

· 小经验 ·

提高卷叶贝母组织培养的植株再生率的研究

刘帆 倪苏* 李方安

四川农业大学农学院, 四川雅安 625014

卷叶贝母(*Fritillaria cirrhosa* D. Don.), 别名川贝母。

以卷叶贝母种胚作外植体, MS 为基本培养基。将卷叶贝母种子先用 0.1% 升汞溶液消毒 15 min 后, 放入 10 mg·L⁻¹ GA₃ 溶液中浸种 48 h, 破除休眠。取出种子, 在超净工作台上, 用 A 字夹除去种皮, 按常规表面灭菌(李文生等 2005)后, 用解剖针小心取出种胚, 将其接入愈伤组织诱导培养基(1)~(6)中: (1) MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹ (单位下同)+NAA 1.0; (2) MS+6-BA 2.0+NAA 0.5; (3) MS+6-BA 2.0+NAA 0.25; (4) MS+2, 4-D 2.0+KT 1.0; (5) MS+2, 4-D 2.0+KT 0.5; (6) MS+2, 4-D 2.0+KT 0.25。每种培养基共接种 50 个种胚(每个处理 10 瓶, 每瓶接种 5 个种胚)。经 35 d 培养后, 将培养基(2)中得到的黄绿色愈伤组织转入丛生芽诱导培养基(7)、(8)中: (7) MS+6-BA 2.0+NAA 0.5; (8) MS+6-BA 2.0+NAA 0.2。每种培

养基共接种 20 块(每个处理 10 瓶, 每瓶接种 2 块 0.5 cm×0.5 cm 的愈伤组织), 30 d 后统计丛生苗发生率。待分化苗长至 4~5 cm 高时, 以 2~3 苗为一丛转入生根培养基(9)~(11)中: (9) 1/2MS+NAA 0.2; (10) MS+IBA 0.2; (11) MS+IAA 0.2。15 d 后统计每种处理 50 株小苗的生根情况。培养基(1)~(6)中添加 100 mg·L⁻¹ 的水解乳蛋白; 所有培养基中均加 30 g·L⁻¹ 蔗糖和 8 g·L⁻¹ 琼脂, pH 5.4~5.8。培养温度(18±2)°C, 光强 1 500 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 10~12 h·d⁻¹。

试管苗移栽前先将瓶口敞开, 置于室温下炼苗 3~5 d。取出苗, 洗净培养基, 假植于装有基质为蛭石和珍珠岩(1:3)的小纸杯中(基质用 0.3% 多菌灵混合搅拌消毒 10 min), 每隔 5 d 喷洒 1 次 1/2MS 营养液, 在 20°C 左右条件下生长 20 d 后, 统计每种处理 50 株小苗成活率。得到如下结果(表 1~3):

表1 不同培养基上的种胚愈伤组织诱导率

编号	培养基	接种数/个	愈伤组织诱导率/%	愈伤组织生长状况
1	MS+6-BA 2.0+NAA 1.0	50	77 ^{bb}	黄绿色, 较致密
2	MS+6-BA 2.0+NAA 0.5	50	95 ^{aa}	黄绿色, 致密
3	MS+6-BA 2.0+NAA 0.25	50	80 ^{bb}	黄绿色, 致密
4	MS+2, 4-D 2.0+KT 1.0	50	90 ^{abA}	淡黄色, 致密
5	MS+2, 4-D 2.0+KT 0.5	50	75 ^{bb}	黄白色, 较疏松
6	MS+2, 4-D 2.0+KT 0.25	50	56 ^{cc}	黄白色, 疏松

数据经方差分析后, 用 SSR 法多重比较。小写字母表示在 0.05 水平上差异显著, 大写字母表示在 0.01 水平上差异显著。表 3 同此。

1. 卷叶贝母种胚愈伤组织诱导率为 56%~95%, 不同培养基存在显著差异, 以附加 6-BA 2.0+NAA 0.5 的 MS 培养基上的诱导率最高, 愈伤

收稿 2005-01-31 修定 2006-01-04
资助 四川农业大学农学院基金(001060)。

*通讯作者(E-mail: ns13@163.com, Tel: 0835-2882449)。

表2 不同培养基上的小鳞茎再生和增殖

编号	培养基	小鳞茎诱导率 /%	增殖系数	小鳞茎生长状况
7	MS+6-BA 2.0+NAA 0.5	90 ^{NS}	4.5 ^{NS}	出芽快, 分化较多, 健壮
8	MS+6-BA 2.0+NAA 0.2	95 ^{NS}	5.0 ^{NS}	出芽快, 分化多, 健壮

增殖周期为 20 d。数据经平均数差异显著性检验不显著。

表3 不同培养基上的生根诱导率和小苗成活率

编号	培养基	生根率 /%	平均根长 /cm	小苗成活率 /%
9	1/2MS+NAA 0.2	80 ^c	3.5 ^{NS}	35 ^c
10	MS+IBA 0.2	95 ^a	3.7 ^{NS}	80 ^a
11	MS+IAA 0.2	90 ^{ba}	3.7 ^{NS}	50 ^b

组织生长最好。在附加 2, 4-D 2.0+KT 0.25 的 MS 培养基上诱导率最低(表 1)。

2. 6-BA和NAA 配合使用有利于小鳞茎的诱导与增殖, 以培养基(8)的诱导和增殖效果较好(表 2)。

3. 0.2 mg·L⁻¹ 的 IBA、IAA 和 NAA 均能促进卷叶贝母试管苗的生根(刘金郎 2005), 其中 IBA 效果最好, 小苗成活率可达 80%, 而 IAA 和 NAA 诱导生根的小苗成活率仅为 50% 和 35% (表 3)。

4. 目前, 卷叶贝母组织培养的外植体多采用鳞茎。不同时间采集的鳞茎, 其再生鳞茎的频率不同, 如生根期采集的鳞茎再生率为 7.8%, 出苗盛期为 48.3%, 开花期为 15.9%, 果熟期为 0.1% (蔡朝晖等 1998)。本文以卷叶贝母种胚作外植体建立起的快繁体系, 繁殖系数高, 其鳞茎再生率可达 60%~65%, 比出苗盛期鳞茎的再生率高出 12%~15%。不经低温处理, 在 (18±2) °C 下即

可诱导生根(图 1)。

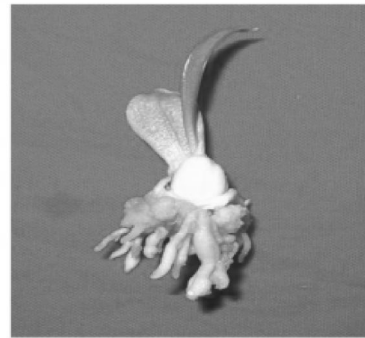


图1 卷叶贝母的生根苗

参考文献

- 李文生, 牛爱国, 闫国华, 张晓明, 周宇, 姜立杰, 张开春(2005). 櫻桃种间杂交种的幼胚培养. 植物生理学通讯, 41 (2): 196
- 刘金郎(2005). 植物生长调节剂在彩色马蹄莲组培与快繁中的生理效应. 植物生理学通讯, 41 (2): 185
- 蔡朝晖, 李萍, 高山林(1998). 中药贝母的组织培养研究概况. 中草药, 29 (4): 274~277