

不同激素配比对蜘蛛兰组织培养的影响

田英翠, 杨柳青 (中南林业科技大学, 湖南长沙 410004)

摘要 在组织培养过程中, 以蜘蛛兰为试材, 以鳞茎为外植体, 研究不同激素配比对其直接诱导再生植株的影响。结果表明: MS+2 mg/L 6-BA+2 mg/L NAA 是直接诱导鳞茎再生植株的最好组合; 而 LS+1 mg/L 6-BA+2 mg/L NAA 是直接诱导鳞茎再生植株的理想培养基。

关键词 蜘蛛兰; 组织培养; 6-BA; NAA

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)24-6445-01

蜘蛛兰(*Hymeno Callissalis*)属石蒜科水鬼蕉属的球根花卉, 其观赏价值及经济价值都较高。但目前蜘蛛兰的生产周期较长, 其分球繁殖系数低, 一些珍贵品种繁殖比较困难, 这都不利于蜘蛛兰的种植及应用。为此, 笔者在相关研究^[1-4]的基础上进行组织培养研究, 对推动其快速繁殖及生产具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料 试材采自长沙市鸿飞花卉公司提供的优良品种蓝花蜘蛛兰(*H. calathina*)。

1.2 方法 采集蜘蛛兰鳞茎, 用浓度为 70% 的酒精和 0.1% 的氯化汞消毒获得无菌材料。以 MS 为基本培养基, 设置 6-BA 单因子, 将 6-BA 浓度分别设 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20 mg/L 12 个不同处理; 采用 6-BA 配合 NAA 双因子, 仍以 MS 为基本培养基, 将 NAA 浓度固定为 2 mg/L, 6-BA 浓度分别为 1、1.5、2、2.5、3 mg/L 5 个不同处理; 将 NAA 浓度固定为 1 mg/L, 6-BA 浓度分别为 1、1.5、2、2.5、3 mg/L 5 个不同处理; 以 LS 为基本培养基, 将 NAA 浓度固定为 2 mg/L, 6-BA 浓度分别为 1、1.5、2、2.5、3 mg/L 5 个不同处理; 将 NAA 浓度固定为 1 mg/L, 6-BA 浓度分别为 1、1.5、2、2.5、3 mg/L 5 个不同处理; 采用 NAA 配合 6-BA 双因子, 以 LS 为基本培养基, 将 6-BA 浓度固定为 1 mg/L, NAA 浓度分别为 1、1.5、2、2.5、3 mg/L 组合 5 个不同处理; 以 MS 为基本培养基, 将 6-BA 浓度固定为 2 mg/L, NAA 浓度分别为 1、1.5、2、2.5、3 mg/L 5 个不同处理。以上各试验, 附加 3% 的蔗糖, 5 g/L 的琼脂粉, 调节 pH 值至 5.0~6.0, 光照强度为 700~1 000 lx, 每日光照时间为 12 h 左右, 温度为 23℃±2℃的环境条件下进行培养定期检查并统计结果。

2 结果与分析

2.1 6-BA 直接诱导再生植株

2.2.1 6-BA 单因子对鳞茎诱导再生植株的影响(表 1)。从表 1 可以看出, 用单因子 6-BA 诱导效果很不理想。浓度在 1~4 mg/L 时, 诱导率在 10% 左右; 当浓度大于 5 mg/L 时, 第 10 天培养基变黑, 第 20 天培养基黑色加深, 不能继续诱导分化不定芽, 第 30 天后自然枯萎。总之, 用 6-BA 单因子直接诱导再生植株不可取。

2.2.2 6-BA 配合 NAA 双因子对鳞茎诱导再生植株的影响。从表 2 可以看出, 以 MS 为基本培养基, 固定 NAA 浓度 2 mg/L 不变, 随着 6-BA 浓度增加, 诱导不定芽数、诱导率、

表 1 6-BA(单因子)对鳞茎诱导再生植株的影响

处理序号	浓度//mg/L	诱导不定芽数	诱导率//%	叶数//个	叶长//cm
1	1	2.0	10.2	2.3	2.5
2	2	2.5	12.7	2.6	2.0
3	3	1.9	8.2	2.4	2.1
4	4	1.8	3.9	0.7	0.8
5	5	0	0		
6	6	0	0		
7	7	0	0		
8	8	0	0		
9	9	0	0		
10	10	0	0		
11	15	0	0		
12	20	0	0		

叶数、叶长也逐渐增加。其中, MS+2 mg/L NAA+2 mg/L 6-BA 组合诱导不定芽数为 5.9 个, 诱导率为 90.2%, 叶数为 2.16 个, 叶长为 4.78 cm, 效果最好; 固定 NAA 浓度 1 mg/L 不变, 增加 6-BA 浓度, 诱导效果同样逐渐增加, MS+1 mg/L NAA+2 mg/L 6-BA 组合诱导效果最好, 诱导率达 88.6%。

表 2 6-BA 配合 NAA(双因子)对鳞茎诱导再生植株的影响

处理序号	NAA mg/L	6-BA mg/L	诱导不定芽数//个	诱导率/%	叶数/个	叶长/cm
1	2	1.0	2.7	57.6	1.13	1.97
2		1.5	3.6	62.6	1.18	3.76
3		2.0	5.9	90.2	2.16	4.78
4		2.5	3.9	70.7	1.87	3.50
5		3.0	3.4	69.2	1.84	3.20
6	1	1.0	2.1	54.3	1.08	1.78
7		1.5	3.0	67.5	1.15	2.10
8		2.0	4.6	88.6	1.17	2.50
9		2.5	3.5	74.2	1.21	3.20
10		3.0	3.7	73.6	1.54	3.10

注: 基本培养基为 MS 培养基。表 5 同。

在此基础上, 针对蜘蛛兰的特性, 调节基本培养基, 以 LS 为基本培养基, 其结果见表 3。从表 3 可以看出, 固定 NAA 浓度 2 mg/L 不变, 增加 6-BA 浓度, 其中, LS+2 mg/L NAA+2 mg/L 6-BA 组合诱导不定芽数为 11.9 个, 诱导率 91.6%, 叶数为 2.15 个, 叶长为 4.67 cm, 效果最好; 固定 NAA 浓度 1 mg/L 不变, 随着 6-BA 浓度增加, LS+1 mg/L NAA+2 mg/L 6-BA 是直接诱导蜘蛛兰再生植株的最佳组合, 诱导率最高达 93.7%。

2.2 NAA 配合 6-BA 双因子对鳞茎诱导再生植株的影响(表 4) 从表 4 可以看出, 以 LS 为基本培养基, 固定 6-BA 浓度为 1 mg/L 不变, 当增加生长素 NAA 浓度时, LS+2 mg/L NAA+1 mg/L 6-BA 组合诱导不定芽数为 11.2 个, 诱导率为 91.8%, 叶数为 2.35 个, 叶长为 4.97 cm, 效果最好。

调整基本培养基 LS 培养基。为 MS 培养基, 其结果见表 5。从表 5 可以看出, 固定 6-BA 浓度 2 mg/L 不变, NAA 浓

(下转第 6449 页)

基金项目 湖南省林业厅科技项目。

作者简介 田英翠(1974-), 女, 湖南湘西人, 硕士, 讲师, 从事园林方面的教学和研究工作。

收稿日期 2006-09-26

是唯一有关的蛋白酶水解系统^[16]。

5 前景与展望

CAPN1 引起肌肉中蛋白质的水解是导致宰后肌肉嫩化及其增长的主要原因,这已成定论。从目前的研究来看,CAPN1 基因可以作为肌肉嫩度的候选基因,但候选基因多态位点与性状间相关的研究还不够,而且有关的报道也不多。CAPN1 基因能否作为一个影响肉嫩度的候选基因还需要进一步研究。随着分子生物学技术的发展,标记辅助选择(MAS)为解决这一问题提供了新的思路。选择与数量性状位点(QTL)相连锁的分子遗传标记(基因或非基因标记),通过这种基因的多态性分析进行基因型选择,提高选择的准确性,将传统的和现代分子遗传学方法结合起来进行家禽的育种实践必将是今后畜禽育种的方向,也是快速改良并培育优良畜禽品种(品系)的最佳途径。

参考文献

- [1] DEEB N, LAMONT S J. Genetic architecture of growth and body composition in unique chicken population[J]. *Hered*, 2002(93):107-118.
- [2] GUROFF G. A neutral, calcium-activated proteinase from the soluble fraction of rat brain[J]. *J Biol Chem*, 1964(239):149-155.
- [3] ISHIURA S, MUROFUSHI H, SUZUKI K, et al. Study of a calcium-activated neutral protease from chicken skeletal muscle[J]. *J Biochem*, 1978(84):225-230.
- [4] OHNO S, EMORI Y, IMAJOH S, et al. Evolutionary origin of a calcium-dependent protease by fusion of genes for a thiol protease and a calcium-binding protein[J]. *Nature*, 1984(312):566-580.
- [5] PAGE B J, CASAS E, HEATON M P. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle[J]. *Anim Sci*, 2002(80):3 077-3 085.

- [6] CASAS E, WHITE S J, RILEY D C, et al. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle[J]. *J Anim Sci* Jan 2005(83): 13-19.
- [7] WHITE S N, CASAS E, WHEELER T L, et al. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent[J]. *J Anim Sci*, 2005(83): 2 001-2 008.
- [8] YOSHIZAWA T, SORIMACHI H, TOMIOKA S, et al. Calpain dissociates into subunits in the presence of calcium ions[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 208(2):376-383.
- [9] GEERT L G, MOHAMMAD K. Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by μ -calpain under postmortem conditions[J]. *J Anim Sci*, 1999(77):2 685-2 692.
- [10] 许梓荣, 胡彩虹, 李卫芬. 钙蛋白酶系统的结构、活性调节及其在骨骼肌生长中的作用[J]. *中国畜牧杂志*, 2002, 38(2):42-46.
- [11] KANAWA R. Inactivity of μ -calpain throughout postmortem aging of meat[J]. *Food Sci*, 2002, 67(2): 635-638.
- [12] PRINGLE T D, HARRELSON J M, WEST R L, et al. Calcium-activated tenderization of strip loin, top sirloin and top round steaks in diverse genotypes of cattle[J]. *J Anim Sci*, 1999(77): 3 230-3 237.
- [13] DELGADO E F, GEESIN G H, MARCHELLO J A, et al. The calpain system in three muscles of normal and callipyge sheep[J]. *J Anim Sci*, 2001(79):398-412.
- [14] ILIAN M A, MORTON J D, KENT M P, et al. Intermuscular variation in tenderness: Association with the ubiquitous and muscle-specific calpains[J]. *J Anim Sci*, 2001(79):122-132.
- [15] PARR T, SENSKY P L, SCOTHERN G P, et al. Relationship between skeletal muscle-specific calpain and tenderness of conditioned porcine longissimus muscle[J]. *Anim Sci*, 1999(77): 661-668.
- [16] KOOHMAIAIE M. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat[J]. *Meat Sci*, 1996(43):193-201.

(上接第 6445 页)

表 3 6-BA 配合 NAA(双因子)对鳞茎诱导再生植株的影响

处理序号	NAA mg/L	6-BA mg/L	诱导不定芽数//个	诱导率 %	叶数 个	叶长 cm
1	2	1.0	3.5	64.5	1.29	3.65
2		1.5	4.9	84.3	1.73	3.79
3		2.0	11.9	91.6	2.15	4.67
4		2.5	7.8	79.6	2.07	4.52
5		3.0	7.2	73.2	1.98	4.25
6	1	1.0	5.6	67.3	1.58	4.12
7		1.5	7.5	88.4	2.17	3.95
8		2.0	14.6	93.7	2.36	4.67
9		2.5	9.0	81.2	2.01	4.21
10		3.0	8.6	80.3	2.06	4.32

注:基本培养基为 LS 培养基。表 4 同。

表 4 NAA 配合 6-BA(双因子)对鳞茎诱导再生植株的影响

处理序号	NAA mg/L	诱导不定芽数//个	诱导率 %	叶数 个	叶长 cm
1	1.0	3.7	62.5	1.25	3.68
2	1.5	5.6	78.6	1.78	3.89
3	2.0	11.2	91.8	2.35	4.97
4	2.5	8.1	85.4	2.17	4.32
5	3.0	7.6	84.6	1.94	4.29

注:6-BA 浓度为 1 mg/L。

度增加,诱导不定芽数、诱导率、叶数、叶长也逐渐增加,其中,MS+2 mg/L NAA+2 mg/L 6-BA 组合诱导不定芽数为 5.9 个,诱导率为 93.6%,叶数为 6.8 个,叶长为 7.81 cm,效果最好。

3 结论与讨论

在组织培养的过程中,以鳞茎为外植体,6-BA 和 NAA

表 5 NAA 配合 6-BA(双因子)对鳞茎诱导再生植株的影响

处理序号	NAA mg/L	诱导不定芽数//个	诱导率 %	叶数 个	叶长 cm
1	1.0	2.7	56.9	4.30	4.80
2	1.5	3.3	69.8	5.2	5.87
3	2.0	5.9	93.6	6.8	7.81
4	2.5	3.9	77.5	5.3	5.90
5	3.0	3.7	76.3	5.2	5.89

注:6-BA 浓度为 2 mg/L。

不同浓度对蜘蛛兰直接诱导再生植株的影响非常大。以 MS 为基本培养基时,6-BA 单因子直接诱导再生植株,浓度不能超过 5 mg/L。6-BA 和 NAA 双因子以不同浓度配合时,MS+2 mg/L 6-BA+2 mg/L NAA 是直接诱导鳞茎再生植株的最好组合,而 LS+1 mg/L 6-BA+2 mg/L NAA 是直接诱导鳞茎再生植株的理想培养基。

参考文献

- [1] 玉珍.植物组培快繁技术与产业化研究[J].*林业科技*,1997,2(6):12-13.
- [2] 韦三立.花卉组织培养[M].北京:中国林业出版社,2000:121-126.
- [3] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,2001:40-44.
- [4] 杨增海.园艺植物组织培养[M].北京:农业出版社,2003:330-361.
- [5] 颜昌敏.植物组织培养手册[M].上海:上海科学技术出版社,2003:202-205.
- [6] 刘敏.花卉组织培养与工厂化生产[M].北京:地质出版社,2002:78-80.