

郁金香愈伤组织诱导技术研究

薛寒青

(青海农林科学院生物所, 西宁 810016)

摘要:针对我国的郁金香种球大部分需从荷兰进口及郁金香种球存在退化严重、分球繁殖速度慢等问题进行了郁金香的组织培养研究, 得出以下结果: (1) 鳞片诱导形成愈伤组织的诱导率最高(9.25%), 诱导形成愈伤组织的最佳外植体为鳞片; (2) 筛选出最佳的起始培养基, 叶和鳞片的起始培养基均为 $MS + NAA2mg \cdot l^{-1} + BAO.2mg \cdot l^{-1}$, 鳞茎盘的起始培养基为 $MS + NAA3mg \cdot l^{-1} + BA2mg \cdot l^{-1}$ 。

关键词:郁金香; 组织培养; 培养基; 愈伤组织

中图分类号: S682.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-9967(2007)04-0004-03

Researche on Calli Induction for Tulip

XUE Han-qing

(Qinghai Academy of Agriculture and Forestry, Xining Qinghai 810016, China)

Abstract: Most of our country tulip bulb are imported from Holand. Tulip bulb degeneration is serious after first growth. Generation speed is slow. Tissue culture of tulip was studied. The results showed that scale was easy to induce calli(9.29%), the best induction medium of leaf and scale was $MS + NAA2mg \cdot l^{-1} + BAO.2mg \cdot l^{-1}$, and the induction medium of scale dish was $MS + NAA3mg \cdot l^{-1} + BA2mg \cdot l^{-1}$.

Key words: Tulip; Tissue culture; Medium; Calli

郁金香 (*Tulipa gesneriana*) 是世界名花之一, 花朵艳丽、端庄, 花色、花型丰富, 香醇醉人, 有“花后”之称^[1]。我国的郁金香种球大部分需从荷兰进口, 而且郁金香种球退化严重、分球繁殖速度缓慢^[2]。组织培养是解决这一些问题的有效途径。但关于郁金香的组织培养和快繁国内外报道很少, 本文就郁金香组织培养的外植体和愈伤组织诱导培养基选择进行了初步研究, 以期快速繁殖提供借鉴和依据。

1 材料

1.1 供试郁金香品种为: 荷兰小姐 (Miss Holland)、卡丝妮 (Cassini)、阿普多美 (Apeldoorn)、领袖 (Big chief)^[3]。均为目前生产上主栽品种。

1.2 幼苗培育: 经处理的鳞茎在 25℃, 光照 16h/d 和光照 1500 lx 生长室内砂培和 15—20℃ 室内盆栽。长出 15d 的幼叶, 待用。

1.3 外植体消毒: 鳞茎及鳞片: 自来水冲洗干净,

70% 乙醇消毒 1^[4] min, 然后 0.1% 升汞消毒 10min, 再用无菌水冲洗 4—5 遍。逐层剥取鳞片, 取中部鳞片, 切成 5mm 见方。鳞茎切块 (带少量底盘组织的鳞片切块)、每块 8mm 见方。叶片: 采集出苗后第 10d 的幼苗叶片, 用自来水冲洗干净, 70% 乙醇消毒 1min, 然后 0.1% 升汞消毒 3—5min, 取出用无菌水冲洗 4—5 遍, 切成 5mm 见方。

1.4 培养基: 用 MS^[5] 或者加入不同种类和浓度的生长调节剂, 得到 4 种培养基, MS、MS + $NAA5mg \cdot l^{-1} + BA2mg \cdot l^{-1}$ 、MS + $NAA3mg \cdot l^{-1} + BA2mg \cdot l^{-1}$ 、MS + $NAA2mg \cdot l^{-1} + BAO.2mg \cdot l^{-1}$ 。蔗糖浓度为 30g/l, 琼脂的量为 0.7%, 将 pH 调节到 5.8。

1.5 培养条件: 外植体是鳞片切成块置 25℃ 黑暗培养 9d 后, 转在 25℃ 下, 光照 12h · d⁻¹。光照强度 1500 lx 下培养; 鳞茎切块在 20℃ 下黑暗培养 9d 后转入光照 10h · d⁻¹, 光照强度 1000 lx 下培

收稿日期: 2007-04-13

基金项目: 青海省十五重大攻关项目 (2001-N-109-01)。

作者简介: 薛寒青 (1965-) 女, 汉, 副研究员, 从事花卉组织培养工作。联系方式: E-mail: hanqx77@sina.com

养;叶切块 25℃,光照 9h·d,光照强度 2000 lx 下培养。相对湿度通常保持 70%—80%。

2 结果与分析

2.1 叶外植体诱导愈伤组织

每个品种在每一培养基上接种 50 块,4 个品种在 4 种培养基上共接种 800 块。

郁金香的叶片切块诱导两种愈伤组织类型,一是乳白致密的愈伤组织,继代培养增殖速度快,器官形成力强;另一类桔黄或浅黄色,质较松软的愈伤组织,继代培养增殖极慢,不形成器官。

从形成愈伤组织的天数来看,以阿普多美形成愈伤组织的天数最短,其次是卡丝妮、领袖,荷兰小姐形成愈伤组织所需天数最多(表 1)。

表 1 不同品种叶外植体在不同培养基上产生愈伤组织效率

品种	培养基	基上产生愈伤组织效率			
		外植体数	培养天数 (d)	愈伤组织块数	诱导率 (%)
荷兰小姐	MSN2B0.2	50	115.3	9	18
	MSN3B2	50	100	8	16
	MSN5B2	50	99	5	10
	MS	50	101.0	7	14
		平均:104.1		总数:29	
卡丝妮	MSN2B0.2	50	54.1	1	2
	MSN3B2	50	73.5	2	4
	MSN5B2	50	60.1	0	0
	MS	50	74.0	0	0
		平均:65.4		总数:3	
阿普多美	MSN2B0.2	50	49	12	24
	MSN3B2	50	49.9	8	16
	MSN5B2	50	49.9	3	6
	MS	50	64.0	2	4
		平均:51.3		总数:25	
领袖	MSN2B0.2	50	51.1	15	30
	MSN3B2	50	56.1	13	26
	MSN5B2	50	97.0	2	4
	MS	50	56.0	1	2
		平均:65.05		总数:31	

不同培养基对愈伤组织诱导有较大的影响,从表 1 可以看出,①领袖、荷兰小姐、阿普多美三个品种在 MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA0.2mg·l⁻¹ 上的诱导率较高,分别为 30%、24%、18%,领袖在 MS + NAA3mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹ 上的诱导率也较高,为 26%。②在四种培养基中,可以看出 MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA0.2mg·l⁻¹ 为最佳培养基,诱导率最高,平均为 14.33%,而且形成愈伤组织的天数也最短,平均为 72.75d。③在接种的 800 块叶外植体中,有 103 块产生愈伤组织,平均诱导率为

8.59%。

综上分析可以得出:4 个品种中适宜组培的为荷兰小姐、领袖、阿普多美;最佳培养基为 MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA0.2mg·l⁻¹。

2.2 鳞片外植体诱导愈伤组织

接种数量与叶外植体相同。

鳞片切块产生的愈伤组织多为乳白块状或粒状,少数为灰或浅灰粒状或块状。白色块状或粒状。白色块状或粒状愈伤组织继代培养增殖生长快。器官形成力强;灰或浅灰愈伤组织继代培养增殖生长慢,无器官形成能力。品种之间的差异比较显著。

鳞片切块产生愈伤组织的 4 个品种中,荷兰小姐形成愈伤组织的天数最短,领袖次之,卡丝妮天数最长(表 2)。

表 2 不同品种鳞片切块在不同培养基上产生愈伤组织效率

品种	培养基	基上产生愈伤组织效率				
		外植体数	形成愈伤组织块数	培养天数 (d)	诱导率 (%)	
领袖	MSB1N0.5	50	20	41.8	10	
	MSN2B2	50	24	43	48	
	MSN5B2	50	2	34	4	
		MSN1B1GA	50	3	45	6
		合计:49		平均:41.0		
阿普多美	MSB1N0.5	50	3	40	6	
	MSN2B2	50	7	28	14	
	MSN5B2	50	1	23	2	
		MSN1B1GA	50	2	40	4
		合计:13		平均:32.8		
荷兰小姐	MSB1N0.5	50	1	30	2	
	MSN2B2	50	3	67	6	
	MSN5B2	50	2	52	4	
		MSN1B1GA	50	1	49	2
		合计:7		平均:49.5		
卡丝妮	MSB1N0.5	50	3	78	6	
	MSN2B2	50	1	67	2	
	MSN5B2	50	1	69	2	
	MSN1B1GA	50	1	72	2	
		合计:5		平均:71.5		

从表 2 可以看出 4 个不同的品种在不同培养基上的表现各不相同。①在 4 个品种中,领袖在 MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹ 上的诱导率最高,为 48%,同时领袖在 MS + BA1mg·l⁻¹ + NAA 0.5 mg·l⁻¹ 上的诱导率也较高,为 40%,其余几个品种的诱导率都较低;②在四种培养基中,MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹ 对鳞片形成愈伤组织的诱导率较高,为 17.5%,为最佳培养基,而不同培

培养基对鳞片形成愈伤组织天数的影响不明显,分别为47.5 d、51.3d、44.5d、51.5d。③在接种的800块鳞片外植体中,有66块产生愈伤组织,平均诱导率为9.25%。

总之,鳞片作为外植体时,适宜组培的品种为领袖;最佳培养基为MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹。

2.3 鳞茎盘切块诱导愈伤组织

同叶外植体和鳞片外植体相同,也是每个品种在每一培养基上接种50块4个品种在4种培养基上共接种800块。

鳞茎切块产生的愈伤组织主要是白色、致密、块状。这种愈伤组织继代培养生长迅速,器官形成力强,次为灰色块状、分叉或不分叉,继代培养生长很慢,不形成器官。

不同品种的鳞茎盘切块从接种至产生愈伤组织的天数不相同,但差异不明显(表3)。

表3 不同品种鳞茎盘切块在不同的培养基上产生愈伤组织效率

品种	培养基	基上产生愈伤组织效率			
		外植体数	愈伤组织块数	培养天数(d)	诱导率(%)
阿普多美	MSN3B2	50	8	84.8	16
	MSN2B2	50	6	96.0	12
	MSB12,4-4D1	50	2	82	4
	MSG _A 1	50	4	67	8
		共:20	平均:82.5		
卡丝妮	MSN3B2	50	7	70	14
	MSN2B2	50	4	114.0	8
	MSB12,4-4D1	50	5	80	10
	MSG _A 1	50	4	79	8
		共:20	平均:85.8		
领袖	MSN3B2	50	6	78	12
	MSN2B2	50	5	90	10
	MSB12,4-4D1	50	2	84	4
	MSG _A 1	50	2	84	4
		共:15	平均:84.0		
荷兰小姐	MSN3B2	50	4	68.0	8
	MSN2B2	50	3	94.1	6
	MSB12,4-4D1	50	2	96.0	4
	MSG _A 1	50	3	92.0	6
		共:12	平均:87.5		

从表3可以看出4个不同的品种在不同培养基上的表现各不相同,综合其诱导率以及形成愈伤组织的天数,可以得出:①在4个品种中,阿普多美、卡丝妮和领袖在MS + NAA3mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹上的诱导率较高,分别为16%、14%、12%,

阿普多美在MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹上诱导率也较高为12%,而且阿普多美形成愈伤组织的时间较短,为82.5d。②在四种培养基中,可以看出MS + NAA3mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹对鳞茎盘形成愈伤组织的诱导率最高,为15%;MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹次之(9.5%),而且培养基为MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹时鳞茎盘形成愈伤组织的天数最长,为98.5d。③在接种的800块鳞茎盘外植体中,有67块产生愈伤组织,平均诱导率为8.38%。

总之,以鳞茎盘为外植体,不同培养基对不同品种鳞茎盘外植体形成愈伤组织的研究得出:适宜组培的品种为阿普多美、卡丝妮和领袖;最佳培养基为MS + NAA3mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹。

3 结论

3.1 在相同情况下,鳞片诱导形成愈伤组织的诱导率最高(9.25%),叶片诱导形成愈伤组织的诱导率次之(8.59%),鳞茎盘诱导形成愈伤组织的诱导率最低(8.38%),得出诱导形成愈伤组织的最佳外植体为鳞片。

3.2 筛选出适宜形成愈伤组织的品种为:阿普多美、卡丝妮、领袖、荷兰小姐。“阿普多美”用鳞茎盘做外植体来诱导愈伤组织的诱导率较高;“卡丝妮”在组培时应选择其鳞茎盘作为外植体来诱导愈伤组织,才能保证较高的诱导率;同样“领袖”选择叶作为外植体,荷兰小姐应选择鳞片作为外植体。

3.3 筛选出最佳的起始培养基:叶和鳞片的起始培养基均为MS + NAA2mg·l⁻¹ + BA0.2mg·l⁻¹,鳞茎盘的起始培养基为MS + NAA3mg·l⁻¹ + BA2mg·l⁻¹。

参考文献:

- [1]金九辰,张福军.青海的郁金香[M].西宁:青海人民出版社,2005.3—8.
- [2]冯天哲.养花解疑100问[M].北京:中国农业出版社,2000.387—390.
- [3]Tulip Picture Book 国际球根花卉中心(日文版).
- [4]田英翠,袁雄强.郁金香的组培快繁技术研究[J].安徽农业科学,2006,34(2):227—232.
- [5]潘瑞枳.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2001.180.