

彩色马蹄莲‘Parfait’不定芽 诱导增殖培养条件的优化和筛选

彭峰¹, 陈嫣嫣², 郝日明², 夏冰¹

[1. 江苏省植物研究所(南京中山植物园), 江苏南京 210014; 2. 南京农业大学园艺学院, 江苏南京 210095]
中国科学院

摘要:以初代培养获得的彩色马蹄莲(*Zantedeschia hybrida*)品种‘Parfait’无菌块茎芽为外植体,研究不定芽诱导增殖的培养条件。4因素3水平的正交实验结果表明,以无菌块茎芽在含20 g·L⁻¹蔗糖、pH 5.8的B5培养基中以每天12 h光照条件进行培养,对不定芽的诱导效果最好。培养基中添加不同种类和浓度的细胞分裂素,诱导率均可达100%,其中以添加3 mg·L⁻¹6-BA对不定芽的增殖效果最好。

关键词:彩色马蹄莲;不定芽;诱导;增殖

中图分类号: Q943.1; S682.2⁺64 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2006)02-0047-03

Optimum on induction and proliferation of adventitious buds from *Zantedeschia hybrida* ‘Parfait’ *in vitro* PENG Feng¹, CHEN Yan-yan², HAO Ri-ming², XIA Bing¹ (1. Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China; 2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, 15(2): 47-49

Abstract: *Zantedeschia hybrida* ‘Parfait’ tuber buds as explant were sterilized and grown to research induction and proliferation of adventitious buds. The culture conditions (light period, sucrose concentration, culture medium type and pH) were selected by orthogonal experiment. The result showed that the optimal culture condition for inducing adventitious bud was B5 medium containing 20 g·L⁻¹ sucrose, pH 5.8 under 12 h·d⁻¹ light. To stimulate proliferation of adventitious buds, different types and concentrations of cytokinin were supplemented to media, it was indicated that the induction rate was increased to 100% after adding cytokinin to media, and with a best proliferation rate when adding 3.0 mg·L⁻¹ 6-BA.

Key words: *Zantedeschia hybrida* ‘Parfait’; adventitious bud; induction; proliferation

彩色马蹄莲(*Zantedeschia hybrida*)原产南非,是目前很有发展潜力的球根花卉。采用植物组织培养技术进行繁殖是彩色马蹄莲产业化生产的有效途径,其中不定芽增殖诱导是其组织培养中的重要环节之一。目前,对彩色马蹄莲的相关研究以诱导愈伤组织再分化芽来建立离体培养体系居多^[1-3],尚未见对彩色马蹄莲不定芽诱导增殖方面的研究。由于通过对无菌块茎芽的诱导,可直接发生粗壮的不定芽,且不会产生变异现象,因此,作者利用彩色马蹄莲‘Parfait’的无菌茎块进行不定芽的诱导和增殖,并通过设置不同光照时间、蔗糖浓度、基本培养基及pH值、细胞分裂素的种类及浓度等因素筛选彩色马蹄莲不定芽诱导和增殖的最佳培养条件,为彩色马蹄莲的组织培养提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验材料为南京中山植物园引自荷兰的脱毒彩色马蹄莲‘Parfait’种球(*Zantedeschia hybrida* ‘Parfait’),取长1 cm的芽作为外植体,用3 g·L⁻¹根菌清预处理24 h,在添加了100 mg·L⁻¹青霉素和100 mg·L⁻¹庆大霉素的培养基中培养,取初代

收稿日期: 2005-10-28

基金项目: 江苏省农业三项工程资助项目[sx(2004)079]和南京市科技资助项目(05sb210091)

作者简介: 彭峰(1957-),男,江苏无锡人,硕士,副研究员,主要从事观赏植物和植物资源的开发和研究。

培养后转绿并生长较一致的无菌块茎芽作为外植体。

1.2 方法

1.2.1 不定芽诱导的正交实验 选择光照时间、蔗糖浓度、基本培养基及pH值等4因素,实验采用 $L_9(3^4)$ 因素3水平的正交设计,设置光照时间为每天0、12和24 h,蔗糖浓度为20、30和40 $g \cdot L^{-1}$,基本培养基为MS、B5和Nitsch, pH值为5.4、5.8和6.2,共9个处理。将无菌块茎芽转接于各组培养基中(7 $g \cdot L^{-1}$ 琼脂),每处理各接种10瓶,每瓶2个芽。30 d后统计不定芽诱导率。

1.2.2 细胞分裂素对不定芽诱导增殖的影响实验在经正交实验筛选出的最佳组合培养基中分别添加不同浓度的6-BA(1、3和5 $mg \cdot L^{-1}$)、TDZ(0.1、0.3和0.5 $mg \cdot L^{-1}$)和KT(1、3和5 $mg \cdot L^{-1}$)。将无菌块茎芽转接于上述培养基(含0.2 $mg \cdot L^{-1}$ NAA和7 $g \cdot L^{-1}$ 琼脂)中,每处理各接种10瓶,每瓶2个芽。30 d后统计不定芽诱导率及不定芽的增殖芽数。

1.3 数据处理

对实验结果进行极差分析时若诱导率不在30%~70%范围内,为提高检验的精确度,应先对获得的数据进行反正弦转换。差异显著性分析采用Duncan的新复极差法(SSR)^[4]。

2 结果和分析

2.1 不定芽诱导的正交实验结果分析

彩色马蹄莲不定芽诱导培养条件的正交实验设计及结果见表1。从表1可看出,以处理4和处理7的诱导率最高,均达到95%,2个处理组的蔗糖浓度均为20 $mg \cdot L^{-1}$,基础培养基分别为B5和Nitsch培养基, pH值分别为6.2和5.8,光照条件为每天24 h或12 h。

对诱导结果进行极差分析,因素内水平极差(R)的大小说明该因素对实验结果的影响程度。由表1可看出,4个因素对彩色马蹄莲品种‘Parfait’无菌块茎芽的不定芽诱导率影响的主次关系是B、D、C、A,即:依次为蔗糖浓度、pH值、基本培养基类型和每天光照时间。根据各因素水平均值(K_i)的大小,可得到最优水平组合为 $A_3B_1C_2D_2$,即以无菌块

茎芽在蔗糖浓度20 $g \cdot L^{-1}$ 、pH值5.8的B5培养基中培养,每天光照12 h,诱导不定芽效果最好。

表1 彩色马蹄莲品种‘Parfait’不定芽诱导的正交实验结果及直观分析

Table 1 Result and analysis on orthogonal experiment of culture condition selection for induction of adventitious buds of *Zantedeschia hybrida* ‘Parfait’

| 处理 Treatment | 因素和水平 ¹⁾ Factor and level ¹⁾ | | | | 诱导出芽 外植体数 Number of induced explant | 诱导率/% Induction rate |
|-----------------|----------------------------------------------------|-------|--------|-------|----------------------------------------------|----------------------------|
| | A | B | C | D | | |
| 1 | 0 | 20 | MS | 5.4 | 15 | 75 |
| 2 | 0 | 30 | B5 | 5.8 | 18 | 90 |
| 3 | 0 | 40 | Nitsch | 6.2 | 15 | 75 |
| 4 | 24 | 20 | B5 | 6.2 | 19 | 95 |
| 5 | 24 | 30 | Nitsch | 5.4 | 15 | 75 |
| 6 | 24 | 40 | MS | 5.8 | 15 | 75 |
| 7 | 12 | 20 | Nitsch | 5.8 | 19 | 95 |
| 8 | 12 | 30 | MS | 6.2 | 17 | 85 |
| 9 | 12 | 40 | B5 | 5.4 | 13 | 65 |
| K1 | 63.86 | 71.39 | 62.40 | 57.91 | | |
| K2 | 65.69 | 66.26 | 67.46 | 69.55 | | |
| K3 | 66.01 | 57.91 | 65.69 | 68.10 | | |
| R | 2.15 | 13.48 | 5.06 | 11.64 | | |

¹⁾A: 光照时间($h \cdot d^{-1}$) Light period ($h \cdot d^{-1}$); B: 蔗糖浓度($g \cdot L^{-1}$) Concentration of sucrose ($g \cdot L^{-1}$); C: 基本培养基类型 Base medium type; D: pH.

2.2 细胞分裂素种类及浓度对不定芽诱导增殖的影响

以上述正交实验获得的最佳不定芽增殖诱导培养条件为基础,进一步研究细胞分裂素种类及浓度对不定芽诱导增殖的影响,结果见表2。由表2可知,分别添加了不同浓度的6-BA、TDZ和KT的9个处理对不定芽的诱导率均为100%,说明在适宜的培养条件下,添加适量细胞分裂素能显著提高诱导率。此外,实验结果还表明,添加外源细胞分裂素可明显促进不定芽的增殖,就增殖倍数来看,添加3 $mg \cdot L^{-1}$ 6-BA对不定芽的增殖效果最好,达到5.4倍;而添加了0.3 $mg \cdot L^{-1}$ TDZ的培养基中不定芽的增殖量最小,仅为3.7倍。差异显著性分析表明,不同种类的细胞分裂素对不定芽增殖的效果存在明显差异(表2),除5 $mg \cdot L^{-1}$ 6-BA处理组外,添加3 $mg \cdot L^{-1}$ 6-BA的处理组与其他处理组在5%水平上均有显著差异。因此,综合考虑成本等因素,以添加3 $mg \cdot L^{-1}$ 6-BA最有利于不定芽的增殖。

表2 细胞分裂素的种类及浓度对彩色马蹄莲品种‘Parfait’不定芽诱导增殖的影响

Table 2 The influence of different types and concentrations of cytokinin on induction and proliferation of adventitious buds of *Zantedeschia hybrida* ‘Parfait’

| 处理 Treatment | 细胞分裂素种类 Cytokinin | 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Concentration | 诱导出芽外植体数 Number of induced explant | 增殖芽数 Number of proliferation bud | 诱导率/% Induction rate | 增殖倍数 ¹⁾ Proliferation fold ¹⁾ |
|-----------------|----------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------|
| 1 | BA | 1 | 20 | 84 | 100 | 4.2 bcABC |
| 2 | | 3 | 20 | 108 | 100 | 5.4 aA |
| 3 | | 5 | 20 | 104 | 100 | 5.2 abAB |
| 4 | TDZ | 0.1 | 20 | 78 | 100 | 3.9 cBC |
| 5 | | 0.3 | 20 | 74 | 100 | 3.7 cC |
| 6 | | 0.5 | 20 | 86 | 100 | 4.3 bcABC |
| 7 | KT | 1 | 20 | 78 | 100 | 3.9 cBC |
| 8 | | 3 | 20 | 82 | 100 | 4.1 cABC |
| 9 | | 5 | 20 | 76 | 100 | 3.8 cC |

¹⁾ 数字后的大写和小写字母分别表示在1%和5%水平上的差异显著性 The capital and small letters after figures indicate the significant difference at 1% and 5% levels respectively.

3 讨 论

利用组织培养技术离体诱导彩色马蹄莲外植体不定芽增殖, 以往的研究选用的因素较少^[1-3], 使研究结果有一定的局限性。采用正交实验进行多种影响因子的筛选, 充分考虑了各因子间的相互作用, 研究结果具有实用性和可操作性。蔗糖浓度是影响诱导率的主要因素, pH 值次之, 说明碳源浓度是制约不定芽诱导的重要条件。由实验结果可知, 当蔗糖浓度为 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 诱导不定芽效果最好; 而随着蔗糖浓度增高, 诱导率反而下降。因此, 对于彩色马蹄莲品种‘Parfait’, 当蔗糖浓度超过 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时可能抑制其不定芽的诱导。

与其他多种植物的离体培养相似, 外源激素仍是影响彩色马蹄莲不定芽诱导的主要因素之一, 尤其是添加 $3 \sim 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 可显著促进不定芽的大量诱导和增殖。而 TDZ 在浓度只有 6-BA 和 KT 浓度 10% 的情况下, 诱导率和增殖倍数也较高, 说明 TDZ 具有高度的细胞分裂素活性, 这与有关研究报道的结论是一致的^[5-7]。

在适宜培养条件下对彩色马蹄莲品种‘Parfait’的无菌块茎芽进行诱导, 直接发生粗壮的不定芽, 并通过添加适宜、适量的细胞分裂素进行不定芽的增殖, 有利于摸索出快速、高效的彩色马蹄莲品种‘Parfait’的离体培养途径, 提高了快繁增殖系数和组培苗的质量。

参考文献:

- [1] 范加勤, 张雯雯, 张娜, 等. 几种彩色马蹄莲品种的离体培养与快速繁殖[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(2): 28-31.
- [2] 李倩中, 谭国华, 周建涛. 彩色马蹄莲组培技术[J]. 江苏农业科学, 2003(6): 86-87.
- [3] 吴丽芳, 熊丽, 屈云慧, 等. 彩色马蹄莲组培研究[J]. 西南农业大学学报, 1999, 21(5): 423-426.
- [4] 盖钧镒. 实验统计方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. 81-88.
- [5] 周俊彦, 郭扶兴. 苯基脲衍生物的细胞分裂素活性[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(4): 7-12.
- [6] 张宝红, 李秀兰. TDZ 在棉花组织培养中的效应[J]. 作物学报, 1995, 21(2): 254-256.
- [7] 崔瑾, 李式军, 杨旭东. 红梗芋试管球茎的简便有效诱导[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(1): 44.