

秋水仙素处理白掌组培苗的效应与多倍体诱导

郑云飞^{1,3},徐维杰²,廖飞雄^{3*}

(1 江西省九江市林业科学研究所 332001;2 江西农业大学园林与艺术学院;3 华南农业大学林学与风景园林学院 / 广东省森林植物种质创新与利用重点实验室)

摘要:白掌为天南星科 *Araceae* 白鹤芋属 *Spathiphyllum*) 多年生草本植物。本试验以不同白掌品种为材料,利用秋水仙素处理诱导多倍体,通过流式细胞仪技术进行多倍体鉴定。结果表明:不同品种的多倍体诱导率不同,其中 *Spathiphyllum* 'Bright' 诱导率最高,达 67%;*Spathiphyllum* 'Coddy color' 最低,为 10%;*Spathiphyllum floribundum* 和 *Spathiphyllum* 'Parrish' 分别为 38%和 30%;*Spathiphyllum floribundum*,*Spathiphyllum* 'Coddy color',*Spathiphyllum* 'Bright',*Spathiphyllum* 'Parrish' 4 个品种分别获得 2 株、1 株、2 株、3 株纯四倍体植株。

关键词:白掌;秋水仙素;多倍体

白掌是天南星科 (*Araceae*) 白鹤芋属 (*Spathiphyllum*) 的一种多年生草本植物,又名白鹤芋、苞叶芋、匙叶芋。白掌丛生、短茎或无茎;叶长圆形或近披针形,有长尖,叶长 20~30cm、宽 6~8cm;基部圆形,叶柄细长,花梗特长,佛焰苞呈叶状,大而显著,高出叶丛,初开时洁白色,后转为微绿色;花期较长,可达 5~6 周,通常春季或夏季开花^[1,2]。由于花形酷似鹤翘首,色泽洁白无瑕,被人们视为“清白之花”^[3],叶宽大,又取名“一帆风顺”寓意事事顺利,平平安安。然而,白掌抗病性较弱,影响其观赏价值。因此,有必要充分开发、利用现有的资源进行遗传改良。通过组织培养与秋水仙素诱导相结合选育植物多倍体技术在国内外被育种学家广泛应用。本试验利用秋水仙素对白掌不同品种进行多倍体诱导,通过流式细胞仪技术加以鉴定。

1 试验材料

1.1 植物材料

Spathiphyllum floribundum,*Spathiphyllum* 'Coddy color',*Spathiphyllum* 'Parrish',*Spathiphyllum* 'Bright' 组培苗的茎尖。

材料均来自于广东省农业科学院环境园艺研究所观赏植物中心组培室。

1.2 诱导剂

秋水仙素 (*colchicine*),德国 Sinus 公司进口,纯度为 99.9%。

2 试验方法

2.1 秋水仙素溶液的配制

取 1g 秋水仙素置于无菌玻璃瓶中,加 100mL 无菌蒸馏水,搅拌使其充分溶解,配制成浓度为 1%的母液,将配置好的母液过滤灭菌后,用无菌蒸馏水稀释配制成所需浓度的秋水仙素溶液,整个过程要求处于无菌条件下,配置好的溶液在 4℃下避光保存。

2.2 秋水仙素处理不同品种

选取生长旺盛,体型较一致的 *Spathiphyllum* 'Bright',*Spathiphyllum floribundum*,*Spathiphyllum* 'Coddy color',*Spathiphyllum* 'Parrish' 组培苗,切取茎尖 0.5cm 左右,放入浓度为 0.1%的秋水仙素的瓶中,每瓶装有 25mL 溶液,90r/min 旋转培养 96h,处理后接种于培养基 MS+30g/L 蔗糖 +7g/L 卡拉胶 + 6-BA 1mg/L+NAA 0.1mg/L 中,暗培养 7d,转到培养基 MS+6-BA 4mg/L+LNAA 0.2mg,光照培养 7d,记录其萌芽数和存活数,继续光照培养 20d 后,记录其增殖数和存活数。继代 3 次,继代培养基为 MS+6-BA 2mg/L+NAA 0.2mg/L,每瓶 5 个,每处理 6 瓶,不加秋水仙素为对照重复 2 次。

2.3 流式细胞仪鉴定

取实验材料叶片,每个处理选取 10 株,蒸馏水洗净表面培养基并滤纸擦干,放入在冰箱进行预冷后的培养皿里,加入预冷的约裂解液 500μL,刀片快速切碎,整个过程,材料须浸没在解离液里,以便更好地游离细胞核,吸取培养皿内的解离液,用 260~560 目的尼龙网过滤到离心管中,然后置于冰中,孵育 5 min,加入 PI 染色液(约 100μL),置于冰上避光染色 12min 左右,染色后移至上样管,进行上机检测,每个样品收集至少 10000 个颗粒。

2.4 数据处理

主要运用 EXCEL(WPS 版)软件和 SPSS17.2 软件分析和整理。

3 结果与分析

经过方差分析发现不同白掌品种间其萌芽率和增殖率都存在显著性差异 (P 均为 $0.02 < 0.05$),而成活率并未存在显著性差异 ($P=0.18 > 0.05$)。从表 1 中得出 *Spathiphyllum* 'Bright' 品种处理组与对照组的萌芽率都最高,分别为 59%,77%;其中 *Spathiphyllum* 'Coddy color' 和 *Spathiphyllum* 'Bright' 2 个品种对照组萌芽率显著高于处理组;*Spathiphyllum floribundum* 与

基金项目:广东科技计划项目(2016A050502051)

作者简介:郑云飞,女。

通信作者:廖飞雄,研究员。

表 1 不同品种经秋水仙素处理后的生长效果

品名	处理浓度 / %	处理茎尖数 / 个	萌芽数 / 个	成活数 / 个	增殖数 / 个	萌芽率 / %	成活率 / %	增殖率 / %
	<i>S. floribundum</i>	0	30	10	30	15	33	100
	0.1	30	10	29	11	34	97	37
<i>S. Parrish'</i>	0	30	7	30	10	23	100	33
	0.1	30	4	16	6	25	53	20
<i>S. Bright'</i>	0	30	16	29	14	59	97	47
	0.1	30	23	30	7	77	100	23
<i>S. Coddy color'</i>	0	30	4	30	18	13	100	60
	0.1	30	15	30	12	50	100	40

注: 萌芽率 = 萌芽数 / 处理茎尖数; 存活率 = 存活数 / 处理茎尖数; 增殖率 = 增殖数 / 处理茎尖数。

Spathiphyllum 'Parrish' 2 品种略高于处理组, 这有可能是秋水仙素对这 4 个品种茎尖的萌芽有抑制作用以及不同品种对秋水仙素的敏感度不同所导致的。不同白掌品种的茎尖经过秋水仙素处理后, 其成活率也有差异, 其中 *Spathiphyllum floribundum* 和 *Spathiphyllum 'Parrish'* 2 品种经过秋水仙素处理后存活率相对于对照组来说有所降低, *Spathiphyllum 'Parrish'* 差异尤为显著, 存活率仅为 53%, 秋水仙素对 *Spathiphyllum 'Bright'* 和 *Spathiphyllum 'Coddy color'* 2 品种无明显作用。不同白掌品种经秋水仙素处理后, 茎尖增殖率有所差异, 然而, 秋水仙素处理对 4 个品种的增殖率都明显低于对照组。

表 2 不同品种经秋水仙素处理后的多倍体诱导效果

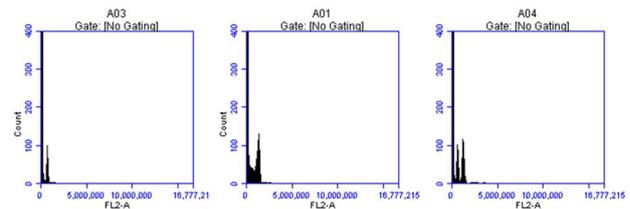
品名	处理浓度 / %	处理茎尖个数	检测株数	二倍体 / 株	嵌合体 / 株	纯四倍体 / 株	诱变率 / %
<i>S. floribundum</i>	0	30	8	8	0	0	0
	0.1	30	8	5	1	2	38
<i>S. Parrish'</i>	0	30	10	10	0	0	0
	0.1	30	10	7	0	3	30
<i>S. Bright'</i>	0	30	10	10	0	0	0
	0.1	30	6	2	2	2	67
<i>S. Coddy color'</i>	0	30	10	10	0	0	0
	0.1	30	10	9	0	1	10

注: 诱变率 = (嵌合体株数 + 纯四倍体株数) / 检测株数。

表 2 表明, 同一秋水仙素浓度处理相同时间, 不同品种的诱变率不同, 其中 *Spathiphyllum 'Bright'* 品种诱导率最高, 达 67%, *Spathiphyllum 'Coddy color'* 最低, 为 10%; *Spathiphyllum floribundum* 和 *Spathiphyllum 'Parrish'* 品种诱变率分别为 38%、30%; *Spathiphyllum floribundum*、*Spathiphyllum 'Coddy color'*、*Spathiphyllum 'Bright'*、*Spathiphyllum 'Parrish'* 4 个品种分别获得 2 株、1 株、2 株、3 株纯四倍体植株。

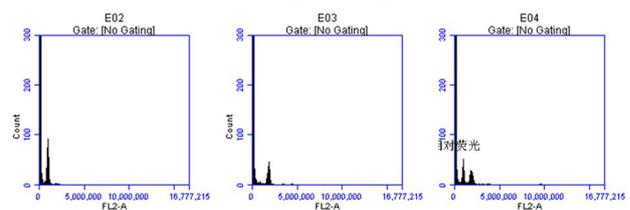
通过流式细胞仪对细胞 DNA 含量进行测定和分析, 结果表明染色体加倍的植株其 DNA 含量也相应增加了 1 倍, 四倍体植株峰值位置约为二倍体植株 2 倍;

而在 2 个位置同时各出现 1 个峰即有 2 个峰的植株则为嵌合体植株, 这表明该植株同时存在二倍体和四倍体 2 个倍性水品的细胞。然而, 不同品种白掌测定时相对荧光强度值的位置有所不同 (图 1-4), 其中 *Spathiphyllum 'Bright'*、*Spathiphyllum floribundum*、*Spathiphyllum 'Coddy color'*、*Spathiphyllum 'Parrish'* 品种作为对照的二倍体植株的相对荧光强度值分别仅在约 0.70、0.85、0.65、0.60 位置出现 1 个单峰 (图 B、C、D、E), 四倍体植株分别仅在约 1.40、1.70、1.30、1.30 位置出现单峰 (图 b、c、d、e)。结果还发现各嵌合体的峰值比例也有所差异, 有些植株四倍体的细胞数量多于二倍体细胞 (图 Bb), 而又有部分植株二倍体细胞较多 (图 Cc), 这有可能是因为植株本身细胞所占比例差异性。



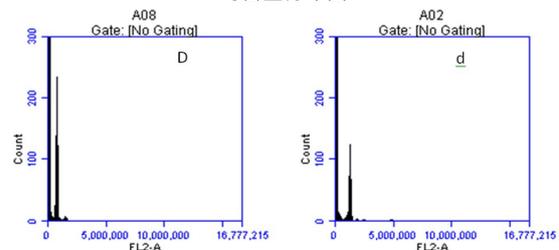
B 为二倍体, b 为四倍体, Bb 为嵌合体植株

图 1 *Spathiphyllum 'Bright'* 品种二倍体、四倍体、嵌合体植株 DNA 相对含量分布图



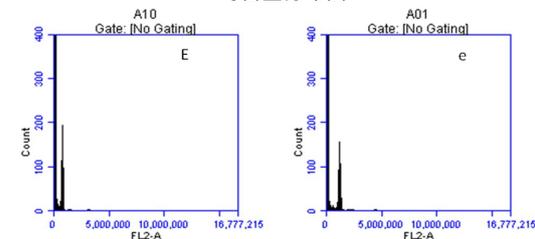
C 为二倍体, c 为四倍体, Cc 为嵌合体植株

图 2 *Spathiphyllum floribundum* 品种二倍体、四倍体植株 DNA 相对含量分布图



D 为二倍体, d 为四倍体

图 3 *Spathiphyllum 'Coddy color'* 品种二倍体、四倍体植株 DNA 相对含量分布图



E 为二倍体, e 为四倍体

图 4 *Spathiphyllum 'Parrish'* 品种二倍体、四倍体植株 DNA 相对含量分布图

紫薯脱毒苗的组培快繁技术研究

张迪,张星辰,姜孟琪,刘兆辉,刘新元,郑世英*

(德州学院生态与园林建筑学院,山东德州 253000)

摘要:以紫薯品种泰中11号为试验材料,对紫薯脱毒苗的组培快繁技术进行了研究。结果显示:MS培养基有利于提高紫薯脱毒苗的成活率。最适合紫薯试管苗生长的NAA浓度为0.5~1.0 mg/L。当6-BA浓度为0.1~1.0 mg/L时,更有利于紫薯脱毒试管苗的快速生长。

关键词:紫薯;脱毒苗;组培;技术

紫薯 *Ipomoea batatas* (L.) Poir.) 旋花科 Convolvulaceae) 番薯属,又叫黑薯,薯肉呈紫色至深紫色。其富含蛋白质、淀粉、果胶、纤维素、氨基酸、维生素及多种矿物质,同时还富含硒元素和花青素^[1]。紫薯营养丰富具特殊保健功能,其中的蛋白质氨基酸都是极易被人体消化和吸收的。其中富含的维生素A可以改善视力和皮肤的粘膜上皮细胞,维生素C可使胶原蛋白正常合成,防治坏血病的发生,花青素是天然强效自由基清除剂^[2]。在实际生产中,影响紫薯品质和产量的主要因素是病毒^[3]。通过组培方法繁育脱毒紫薯苗是目前防治紫薯病毒的有效途径。本试验利用不同类别的培养基和植物生长调节物质对紫薯品种泰中11号(由泰安农业科学研究院繁育)脱毒试管苗组培快繁进行研究,为泰中11号脱毒苗的生产提供理论依据。

1 材料与方

4 讨论

人工诱导多倍体是育种研究中的一大突破,此技术不仅克服了自然发生多倍体时间漫长,变异频率极低等困难,还大大解决了远缘杂交不孕等诸多瓶颈问题。其在作物育种上具有十分重要的意义,白掌在自然状态下以二倍体或三倍体形式存在,采用传统育种手段培育白掌新品种较费时、费力。目前,白掌的组织培养体系已经较为成熟,大量研究者对白掌离体快繁技术的各个方面进行了详细的研究。朱根发、吴丽君、陈碧华、毛红俊、陈汉鑫、谢云、林加根、王莲辉等对绿巨人、神灯白掌、香水白掌、维克、皇后白掌、娇小白掌、女神白掌的组织培养进行了一系列研究^[9-11],建立了一套完整的白掌离体快繁体系。白掌主要以叶片、叶柄、腋芽、茎尖、肉穗花序、根尖为外植体进行组织培养,并都成功获得了大量的植株^[12-17]。以不同白掌品种为材料,用秋水仙素处理进行多倍体诱导,试验结果表明,不同品种间其萌芽率和增殖率都存在极显著性差异,多倍体诱导率也存在差异,这很有可能是因为品种的差异性对秋水仙素溶液处理产生的敏感度有所不同。目前,白掌品种较为单一,抗病性较弱,极大地影响了其观赏价值和经济效益,对于新品种的选育已是势在必行。

(收稿:2018-03-03)

1.1 供试材料

供试紫薯为泰中11号,置于28±2℃温室中进行培养。

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料的处理。取紫薯泰中11号植株,除掉大部分叶片、叶柄,用0.1%的洗衣粉液洗涤后,再用蒸馏水清洗干净,放置于超净工作台上进行灭菌处理。具体操作步骤是先在75%酒精中浸泡30s,再用0.1%的HgCl₂溶液消毒20min,用无菌水进行清洗。在超净工作台上将泰中11号脱毒苗修剪成段,截成1~2cm带1-2个腋芽的小段,按形态学方向在设计好的培养基上进行接种。每瓶接种6个外植体,观察其生长状况。

1.2.2 培养基设计。根据配方培养基设计为3种:(1)基本培养基分别为:MS、N6和B5。(2)分别添加NAA 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5mg/L的MS培养基。(3)分别添

参考文献:

- [1]雷洽祥.清白之花—白鹤芋[J].花木盆景,2002(10):25.
- [2]卢思聪.室内观叶赏花植物—白鹤芋[J].中国花卉盆景,1996(02):8-9.
- [3]朱根发.白鹤芋属观赏植物的组织培养和快速繁殖技术研究[J].中国农学通报,2003,19(3):75-76,88.
- [4]吴丽君.神灯白掌组织培养的研究[J].福建林学院学报,2001(02):169-172.
- [5]陈碧华.神灯白掌组织培养快繁技术[J].林业科技通讯,1999(05):27.
- [6]黄小荣,杨开太.香水白掌的组织培养[J].广西林业科学,2001,30(1):39-40.
- [7]毛红俊,孔祥生,张妙霞,等.香水白掌离体培养褐化反应的初步研究[J].北方园艺,2010(10):182-184.
- [8]陈汉鑫,张连水,万学锋,等.白掌品种“维克”茎尖离体培养及快速繁殖[J].福建农业学报,2013(05):486-489.
- [9]荣慧,陈丽文,谢云,等.皇后白掌的组培快繁试验研究[J].现代园艺,2012(15):3-4.
- [10]林加根,鞠一,吴维坚,等.娇小白掌的组培快繁研究[J].现代农业科技,2010(13):218,221.
- [11]王莲辉,田炼红.女神白掌的组织培养和快速繁殖[J].中国野生植物资源,2002(01):64.
- [12]范敏,张瑞麟.白掌的组织培养及快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003(05):477.
- [13]江金兰,叶炜,罗庆国,等.白掌的组培与快繁技术[J].浙江农业科学,2011(05):1019-1020.
- [14]覃和业,邱美欢.白掌的组织培养和快速繁殖[J].热带农业科学,2008(01):32-33.
- [15]朱飞雪,郭丽.白掌的组织培养技术研究[J].河南农业,2014(6):40-42.
- [16]唐征,张小玲.白掌组培快繁技术的研究[J].温州农业科技,2004(03):65-67.
- [17]陈中林,等.白掌的离体快速繁殖初探[J].浙江亚热带作物通讯,2004(06):15.