

不同激素配比对百合鳞片愈伤组织诱导的影响

崔瑞峰¹,张丽霞¹,韩晓红²

(1. 安阳工学院 生物与食品工程学院,河南 安阳 455000;2. 郑州大学 教育系,河南 郑州 450006)

摘要:为筛选出适宜百合鳞片愈伤组织诱导的最佳激素配比,以给百合大规模的培养与繁殖创造有利的条件,以百合鳞片作为外植体,利用正交试验设计,研究不同激素配比对百合鳞片愈伤组织诱导的影响。结果表明:以 MS 为基本培养基,2,4-D 浓度,6-BA 浓度,NAA 浓度 3 个因素对愈伤组织诱导率的影响表现为 6-BA>NAA>2,4-D。最优的激素配比组合为 A₂B₁C₃,即 2,4-D 0.6 mg·L⁻¹,6-BA 0.3 mg·L⁻¹,NAA 0.9 mg·L⁻¹,其愈伤组织诱导率为 91.21%。

关键词:百合;鳞片;愈伤组织;诱导

中图分类号:S682.29

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)09-0008-02

近年来随着百合在国内外鲜花市场的畅销,百合的生产和消费已逐年增加。传统的百合繁殖方法的繁殖系数比较小,尤其是经过多代繁殖以后,常会造成种性退化甚至病毒积累,从而影响百合的产量和质量^[1]。

利用组织培养技术可以有效去除病毒和更新品种,加快百合的快速繁殖,缩短百合的生育周期,弥补种球繁育的不足,是百合商品化及产业化发展的必然趋势,利用离体快繁技术是百合组培中研究最早和最多的一项技术^[2]。自从 Robb^[3]利用百合鳞片进行组织培养成功以来,关于这方面的研究也日益增多。该试验选取百合鳞片为外植体,研究不同激素浓度配对外植体诱导率的影响,以期筛选出适宜百合鳞片愈伤组织诱导的最佳激素配比,为百合大规模的培养与繁殖创造有利的条件。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为市售百合,取其鳞片为外植体^[4]。供试试剂有 NAA、6-BA、2,4-D、75% 酒精和 0.1% HgCl₂ 等。供试器材有冰箱、天平、试剂瓶、量筒、烧杯、容量瓶、三角瓶、玻璃棒、精密 pH 试纸(5.4~7.0)、封口膜、高压蒸汽灭菌锅、镊子、解剖刀和培养皿等。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 为筛选出适宜百合鳞片愈伤组织诱导的最佳激素配比,利用正交试验设计,选择 2,4-D 浓度、6-BA 浓度、NAA 浓度 3 个水平进行试验(见表 1)。

表 1 正交试验设计
Table 1 Orthogonal test design

水平 Levels	因素 Factors		
	2,4-D 浓度/ mg·L ⁻¹ (A) Concentration of 2,4-D	6-BA 浓度/ mg·L ⁻¹ (B) Concentration of 6-BA	NAA 浓度/ mg·L ⁻¹ (C) Concentration of NAA
1	0.2	0.3	0.1
2	0.6	0.5	0.3
3	1.2	1.0	0.9

1.2.2 培养基的配制 选用 MS 为基本培养基,分别向培养基中添加不同浓度的 2,4-D、6-BA、NAA(见表 2)组合配比试验,所有的培养基均用 8.00 g·L⁻¹的琼脂固化,蔗糖浓度为 25 g·L⁻¹,pH 5.6,加 0.50 g·L⁻¹的活性炭(Ac)以防止外植体褐化^[5]。并添加适量激素到配制好的培养基中,分装到 50 mL 三角瓶中,分别贴上标签,在 121℃ 条件下灭菌 30 min,备用。

1.2.3 材料的预处理 取百合生长正常、无病虫害的鳞茎,去掉最外面的一层鳞片,将根系切除,然后将鳞片剥下,放入洗衣粉中浸泡 15~25 min,自来水流水冲洗 2 h,后置于超净工作台上,采用 75% 酒精浸泡 70 s 消毒,用无菌水冲洗 2 遍,然后转入 0.1% 升汞中浸泡 6 min,再用无菌水冲洗 5~6 次,每次清洗时间为 2~3 min^[6],最后将消毒后的鳞片放在干净无菌的滤纸上,吸干表面的水分备用。消毒过程中要不断晃动以便充分消毒。

1.2.4 接种 在接种之前要进行相关器材灭菌处理^[7]:培养皿、烧杯和金属器械均进行湿热灭菌,灭菌后连同酒精灯放在超净工作台上,用紫外灯照射 20 min,并用 75% 酒精消毒,接种前超净工作台面要用 75% 酒精擦洗。

将已消毒的鳞片取出放在培养皿中,切成 0.2~0.4 cm 见方,左手拿三角瓶,右手轻取下封

收稿日期:2014-03-13

第一作者简介:崔瑞峰(1977-),女,山西省吕梁市人,硕士,讲师,从事植物生物技术相关教学与科研工作。E-mail:897824064@qq.com。

口膜,避免膜上的灰尘飞扬,造成污染。将三角瓶的瓶口靠近酒精灯火焰,瓶口略向下倾斜,以免空气中的微生物落入瓶中,然后用镊子将切好的外植体送入瓶中。镊子每次用后要灼烧,培养瓶盖上封口膜,做好标记,最后注明接种材料和培养基名称及接种日期。每个处理接种 10 瓶,每瓶接种 5 块鳞片。接种后培养基置于光照强度 1 500~2 000 lx。光照时间 10~12 h。温度为 25±2℃ 的光照培养室内培养,随时观察记录。

1.2.5 测定项目与方法 接种后 3 d,每天进行观察,记录污染茎块数,并将污染茎块及时取出。此后每隔 3 d 观察统计出愈率,30 d 后统计愈伤组织诱导率。

诱导率(%)=各处理的出愈块数/各处理的接种块数×100

2 结果与分析

由表 2 可知,不同浓度 2,4-D 对愈伤组织诱导率的影响差异不显著,不同浓度 6-BA 对愈伤组织诱导率的影响差异均达到了极显著水平,不同浓度 NAA 对愈伤组织诱导率的影响差异显著。2,4-D 浓度,6-BA 浓度,NAA 浓度 3 个因素对愈伤组织诱导率的影响表现为 6-BA>NAA>2,4-D。最优的激素配比组合为 A₂B₁C₃,即 2,4-D 0.6 mg·L⁻¹,6-BA 0.3 mg·L⁻¹,NAA 0.9 mg·L⁻¹,其愈伤组织诱导率为 91.21%。

表 2 不同激素对比对愈伤组织诱导率的影响

Table 2 The effect of different hormone combinations on callus induction frequency of lily scales

试验编号 No.	因素 Factors			愈伤组织诱导率/% Callus induction frequency
	2,4-D 浓度/mg·L ⁻¹ (A) Concentration of 2,4-D	6-BA 浓度/mg·L ⁻¹ (B) Concentration of 6-BA	NAA 浓度/mg·L ⁻¹ (C) Concentration of NAA	
	1	0.2	0.3	
2	0.2	1.0	0.3	26.33
3	0.2	0.5	0.9	43.57
4	0.6	1.0	0.1	23.44
5	0.6	0.5	0.3	51.43
6	0.6	0.3	0.9	91.21
7	1.2	0.5	0.1	42.34
8	1.2	0.3	0.3	61.57
9	1.2	1.0	0.9	47.50
K1	51.6 aA	81.69 aA	52.69 aA	
K2	55.36 aA	45.45 bB	46.44 abAB	
K3	50.47 aA	32.42 cC	60.76 bB	
R	4.89	49.27	14.32	

3 结论

该试验结果表明,2,4-D 浓度,6-BA 浓度,NAA 浓度 3 个因素对愈伤组织诱导率的影响表现为 6-BA>NAA>2,4-D。最优的激素配比组合为 A₂B₁C₃,即 2,4-D 0.6 mg·L⁻¹,6-BA 0.3 mg·L⁻¹,NAA 0.9 mg·L⁻¹,其愈伤组织诱导率为 91.21%。

参考文献:

[1] 周春华,尤超,陈凝华.百合组织培养研究进展[J].北方园艺,2013(14):193-196.

[2] 徐雷锋,李雅男,袁迎迎,等.百合愈伤组织的高效诱导及植株再生[C].中国园艺学会 2013 年学术年会论文摘要集,2013:150-151.

[3] ROBB S M. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum*[J]. J. Exp. Bot., 1957(8):3518-3521.

[4] 李静,王云德.西伯利亚百合鳞片组织培养与快速繁殖[J].生物学通报,2012(4):56-59.

[5] 高国训.植物组织培养中的褐变问题[J].植物生理学通讯,2005,41(6):501-505.

[6] 罗凤霞,徐桂华,金丽丽,等.新铁炮百合微繁的研究[J].沈阳农业大学学报,2000,31(3):254-257.

[7] 马缘生.我国作物种质资源保存技术研究进展[J].作物品种资源,2007,17(3):1-3.

Effect of Different Hormone Combinations on Callus Induction Frequency of Lily Scale

CUI Rui-feng¹, ZHANG Li-xia¹, HAN Xiao-hong²

(1. College of Biology and Food Engineering, Anyang Institute of Technology, Anyang, Henan 455000; 2. Education Department of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450006)

Abstract: For screening suitable optimized hormone combinations for inducing callus of lily scale, so as to create advantage conditions for culturing and propagating on a large scale, taking lily scales as explants, the effect of different hormone combinations on callus induction frequency of lily scales were studied with orthogonal design. The results showed that, taking MS as the basic culture medium, the effect of hormones on callus induction frequency was 6-BA>NAA>2,4-D. The optimized hormone combinations for inducing callus of lily scale was 2,4-D 0.6 mg·L⁻¹+6-BA 0.3 mg·L⁻¹+NAA 0.9 mg·L⁻¹, the callus induction frequency was 91.21%.

Key words: *Lilium bulbiferum*; scale; callus; induction