

长蕊万寿竹野生资源开发利用的组织培养研究

蒋天仪, 石大兴, 王波 (1. 成都农业科技职业学院农学院园艺系, 四川成都611130; 2. 四川农业大学林学系, 四川雅安625014; 3. 四川工程职业技术学院建筑工程系, 四川德阳618000)

摘要 [目的] 为长蕊万寿竹的大规模生产和进一步研究提供技术支持和参考依据。[方法] 以长蕊万寿竹茎段为外植体, 灭菌后将带芽茎段剪成1~2 cm的小段, 接种于培养基中。研究外源激素的种类与配比对诱导生根和丛生芽的影响。[结果] 启动培养时, 外源激素为6-BA 1.0 ng/L+2,4-D 0.01 ng/L+NAA 0.1 ng/L+IBA 1.0 ng/L的培养基的效果最好, 启动率达到85.20%。1/2 MS添加外源激素NAA 1.0 ng/L+AC 5 g/L的培养基的生根效果极显著地高于其它处理, 生根率达到96.13%。适合丛生芽诱导的培养基是6-BA 0.5 ng/L+KT 1.5 ng/L+NAA 0.2 ng/L+蔗糖30 g/L, 丛生芽增殖系数达到6.1。[结论] 建立了以长蕊万寿竹茎段为外植体的组织培养技术体系, 可有效地启动培养, 诱导生根和丛生芽。

关键词 长蕊万寿竹; 野生资源; 组织培养

中图分类号 S722.3+1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)31-13549-01

Study on Tissue Culture of *Diosporum bodinieri* (Levl. et. Vrit.) Wang et Tang

JIANG Tianyi et al (Department of Agriculture and Horticulture, Chengdu Vocational College of Agricultural Science and Technology, Chengdu, Schuan 611130)

Abstract [Objective] The study aimed to provide the technical support and reference for large scale production and further research of *Diosporum bodinieri* (Levl. et. Vrit.) Wang et Tang. [Method] With the stem of *D. bodinieri* seedlings as explants, the sterilized stem with bud was cut into 1~2 cm small part and then inoculated into the medium. The effects of type and ratio of exogenous hormone on rooting and cluster bud induction were studied. [Result] When the culture was initiated, the effect of medium with exogenous hormone of 6-BA 1.0 ng/L + 2,4-D 0.01 ng/L + NAA 0.1 ng/L + IBA 1.0 ng/L was the best, the initiation rate reached 85.20%. The rooting effect of 1/2 MS medium with the exogenous hormones of NAA 1.0 ng/L + AC 5g/L was extremely higher than that of other treatments and the rooting rate reached 96.13%. The medium suitable for cluster bud induction was 6-BA 0.5 ng/L + KT 1.5 ng/L + NAA 0.2 ng/L + sucrose 30 g/L, and the multiplication coefficient of cluster bud reached 6.1. [Conclusion] The technique system of tissue culture with the stem of *D. bodinieri* seedlings as explants was established, with which the culture could be initiated and the rooting and cluster bud could be induced effectively.

Key words *Diosporum bodinieri* (Levl. et. Vrit.) Wang et Tang; Wild resources; Tissue culture

长蕊万寿竹(*Diosporum bodinieri* (Levl. et. Vrit.) Wang et Tang) 为百合科万寿竹属多年生草本, 为中国特有种^[1], 多生于林下和林缘灌丛中, 其叶色翠绿, 四季常绿, 春季盛开白色花朵。植株高30~70 cm, 可用盆栽置于室内观赏或在林下种植, 是具开发前景的一种野生花卉。目前对该属的植物, 有研究者进行了核型分析^[2-4]和形态解剖观察^[5]。其组织培养体系的建立可为其大规模生产和进一步研究提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 材料 从雅安周围山上采集长蕊万寿竹, 将采回的植株栽植于四川农业大学林木遗传育种实验室苗圃。

1.2 方 法

1.2.1 外植体的处理。以长蕊万寿竹幼嫩枝条为试验材料, 剪取3~4 cm带芽的幼嫩茎段, 用自来水冲洗2~3 h; 转入超净工作台上, 用浓度75%酒精溶液浸泡15 s; 转入浓度0.1%的升汞溶液中灭菌6 min, 用无菌水冲洗5~6次; 将带芽茎段剪成1~2 cm的小段, 接种于培养基中。

1.2.2 初代培养与有效苗的诱导。基本培养基为MS, 以6-BA 0.5~2.0 ng/L与2,4-D 0.01~0.50 ng/L, NAA 0.05~0.50 ng/L, IBA 0.1~1.0 ng/L不同浓度组合进行启动培养。培养30 d, 观察统计芽启动率。

1.2.3 生根培养。将苗高3 cm的小苗接种于生根培养基中, 基本培养基为1/2 MS, 添加不同浓度配比的NAA 0.1~1.0 ng/L, AC(活性炭) 1~5 g/L, 蔗糖15 g/L。40 d观察, 统计生根率。

1.2.4 丛生芽诱导。将生根后的小苗接入丛生芽诱导培养

基, 基本培养基为MS。以6-BA 0.5~2.0 ng/L, KT 0.5~1.5 ng/L, NAA 0.01~0.20 ng/L, 蔗糖15~30 g/L组合, 进行丛生芽诱导, 每7 d观察1次, 40 d后统计增殖系数。经诱导可从根颈处产生大量丛芽, 以达到快速增殖的目的。

1.2.5 培养条件。若无特别说明, 培养基附加琼脂0.7%~0.8%, 蔗糖30 g/L, pH值5.8~6.0; 培养条件均为培养温度(25±2)℃, 光照每天12 h, 光照强度1500~2000 lx。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对启动培养的影响 经观察, 带芽茎段培养7 d腋芽开始萌动, 逐渐在叶腋处萌生出小芽。14 d后抽生新梢明显, 长出绿色小叶。试验结果显示, 外源激素的种类与配比对芽启动率的影响呈现出明显的差异, 其中6-BA 1.0 ng/L+2,4-D 0.01 ng/L+NAA 0.1 ng/L+IBA 1.0 ng/L对芽的诱导效果最好, 培养30 d时启动率达到85.20%, 与其他的处理差异极显著。

2.2 不同培养基对生根的影响 生根培养进行至10 d后即可观察到白色突起的根状物, 15 d后大多数培养基上的植株都可以观察到白色的细根。试验结果表明, 培养基中激素种类和其浓度配比对该植物的生根率影响差异较大。培养基1/2 MS+NAA 1.0 ng/L+AC 5 g/L的诱导生根效果极显著地高于其他处理, 生根率达到96.13%。其次是培养基1/2 MS+NAA 1.0 ng/L+AC 3 g/L和1/2 MS+NAA 1.0 ng/L+AC 1 g/L的诱导效果。

2.3 不同浓度激素配比对丛生芽诱导的影响 试验结果表明, 在生根苗培养后10 d从根颈处萌发出小苗。培养40 d后增殖系数大多能达到4.0以上, 发挥了组织培养快速繁殖的优势, 达到快速繁殖的目的。经方差分析, 6-BA、KT、蔗糖浓

抽穗率相同,都最高,分别达90.0%(2006年)和100%(2007年),而CP85-1491和HbCP93-746无论在2006年还是2007年,它们的抽穗率都表现最低,前一季节分别为31.2%和33.3%,后一季节均为16.0%。

D_2 处理下不同年份各参试材料的抽穗率均明显比 D_1 处理的低,2006年除CP85-1491和HbCP93-746的抽穗率分别为6.7%和10.5%外,其他参试材料的抽穗率都高于30.0%,抽穗率最高的是US90-1013,达77.8%;在2007年,参试品系中,CP85-1491和HbCP93-746的抽穗率亦属最低,分别为3.9%和5.5%,其次是崖城93-26(13.6%)和CP72-330(25.0%),其余参试材料的抽穗率则都高于35.0%,抽穗率最高的仍是US90-1013,达84.6%。由此可知,在该试验光照强度条件下,大多数甘蔗早花品系经断夜处理15~26d后都能延迟开花并保持较高的抽穗率,而少数对断夜天数较敏感的品系,如HbCP93-746和CP85-1491,用不超过15d的断夜处理才可能获得较好的结果,且同一处理下两个年份之间抽穗率相关系数显著性测验结果(表2)进一步表明,各参试品系抽穗率对断夜处理持续天数的反应在不同年份间表现一致。

3 结论与讨论

(1) 不同年份间参试品系对断夜天数反应的敏感程度变化。抽穗率降低程度和延迟开花天数等指标在一定程度上反映了品系对断夜处理的敏感性。该试验中,2006年和2007年各参试材料经断夜处理后的平均抽穗率由低到高顺序大致相同,依次为CP85-1491、HbCP93-746、崖城93-26、CP72-330、CP72-3591、CP72-2086、CP67-412、CP82-1592、LCP85-384、CP57-614、桂糖92-66和US90-1013,其中,除CP72-330外,前6个品系不同年份下 D_1 、 D_2 处理的平均延迟开花天数都超过25d。CP85-1491和HbCP93-746无论在2006年还是2007年,它们经 D_1 和 D_2 断夜处理后都表现抽穗率最低和延迟开花天数最大,故它们对不同断夜天数的反应最敏感;其他品系在这两个年份下对不同断夜天数的反应敏感程度亦变化不大,从大到小依次为崖城93-26 > CP72-330 > CP72-2086 > CP67-412 > LCP85-384 > CP72-3591 > CP82-1592 > CP57-614 > 桂糖92-66 > US90-1013。

(2) 不同年份下参试品系的适宜断夜天数。两个年份的试验结果,在海南甘蔗育种场自然条件下,除CP72-330和崖城93-26外,其余参试品系的终花期2006年基本上在12月上旬之前,2007年则基本上在12月中旬之前,均有必要采取适当的措施以延迟花期。2006年和2007年试验结果均表明,

(上接第13549页)

度对丛生芽诱导增殖系数的影响均达极显著水平。在丛生芽诱导中,6-BA 0.5 ng/L + KT 1.5 ng/L + NAA 0.2 ng/L + 蔗糖30 g/L的丛生芽增殖系数达到6.1。

3 结论与讨论

试验中初代培养时,6-BA 1.0 ng/L + 2,4-D 0.01 ng/L + NAA 0.1 ng/L + IBA 1.0 ng/L培养基对芽的诱导效果最好。经方差分析还发现,2,4-D与IBA对长蕊万寿竹芽的启动诱导影响不显著。生根培养时,1/2 MS + NAA 1.0 ng/L + AC 5 g/L培养基的效果最好。而在诱导丛生芽的时候,6-

CP72-330和崖城93-26的开花持续期较长,其始花期对断夜处理反应敏感,但终花期受影响不大,为增加每年12月中、下旬杂交高峰期花茎的比例,可对部分材料进行不超过15d的断夜处理;CP85-1491和HbCP93-746对断夜天数的反应较为敏感,且不同年份下抽穗率和延迟开花天数表现一致,该试验的光照强度条件下,以断夜不超过15d为宜,此时它们将延迟开花约28~42d,前者开花持续约32d,后者开花持续6~26d,抽穗率大于16.0%;CP57-614和桂糖92-66以断夜26d左右为宜,此时它们将延迟开花约18~34d,开花持续约25~38d,抽穗率大于35.0%;其余品系不同年份下均可选择断夜天数在15~26d,这一段时间内它们都将延迟开花约14~35d,开花高峰期推迟约25~37d,开花持续约13~44d(部分参试材料两个年份间开花持续期表现不太一致),抽穗率均大于30.0%。

上述一些甘蔗的终花期和开花持续期随着年份的变化而有所变化,且不同处理间(含对照)这种变化趋势大致保持一致,但各断夜处理的花期仍主要分布在较理想的杂交利用时间内,表明该试验的处理方案适宜在不同年份应用。不同年份间甘蔗开花情况的变化主要是由于气温、湿度等因素的年份间变化所致,但目前对相关因素的具体影响仍缺乏了解,这方面有待于进一步研究。

参考文献

- [1] MOORE P H, NUSS K J. Flowering and flower synchronization [C] // HEINZ D J. Sugarcane improvement through breeding. Elsevier Press, Amsterdam, 1987: 273-312.
- [2] MOORE P H, HEINZ D J. Photoperiodic delay and extension of the flowering season of early flowering *Saccharum spontaneum* hybrids [J]. Hawaiian Planters' Record, 1972, 58(13): 165-172.
- [3] BURR G O. The flowering of sugarcane [J]. Report Hawaiian Sugar Technologists, 1950, 9: 47-49.
- [4] 黄启尧. 甘蔗开花研究及其利用[J]. 甘蔗糖业, 1983(4): 1-7.
- [5] 李奇伟, 唐明德, 陈西文. 一些难开花和不开花的甘蔗品系的开花诱导初步研究[J]. 甘蔗糖业, 1994(1): 17-23.
- [6] 李奇伟, 陈西文, 胡后祥. 甘蔗开花的诱导研究续报[J]. 甘蔗, 1994(3): 17-21.
- [7] 周耀辉, 黄启尧, 杨业后. 甘蔗花粉低温贮存与生活力[J]. 甘蔗糖业, 1994(2): 7-10.
- [8] 邓海华, 胡后祥, 吉家乐, 等. 细茎野生蔗F1品系花粉贮存研究[J]. 甘蔗糖业, 1999(4): 1-7.
- [9] 李奇伟, 邓海华, 周耀辉, 等. 近年来海南甘蔗育种场甘蔗开花诱导与新种质杂交利用研究[J]. 甘蔗糖业, 2000(1): 1-7.
- [10] 张垂明, 刘少谋, 符成, 等. 断夜处理不同光照强度对延迟甘蔗花期的影响[J]. 甘蔗糖业, 2007(3): 1-6.
- [11] 张垂明, 符成, 刘少谋, 等. 断夜处理天数对延迟甘蔗开花的影响[J]. 甘蔗糖业, 2007(4): 1-6.
- [12] 黄锦福, 张垂明, 邓海华. 海南甘蔗育种场常用甘蔗亲本开花习性的初步研究[J]. 甘蔗糖业, 1997(4): 1-7.
- [13] 南京农业大学. 田间试验和统计方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 217-218.

BA 0.5 ng/L + KT 1.5 ng/L + NAA 0.2 ng/L + 蔗糖30 g/L培养基的增殖系数最高,培养40d时达到了6.1。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [2] 顾志建, 王丽, 龚洵. 万寿竹六个居群的核型分析研究[J]. 植物分类学报, 1993, 31(5): 399-404.
- [3] 杨亲二. 宝铎草和长穗开口箭的核型[J]. 广西植物, 1995, 15(2): 158-162.
- [4] 顾志建, 孙航. 西藏墨脱地区一些植物的染色体报道[J]. 云南植物研究, 1998, 20(2): 207-210.
- [5] 胡超, 丁春邦, 周绍丽. 植物节外生枝与叶上开花现象的形态解剖研究[J]. 四川农业大学学报, 1997, 15(3): 307-310.