

激素对金鱼草茎尖快繁及对后期叶序形成的影响

李丹丹¹, 夏淋¹, 王国伟¹, 王冬良^{2*}

(1. 安徽农业大学林学与园林学院, 合肥 230036; 2. 安徽农业大学园艺学院, 合肥 230036)

摘要: 采用组织培养技术, 在金鱼草生长至第四或第五节位时取茎尖作为外植体, 探讨不同激素对金鱼草快繁及叶序发育的影响。结果表明: (1) 配方为 $MS+1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ 的增殖培养基能诱导出大量丛生芽; (2) 在不添加激素的 $1/2MS$ 培养基上, 蔗糖浓度为 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 丛生芽的根系质量最好; (3) 外源激素可以调控金鱼草对生叶原基转换为互生叶原基。

关键词: 金鱼草; 茎尖; 叶序; 快繁; 激素

中图分类号: S681.9

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2013)05-0871-04

Effect of hormone on rapid propagation of *Anthirrhinum majus* by shoot apex and late phyllotaxis formation

LI Dan-dan¹, XIA Lin¹, WANG Guo-wei¹, WANG Dong-liang²

(1. School of Forestry and Landscape Arcitecture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. School of Horticulture Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: Effects of different phytohormones on rapid propagation and the formation of phyllotaxis of *Anthirrhinum majus* were studied in this article, and the fourth or the fifth shoot apices of *Anthirrhinum majus* were used as explants by tissue culture technology. The results showed as follows. (1) The optimum multiplication medium was $MS+1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$, in which a large number of clumpy buds could be induced; (2) It was better to the roots when the consistence of cane sugar was $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in the $1/2\text{ MS}$ rooting medium without phytohormone; (3) The application of exogenous phytohormone could induce a change in the phyllotaxy from the opposite leaf primordium to the alternate one.

Key words: *Anthirrhinum majus*; shoot apex; phyllotaxy; rapid propagation; phytohormone

金鱼草 (*Anthirrhinum majus* L.), 玄参科金鱼草属多年生草本花卉, 常作一二年生栽培。其花色多且鲜艳, 品种丰富。高型可作切花或花境栽培, 中矮型可布置各式花坛、岩石园^[1]。金鱼草是少数同一植株上有 2 种及 2 种以上叶序变化的植物之一, 其叶序随生长阶段的不同而有所变化, 一般只有互生叶序中才有花芽发育, 是一个极具研究价值的遗传资源。作为园林中广泛应用的植物, 本试验拟对金鱼草组培快繁进行研究, 并探索外源激素对金鱼草组培苗叶序形成的影响, 为金鱼草的快繁及叶序发育提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用当前常用切花金鱼草品种“泛美夏粉”作为研究材料。在正常生长状况下, 切花金鱼草的叶序在第 8 或第 9 节位开始由对生转变为互生, 试验在金鱼草生长至第 4 或第 5 节位时取茎尖为作为接种材料。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基及配方 增殖培养基以 MS 为基本培养基, 附加琼脂 $6.6\sim 7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蔗糖浓度为 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 调 pH 至 5.8, 试验采用生长素 NAA 和细胞分裂素

收稿日期: 2013-03-11

基金项目: 基于混合逻辑动态系统的温室建模与控制 (31000672) 资助。

作者简介: 李丹丹, 女, 硕士研究生。E-mail: ddxihuanxixi@sina.com

* 通信作者: 王冬良, 女, 副教授。E-mail: wangdongliang@ahau.edu.cn

6-BA 2种激素及不同浓度组合,其中NAA设置的浓度分别为0、0.1、0.3、0.5和 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,6-BA设置的浓度分别为0、0.6、0.8和 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

生根培养基以1/2 MS为基本培养基,附加琼脂 $6.6\sim 7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,试验设计3种不同蔗糖浓度,探讨不同碳源浓度对生根的影响,其浓度分别设置为30、20和 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,调pH至5.8,不添加任何外源激素。

将配制好的培养基分装于三角瓶中,然后放入高压灭菌锅,在 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温度下灭菌22 min,灭菌后放入无菌培养室。

1.2.2 外植体处理 取长度约0.5 cm的茎尖作为外植体,将材料剥离后放入烧杯中,加入适量洗衣粉,用干净纱布将烧杯口封住,在自来水下冲洗,直至洗衣粉冲洗干净(约30 min)。随后在超净工作台上进行消毒(超净工作台已进行紫外杀菌30 min),先用无菌蒸馏水冲洗3次,再用75%酒精浸泡5 s,将酒精倒出,用0.1%升汞溶液浸泡7 min左右,最后再用无菌蒸馏水冲洗3次^[2]。

1.2.3 培养条件 接种后放于无菌培养室,温度保持 $(25\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$,光照强度为 $1\ 800\sim 2\ 000\text{ lx}$,光照

时间为 $12\sim 14\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 不同外源激素对比对金鱼草不定芽的诱导

接种培养60 d统计外植体增殖不定芽数量及其生长量,结果见表1。由表1可知,在NAA浓度保持不变时,增殖的不定芽数量随6-BA浓度的增加而增加,且分化系数及生长量也随之增加,说明在一定范围内,高浓度的6-BA利于芽组织分化。

试验结果表明:当NAA浓度为 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,6-BA浓度分别为0.6、0.8和 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 3种处理情况下,不定芽的分化速度快,18 d左右形成大量丛生芽,但芽苗纤细柔弱,部分芽苗叶片发黄;当NAA浓度为 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,6-BA浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其分化系数较高,且芽苗生长势好,比较粗壮,最有利于金鱼草组培快繁,说明一定浓度的NAA有利于组培苗的增粗。由表1可知,当NAA浓度大于 $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,芽的增殖逐渐受到抑制。由此可见,金鱼草不定芽诱导的最优处理为 $\text{MS}+1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ 。

表1 不同激素对比对金鱼草不定芽的诱导

Table 1 Effects of different phytohormone combinations on adventitious bud induction from *Antirrhinum majus*

NAA 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Concentration of NAA	6-BA 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Concentration of 6-BA	增殖不定芽数 Number of adventitious bud multiplication	分化系数 Differentiation coefficient
0	0	0	0
0	0.6	52	1.73
0	0.8	55	1.83
0	1	78	2.60
0.1	0	0	0
0.1	0.6	33	1.10
0.1	0.8	41	1.37
0.1	1	48	1.60
0.3	0	1	0.03
0.3	0.6	4	0.13
0.3	0.8	11	0.37
0.3	1	12	0.40
0.5	0	0	0
0.5	0.6	0	0
0.5	0.8	5	0.17
0.5	1	2	0.07
1	0	0	0
1	0.6	0	0
1	0.8	0	0
1	1	0	0

注: (1) 表中数字为培养60d后的生长量和分化系数; (2) 分化系数=增殖不定芽总数/总接种数。

Note: (1) The data in the table refer to the plant growth and differentiation coefficient after 60 days; (2) Differentiation coefficient= Number of adventitious bud multiplication / Number of inoculated explants.

表 2 不同处理组合下叶序类型统计结果
Table 2 Statistical result of the type of phyllotaxis on different mediums

6-BA浓度 /mg·L ⁻¹ Concentration of 6-BA	NAA浓度/mg·L ⁻¹ Cocentration of NAA							
	0		0.1		0.3		0.5	
	对生率/%	互生率/%	对生率/%	互生率/%	对生率/%	互生率/%	对生率/%	互生率/%
0.6	100	0	93.9	6.1	100	0	0	0
0.8	98.2	1.8	82.9	14.6	63.6	36.4	40	60
1	87.2	7.6	79.2	16.7	41.7	50	0	100

对生率 Rate of opposite sprouts; 互生率 Rate of alternative sprouts

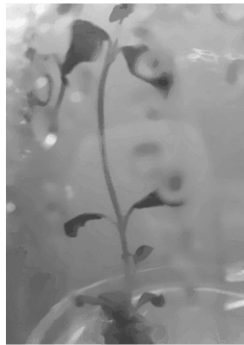


图 1 试验培育的对生苗

Figure 1 The opposite phyllotaxy plant by experiment



图 2 试验培育的互生苗

Figure 2 The alternate phyllotaxy plant by experiment

试验结果表明, 在缺少细胞分裂素时芽苗没有增殖, 只有根的分化, 且随 NAA 浓度的增加根系分化程度而增加, 当 NAA 浓度为 0.5 mg·L⁻¹ 时, 30 株外植体全部生根, 分化出来的根系主根清晰, 根长约为 3.5 cm, 发根数较多。

2.2 不同激素水平对金鱼草后期叶序形成的影响

已有文献表明, 外源激素在叶序的发生中的确产生了作用^[3-5]; 马庆通过外源生长素对叶序类型为对生的玉米进行诱导, 发现在单一因素控制下, NAA 浓度越高, 处理越早, 出现互生的叶原基频率越高^[6]。本试验拟探讨外源激素对金鱼草组培苗叶序发育的影响。

在组培苗后期生长过程中, 出现了大量的对生、互生叶序类型, 同时也出现了 2~3 棵三叶轮生叶序

类型, 试验统计了对生和互生 2 种叶序类型出现的频率, 结果见表 2。由表 2 可知, 在 6-BA 浓度不变的情况下, 对生苗发生频率逐渐降低, 互生苗发生频率逐渐增高; 表 2 还显示, 随着 6-BA 浓度的增加, 互生苗发生频率也随之增加。由此可见, 外源激素可以调控金鱼草对生叶原基转换, 金鱼草叶原基的转换是由生长素 NAA 和细胞分裂素 6-BA 共同作用的结果 (见图 1 和图 2)。

2.3 不同蔗糖浓度对生根的诱导

试验在生根培养基不添加任何激素的情况下, 研究了蔗糖对金鱼草组培苗生根的影响。在组培苗长至 5~6 叶片时, 转入未添加激素的 1/2 MS 培养基中, 调查其生根情况, 结果见表 3。由表 3 可知, 当蔗糖浓度为 30 g·L⁻¹ 时, 根系生长快, 生根率高且布满整个瓶底, 但根系纤弱。而当蔗糖浓度为 10 g·L⁻¹ 时, 外植体的生根较缓慢, 根系发生数较少, 不利于植物的生长, 而当蔗糖浓度为 20 g·L⁻¹ 时, 根系生长快, 根系粗壮。

试验还发现, 将互生组培苗转接到不添加激素的生根培养基上, 互生叶序逐渐转变成对生叶序, 由此可见, 外源激素对金鱼草组培快繁苗叶序的转换有一定的作用, 在没有外源激素的情况下, 互生叶序可能转换为原来的对生叶序类型。

3 小结与讨论

试验研究了不同外源激素及水平对金鱼草组培快繁的影响, 结果表明, MS+1 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA 处理较利于不定芽的增殖。在生根试验部分中发现蔗糖浓度对根系生长具有一定作用。试验结果表明当蔗糖浓度为 20 g·L⁻¹ 时, 有利于根系生长。蔗糖是植物组织培养中的能源物质, 不仅为植物提供营养, 还用于保持培养基的渗透压。同时, 蔗糖的浓度还影响着植物的生长速度、生长量及其代谢水平, 是影响植物组织培养成功的关键之一^[7]。试验中出现少量的褐化和玻璃化现象, 这可能由激素配比不适当引起^[1]。

表 3 不同蔗糖浓度下生根情况

Table 3 The roots growth in different concentrations of sucrose

蔗糖浓度/g·L ⁻¹ Concentration of sucrose	培养基 Medium	试验株数 Number of explants	生根率/% Rooting rate	根生长情况 Condition for roots development
30	1/2 MS	20	90	根生长很快, 布满整个瓶底, 根系纤细
20	1/2 MS	20	80	根生长较快, 根系粗壮
10	1/2 MS	20	55	根系生长缓慢, 根系发生数少

叶序发育形成的调控机理十分复杂, 生物物理原理的理论模型认为, 生长素浓度的改变可能导致植物分生组织原套区域部压力的改变, 进而引起了叶序的改变^[8]。试验中利用不同外源激素配比, 在金鱼草生长至第4或第5节位时取其茎尖作为材料, 进行调控, 获得互生苗, 将互生苗转接到不添加激素的生根培养基上, 其叶序逐渐转变为原来的对生叶序类型, 证明外源激素可以对金鱼草叶序进行调控, 并发现生长素 NAA 和细胞分裂素 6-BA 两者都在芽苗叶序类型分化过程中产生作用, 金鱼草叶原基的转换可能是两者共同作用的结果。但外源激素具体如何对其进行调控, 调控原理是什么还需进一步研究。

参考文献:

[1] 黄俊轩, 李双跃, 李建科, 等. 金鱼草高效植株再生体

系的建立[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(20): 6039-6040.

- [2] 李竹英, 钱艳红, 毛绍春. 不同激素对金鱼草茎尖组织培养效果初探[J]. 北方园艺, 2006(3): 130-131.
- [3] 申芳芳, 张万里, 李德志. 植物叶序研究的源流与发展[J]. 东北林业大学学报, 2006, 34(5): 83-86.
- [4] Reinhard D. Phyllotaxis-a new chapter in an old tale about beauty and magic numbers [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2005, 8(5): 487-493.
- [5] Mingo-Castel A M, Gomez-Campo C, Tortosa M E, et al. Hormonal effects on phyllotaxis of *Euphorbia lathyris* L [J]. Journal Plant Research, 1984, 97(2): 171-178.
- [6] 马庆. 细胞分裂素和生长素对玉米叶序分化类型的调控研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2008.
- [7] 王刚, 陈宝刚, 刘东升. 蔗糖在植物组织培养中的效应[J]. 林业勘察设计, 2007(1): 53-55.
- [8] 徐全乐, 胡鑫. 植物叶序的发生和影响因素[J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(4): 405-412.