

植物生长调节剂对王百合雄性不育突变体 白天使离体快繁的影响

陈丽静¹, 刘烜晨¹, 郭志富¹, 李浩戈¹, 林景卫¹, 张晓光¹, 明 军^{2*}

(1. 沈阳农业大学 辽宁省生物技术重点实验室, 辽宁 沈阳 110161; 2. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 以王百合雄性不育突变种质材料白天使小鳞茎的鳞片为外植体, 接种在含有不同质量浓度配比的 NAA、6-BA 的 MS 培养基上, 进行诱导、继代增殖及生根培养, 探讨不同因素对白天使离体快繁的影响。结果表明, 不同的植物生长调节剂质量浓度配比对王百合雄性不育突变种质材料白天使的离体快繁会产生较大影响。最适诱导培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.4 mg/L, 最适不定芽继代增殖培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 最适生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L, 生根率可达 100%。

关键词: 王百合; 雄性不育突变体; 白天使; 组织培养; 植物生长调节剂

中图分类号: S644.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2010)07-0089-03

百合是百合科百合属多年生草本球根植物, 主要分布在亚洲东部、欧洲、北美洲等北半球温带地区, 是全世界著名的观赏花卉之一, 深受人们的喜爱。但其花粉量大, 花粉色素多, 粘着力强, 易产生花粉污染, 影响花的美观; 同时在鲜花应用过程中还会污染人的皮肤、衣服等。目前解决此问题的方法还限于人工摘除花药, 切花成本增加^[1]。因此, 培育出雄性不育百合, 减少花粉污染, 已成为百合的一个重要育种目标。另外, 雄性不育在遗传育种上也有重要应用价值。为培育雄性不育百合, 减少花粉污染, 北京农学院和中国农科院蔬菜花卉所合作, 通过辐射王百合种球, 并进行鳞片扦插, 创造出雄性不育突变种质材料白天使^[2], 并经 DNA 鉴定为真突变体, 白天使经鳞片扦插形成无性系。

百合繁殖通常采用扦插, 但是采用鳞片扦插, 容易腐烂, 而且在长期的营养繁殖过程中, 由于病毒积累而影响品质, 通常会造成品种退化。采用组织培养的方法既可以脱去目标病毒, 又可以快速繁殖^[3]。鉴此, 研究了不同植物生长调节剂配比对雄性不育突变种质材料白天使不定芽诱导和增殖的影响, 旨

在探索其离体培养技术, 为百合雄性不育突变品系进一步扩繁提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料: 从经过⁶⁰Co γ 辐射诱导的王百合鳞茎(辐射剂量为 1GY、2GY、3GY、4GY、5GY)^[2] 筛选出的雄性不育突变体白天使。材料来源于中国农科院蔬菜花卉所。

1.2 方法

选取健康、无病的供试白天使鳞茎, 用自来水冲洗 2 h 后, 用 75% 的酒精浸泡 20 s, 再用 0.1% HgCl₂ 消毒 5 min, 接着用无菌水冲洗 5 次, 用无菌滤纸吸干, 切取内部幼嫩鳞片接种于诱导培养基内, 每瓶 4 块鳞片。30 d 后取其分化出的不定芽转入增殖培养基中, 每瓶 4 个。20 d 后观察结果并取幼芽转入生根培养基上。

1.3 培养条件

培养温度(24 \pm 3) $^{\circ}$ C; 光照时间 10~12 h/d, 光照强度 1 000~1 500 lx。

收稿日期: 2010-03-12

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA100109); 辽宁省自然科学基金博士启动基金项目(20081067); 辽宁省自然科学基金项目(20072124)

作者简介: 陈丽静(1971-), 女, 山东海阳人, 副教授, 博士, 主要从事植物基因工程和细胞工程的研究。

E-mail: chenlijing1997@126.com

*通讯作者: 明 军(1963-), 男, 湖北武汉人, 研究员, 博士, 主要从事园林植物遗传育种学研究。E-mail: mingjun@caas.net.cn

1.4 培养基

由于类生长素(NAA)较生长素(IAA)更为稳定、高效,所以本试验以MS为基本培养基,附加不同质量浓度梯度的NAA和6-BA,设计了10种培养基配方,作为诱导培养基、继代培养基。NAA、6-BA质量浓度组合见表1。生根培养基选用1/2MS为基本培养基,并分别附加NAA 0.1mg/L、0.2mg/L、0.4mg/L。其中,琼脂6g/L,蔗糖30g/L,pH值为5.8~6.2。

表1 不同质量浓度植物生长调节剂的配比 mg/L		
培养基编号	6-BA	NAA
1	1.0	0.1
2	1.0	0.2
3	1.0	0.4
4	1.5	0.1
5	1.5	0.2
6	1.5	0.4
7	2.0	0.1
8	2.0	0.2
9	2.0	0.4
10	0	0

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度植物生长调节剂配比对百合不定芽诱导的影响

植物生长调节剂的种类和配比对百合的组织培养效果有着决定性的作用,常用的6-BA质量浓度为0.4~2.0mg/L,NAA常用浓度为0.1~0.5mg/L^[4-14]。由表2可以看出,虽然6-BA对不定芽的诱导有明显的促进作用,但促进效果并不是随6-BA质量浓度增大而增大,其同时也受NAA质量浓度的制约。当6-BA质量浓度为1.0mg/L时,随着NAA质量浓度的增大,诱导率呈下降趋势;当6-BA质量浓度为2.0mg/L时,随着NAA质量浓度的增

表2 不同质量浓度植物生长调节剂配比对百合不定芽诱导的影响					
培养基编号	诱导芽数/个				芽诱导率/%
	13d	16d	19d	22d	
1	2	6	4	8	50.0
2	4	6	10	15	43.8
3	2	3	4	4	32.5
4	2	2	2	3	22.5
5	2	4	4	7	42.5
6	0	0	2	7	22.5
7	0	0	2	3	12.5
8	0	2	2	2	15.0
9	2	4	7	9	55.0
10	2	2	3	5	16.3

加,出芽率呈上升趋势。而当6-BA质量浓度为1.5mg/L时,芽诱导率呈先上升后下降的趋势。这与陆春霞的研究结果稍有不同^[9]。王刚等^[19]报道,6-BA/NAA介于5:1和10:1之间时,兰州百合芽诱导率较高。综合来说,9号培养基,即添加6-BA 2.0mg/L和NAA 0.4mg/L的MS培养基对辐射后的白天使鳞片诱导不定芽效果最佳。

2.2 不同质量浓度植物生长调节剂配比对百合不定芽继代增殖的影响

由表3可以看出,当6-BA质量浓度由1.0mg/L增大到2.0mg/L时,不定芽的增殖倍数反而降低,这与兰州百合等品种相似,与台湾新铁炮百合相反^[19]。2号培养基,即6-BA为1.0mg/L,NAA为0.2mg/L时增殖倍数最高,而芽长势稍弱,但无细弱淡黄幼芽,故MS+1.0mg/L 6-BA+0.2mg/L NAA为最佳增殖培养基。

表3 不同质量浓度植物生长调节剂配比对百合不定芽继代增殖的影响		
培养基编号	平均芽长/cm	增殖倍数
1	0.2	2.00
2	0.2	3.75
3	0.3	1.00
4	0.2	0.75
5	0.15	1.75
6	0.1	1.75
7	0.2	0.75
8	0.3	0.50
9	0.1	1.50
10	0.3	1.25

2.3 不同质量浓度植物生长调节剂配比对百合诱导生根的影响

将长势良好的丛生芽切成单株转移到生根培养基中进行生根培养。20d后,NAA 0.2mg/L的培养基内芽生根率达到100%,明显高于NAA 0.1mg/L和NAA 0.4mg/L处理,且根比较粗壮,质量较好。可见,并不是植物生长调节剂质量浓度越大生根效果越好,这可能是由于在不定芽生根过程中本身会产生一定的内源激素,从而抑制了外加激素的效果。

3 结论与讨论

以百合雄性不育突变种质材料白天使小鳞茎的鳞片为外植体,将其接种在不同植物生长调节剂配比的MS培养基上观察其诱导和增殖效果,筛选出适合其离体培养的最佳诱导、继代、生根培养基。诱导培养基:MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.4mg/L;继代增

殖培养基: MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L; 生根培养基: 1/2MS+NAA 0.2 mg/L。

植物生长调节剂的最佳配比对百合鳞茎的诱导和增殖起着决定性的作用, 而对植物生长调节剂配比的要求又随着其内源激素水平的变化而变化。通过本试验发现, 雄性不育突变种质材料白天使鳞茎组织培养对植物生长调节剂质量浓度的要求与未经辐射的王百合材料相比略有变化, 主要表现在经过辐射后的材料在诱导、生根培养基上对生长素的需求更高^[15, 16]。这可能是由于生长素的合成是植物对辐射最敏感的反应之一, 辐射会引起生长素分子的氧化以及对生长素合成产生破坏, 从而减少了自身生长素的量, 因此需要外源生长素加以补充。本试验的最佳生根培养基对生长素的需求量与未处理过的材料相比也略有提高^[15, 16], 但有研究认为, 辐射对根尖生长素含量的影响不明显^[17], 这与本试验结果略有不同。此外, 辐射效应还会通过细胞核作用于植物染色体, 引起其结构的变化, 而组织培养物对外源激素水平的要求也随着植物染色体结构的不同而不同, 具体的关联程度还有待进一步探讨。

参考文献:

[1] 张克中, 赵祥云, 黄善武, 等. 王百合雄性不育突变体无性系花蕾花药的生化分析[J]. 东北林业大学学报, 2003, 31(3): 31-33.

[2] 赵祥云. 辐射诱发百合雄性不育的研究[J]. 中国花卉园艺, 2003(2): 25-27.

[3] 姜凤英, 其其格, 郎立新, 等. 新铁炮百合的组织培养研究[J]. 辽宁农业科学, 2004(3): 38-39.

[4] 赵祥云, 程谦, 邢尤美, 等. 百合珠芽组培及脱毒研究[J]. 园艺学报, 1993, 20(3): 284-288.

[5] 席梦利, 王节萍, 章静娟, 等. 宜兴百合脱毒技术[J]. 江苏农业学报, 2001, 17(1): 49-51.

[6] 刘选明, 周朴华, 屈殊存, 等. 百合鳞片叶离体诱导形成不定芽和体细胞胚[J]. 园艺学报, 1997, 24(4): 353-358.

[7] 赵庆芳, 曾小英, 丁兰, 等. 东方百合组织培养和快速繁殖研究[J]. 西北师范大学学报, 2003, 39(1): 66-68.

[8] 丁兰, 刘国安, 田卫东, 等. 新铁炮百合组织培养和快速繁殖研究[J]. 西北师范大学学报, 2001, 37(1): 80-82.

[9] 陆春霞, 韦鹏霄. 百合组织培养与多倍体研究[D]. 南宁: 广西大学, 2004.

[10] 王刚, 杜捷, 李桂英, 等. 兰州百合和野百合组织培养及快速繁殖研究[J]. 西北师范大学学报, 2002, 38(1): 69-71.

[11] 柯昉, 李章汀. 不同激素配比对新铁炮百合组织培养的影响[J]. 福建农业科技, 2001(6): 24.

[12] 张立娟, 于亚军, 于超, 等. 新铁炮百合的组织培养[J]. 大连大学学报, 2003, 24(2): 66-68.

[13] 彭世勇, 关丽霞, 于艳, 等. 百合快速繁殖若干影响因素的研究[J]. 辽宁农业职业技术学院学报, 2004, 6(3): 1-3.

[14] 蒋细旺, 司怀军. 百合的组织培养技术综述[J]. 湖北农业科学, 2004(1): 78-82.

[15] 孙晓梅, 付强, 曹萍, 等. 王百合的组织培养研究[J]. 辽宁林业科技, 2001(5): 8-9, 25.

[16] 陈丽静, 朱首名, 张君, 等. 岷江百合离体培养快繁体系建立[J]. 辽宁农业科学, 2009(3): 12-15.

[17] 吴业飞, 张振文. UV-B 辐射增强对葡萄幼苗内源激素的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008.