | 90 | 9 | 10.0 |
| A ₁₂ | 90 | 8 | 8.9 |
| A ₁₃ | 90 | 13 | 14.4 |
| A ₁₄ | 90 | 4 | 4.5 |
| A ₁₅ | 90 | 3 | 3.3 |
| A ₁₆ | 90 | 0 | 3.3 |

2.2 不同激素组合对辛夷花瓣愈伤组织诱导影响的比较

由表 3 可以看出, 当 6-BA 浓度相同时, 随着 NAA 浓度的增大, 辛夷幼嫩花瓣愈伤组织的诱导率逐渐减小; 由表 4 可以看出, 当 NAA 浓度相同时, 随着 6-BA 浓度的增大, 辛夷幼嫩花瓣愈伤组织的诱导率先增大后减小。就整体而言, 不同激素组合对辛夷幼嫩花瓣愈伤组织诱导的影响不同, 高浓度的 6-BA 和 NAA 都不利于辛夷幼嫩花瓣愈伤组织的诱导, 当 6-BA 和 NAA 的浓度都为 3.0 mg ° L⁻¹ 时, 没有愈伤组织产生, 可见高浓度的外源激素对愈伤组织的诱导有抑制作用。结果表明: 辛夷幼嫩花瓣愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+6-BA1.0 mg ° L⁻¹+NAA0.5 mg ° L⁻¹, 诱导率为 31.1 %。

2.2 激素含量对不定芽分化影响

40 d 后观察含有不同浓度的外源激素 6-BA 的培养基对愈伤组织形成和芽分化(见表 2),从试验情况可以看出激素种类、含量对不定芽分化有重要影响^[8]。A1 组织死亡是由于 6-BA、NAA 用量过高,A2 形成愈伤组织后不进行分化生长是由于 6-BA 用量高造成的,A3 由于 6-BA 浓度高形成愈伤组织后再分化形成芽,生长时间长。A4 由于 2,4-D 的加入形成愈伤组织再发芽因而生长缓慢,6-BA 高浓度使芽分裂多而细,A7 生长素不足而影响生长^[9]。从苗的质量上看 A5 和 A6 都可以作为建立无性系的培养基,但从培养的时间上看 A6 是最适宜的,A4 和 A7 形成的芽细弱,从研究结果可以看出 1 mg·L⁻¹ 的 6-BA 即能满足愈伤组织不定芽的分化。从实验可以看出诱导再分化的最佳激素组合是: A6 培养基 MS+6-BA1.0+NAA0.5。

3 结论与讨论

在不同激素组合对愈伤组织形成的实验中,我们配制了的 8 种不同激素组合和不同浓度激素的培养基,其中 A3 培养基 MS+6-BA2.0+NAA0.1,A4 培养基 MS+6-BA2.0+2,4-D0.5,A5 培养基 MS+6-BA1.0+2,4-D0.5,A6 培养基 MS+6-BA1.0+NAA0.5 有利于愈伤组织形成,配比组合均有利于球根海棠的脱分化即由外植体形成愈伤组织^[10]。经实验筛选出最适合

诱导愈伤组织的培养基是 MS+6-BA1.0~2.0+NAA0.1~0.5。在愈伤组织的保持与不定芽的分化的比较实验中,A6 培养基 MS+6-BA1.0+NAA0.5 有利于愈伤组织的形成和增殖,有利于球根海棠愈伤组织的再分化。

参考文献:

[1] 唐中彦,刘淼.球根海棠金正日的离体培养研究[J].安徽农业科学,2007,35(10):45-46.
[2] 钟士传.球根秋海棠金正日花的繁殖技术[J].中国种业,2006(3):42.
[3] 钟士传,杜启兰.球根秋海棠金正日花的组织培养技术[J].北方园艺,2003(1):54.
[4] 远凌威,袁正仿,张苏锋.丽格海棠的组织培养与快速繁殖研究[J].信阳师范学院学报(自然科学版),2002,15(2):219-221.
[5] 渠立明.球根秋海棠组织培养技术研究[J].广西园艺,2005(1):9-10.
[6] 杨乃博.试管植物名录(增补一)[J].植物生理学通讯,1985(3):53-73.
[7] 王俊英,慈忠玲,李日胜.毛叶海棠(Begonia cathayana Hemsl)的组织培养和体细胞胚胎发生[J].内蒙古农业大学学报,2001,22(3):52-55.
[8] 达克东,张松,高东升.丽格海棠叶片培养胚状体发生和植株再生[J].园艺学报,2001,28(2):180-181.
[9] Redfearnj P L, Tan B C. A newly updated and annotated checklist of Chinese mosses [J]. J Hattori Bot Lab 1996 79: 163-357.
[10] Piippo S. Annotated catalogue of Chinese hepaticae and anthocerotae [J]. J Hattori Bot Lab, 1990, 68: 191-192.

(上接第 13 页)

3 讨论

作为建立再生体系的前提和基础,愈伤组织的诱导是非常关键的。愈伤组织的形成过程一般分为三个阶段:诱导期、分裂期和形成期。大量的研究表明,几乎所有高等植物的各种器官(如根、茎、叶和花等)以及各种组织(如皮层、茎髓和形成层等)离体后在适合条件下都能产生愈伤组织。愈伤组织诱导的成败关键不是外植体的来源和种类,而是培养条件,其中植物生长调节剂的种类和浓度最为重要。诱导愈伤组织的培养基中植物生长调节剂的配比,一般为生长素类和细胞分裂素类间的配比。用于诱导愈伤组织的植物生长调节剂有 2,4-D、6-BA、KT、ZT、NAA 等^[6]。

在植物愈伤组织的诱导中,虽然对 NAA 的利用不是很多,但 NAA 对愈伤组织的诱导也有很重要的作用。林娅等研究表明,NAA 诱导愈伤组织的效果优于 2,4-D,NAA 与任何一种细胞分裂素类物质结合使用,愈伤组织诱导率都为 100%。龙雯虹等对萝卜愈伤组织的诱导研究也指出,不同的生长素类物质对萝卜愈伤组织的诱导效果不同,诱导效果为 NAA>2,4-D>IBA,但植物生长调节剂对不同植物的诱导效果不同,在诱导植物愈伤组织时,NAA 的使用浓度范围一般为 0.05~20 mg·L⁻¹^[7]。

不同激素组合对辛夷幼嫩花瓣愈伤组织诱导的影响不同,司怀军等对菊花幼嫩花瓣愈伤组织的诱导研究表明,菊花幼嫩花瓣是诱导愈伤组织的良好材料,在 MS+6-BA2.0 mg·L⁻¹+NAA1.0 mg·L⁻¹ 的培养基上诱导率可达 100%^[8]。本实验中,辛夷幼嫩花瓣愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+6-BA1.0 mg·L⁻¹+NAA0.5 mg·L⁻¹,诱导率为 31.1%。但总体来看,辛夷幼嫩花瓣愈伤组织的诱导率偏低,因此提高其愈伤组织诱导率还有待于进一步探索。

参考文献:

[1] 于培明,田智勇,许启泰,等.辛夷研究的新进展[J].时珍国医国药,2006(7):665-666.
[2] 朱雄伟,杨晋凯,胡道伟.辛夷成分及其药理应用研究综述[J].海峡药学,2002(5):5-7.
[3] 沈作奎.辛夷植物繁殖技术研究概况[J].湖北民族学院学报(自然科学版),2006(4):358-362.
[4] 周丽华,许冲勇,曾雷,等.紫玉兰组织培养繁殖研究[J].经济林研究,2002(4):36-37.
[5] 孟雪.白玉兰的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2005(3):339.
[6] 王琪,王喆之,李映丽.荷花玉兰组织培养的研究[J].西北药学杂志,2001(1):1-13.
[7] 黎明,马焕成.木兰科植物无性繁殖研究概况[J].西南林学院学报,2003(2):92-96.
[8] 毕艳娟,高书国,乔亚科,等.植物生长调节剂对白玉兰组织培养的影响[J].河北职业技术师范学院学报,2002(3):14-16.