文章编号:1003-6180(2019)02-0036-03

槭叶茑萝的离体培养与开花诱导

于凤超[1],张晓军[1*],张佳奇[1],王　宁[1],马天宇[1],许秋燕[2],付晨霞[1]
(1.牡丹江师范学院 生命科学与技术学院,黑龙江 牡丹江 157011;2.桦川一中,黑龙江 桦川 154300)

摘　要:诱导槭叶茑萝组培苗开花,探讨不同离子浓度及蔗糖浓度对槭叶茑萝离体开花培养的影响,为进一步探讨外界条件对试管苗开花的调控提供理论参考和简便的实验体系.结果表明,1/2 MS + KT 2.0 mg·L^{-1} + IBA 0.2 mg·L^{-1} + 40 g·L^{-1}培养基最适合槭叶茑萝管苗离体开花诱导;培养 60 d 左右,槭叶茑萝试管苗形成花芽并在试管内开花,花芽诱导率可达 100 %,开花率可达 60 %以上.

关键词:槭叶茑萝;组织培养;开花诱导

[中图分类号]Q944.1　[文献标志码]A

Induction of In vitro Flowering of *Quamoclit sloteri House*

YU Feng-chao[1],ZHANG Xiao-jun[1*], ZHANG Jia-qi[1],
WANG Ning[1],MATian-yu,XU Qiu-yan[2], FU Cheng-xi[1]
(1.Mudanjiang Nomal University Life Science and Technology College, Mudanjiang 157011,China;
2. Huachuan No.1 High School, Huachuan 154300,China)

Abstract:Stem segments with single side bud of sterile plantlets from *Quamoclit sloteri Housewere* cultured and induced for flowering in vitro on base MS medium. The results showed that different ion concentrations and sucrose concentrations of medium can affect induction of flowering in vitro of test-tube Plantlet from *Quamoclit sloteri House*,and 1/2 MS+KT 2.0 mg·L^{-1}+ IBA 0.2 mg·L^{-1}+ 40 g·L^{-1}sucrose was the most suitable for induction of flowering in vitro of test－tube plantlets from Quamoclit sloteri House. test－tube plantlets form flower buds and bloom During about 60 days of culture,induction rate of flower bud reach 100%and flowering rate is 60%.

Key words:*quamoclit sloteri house*;tissue culture;induction of flowering

成花诱导是高等植物成花过程中的最关键步骤,是一个非常复杂的生理过程,受植物内部条件和外部环境因子的影响.研究环境因子在成花诱导中的作用及其机理,对于植物生长发育研究有着十分重要的意义.试管开花植株形体小,但花的形状和颜色不变,具有一定的观赏价值,可作为微

收稿日期:2018-10-15
基金项目:国家自然科学基金资助项目(31700587);国家重点实验室开放项目(K2017201);国家级大学生创新创业训练计划项目(201810233017);牡丹江师范学院省级重点创新预研项目(SY201229)
作者简介:于凤超(1993-),女,黑龙江木兰人.硕士研究生,主要从事植物生物技术研究;张晓军(1967-),男,黑龙江通河人.教授,硕士,硕士生导师,主要从事植物生物技术研究.
通讯作者:张晓军

型盆景应用于花卉生产.通过组织培养技术研究开花,具有操作简便、易控制、重复性强等优点,不受季节和地域的限制,为研究植物开花的分子生物学机制提供了一个理想的实验系统.开花诱导是通过控制培养条件和培养基组成,研究外部因子对外植体花芽分化的影响,诱导处于营养生长期或生殖生长期的植物开花.组织培养条件下成花一般有 3 种方式:外植体直接分化形成花芽;外植体形成愈伤组织后,再由愈伤组织直接分化形成花芽;外植体再生营养枝(苗)后,再生枝在试管内再形成花芽.

槭叶茑萝(*Quamoclit sloteri House*)别名葵叶茑萝,旋花科,茑萝属,是羽叶茑萝和圆叶茑萝的杂交种,为一年生蔓性草本植物.旋花科植物对光周期敏感,是研究开花机制的绝好材料.本研究在试管内诱导槭叶茑萝组培苗开花,研究不同离子浓度及蔗糖浓度对槭叶茑萝离体开花培养的影响,以期提高其开花比率,为进一步探讨外界条件对试管苗开花的调控提供理论参考和简便的实验体系.

1 材料与方法

供试材料为槭叶茑萝种子,由牡丹江师范学院生命科学院提供.

1.1 无菌外植体材料的获得

选取成熟饱满的槭叶茑萝种子流水冲洗 30 min.在超净工作台上用 70 %的酒精浸泡 30 s,无菌水冲洗 1 次.放入 0.2 %的升汞溶液中并加入几滴吐温(Tween20),震荡灭菌 10 min,无菌水冲洗 5 次,用无菌滤纸将材料表面水分吸干.接种到不添加任何激素的 1/2MS 培养基上.待种子萌发并长出小苗后,取无菌苗的侧芽作为外植体材料进行开花诱导培养.

1.2 离体开花诱导

将槭叶茑萝无菌苗切成 0.8 cm 左右带有叶柄的单节茎段,分别接种到以下培养基中:

(1)MS+KT 2.0 mg·L^{-1}(单位下同)+IBA 0.2+30 g·L^{-1}蔗糖;

(2)MS+KT 2.0+IBA 0.2+40 g·L^{-1}蔗糖;

(3)1/2MS+KT 2.0+IBA 0.2+30 g·L^{-1}蔗糖;

(4)1/2MS+KT 2.0+IBA 0.2+40 g·L^{-1}蔗糖;

(5)1/4MS+IBA 0.2+KT 2.0+30 g·L^{-1}蔗糖;

(6)1/4MS+KT2.0+IBA 0.2+40 g·L^{-1}蔗糖.

培养基均添加 6 g·L^{-1}琼脂,pH 5.8.培养温度为(25±1) ℃,光照时间为 12 h·d^{-1},光照强度为 27~36 μmol·m^{-2}·s^{-1}.每个处理接种 20 瓶,每瓶一个外植体.

2 实验结果

2.1 离体开花诱导过程中槭叶茑萝试管苗的形态建成

将无菌外植体分别接种到(1)-(6)号培养基中,进行花芽诱导,光下培养.培养 5 d 后,外植体明显膨大,两端切口处形成浅绿色愈伤组织;培养 10 d 后,外植体叶腋处的愈伤组织形成小突起,分化形成浅绿色芽点;培养 25 d 左右,试管苗可长出 3~4 片叶,高约 3~4 cm;培养 35 d 左右,均可从小苗的叶腋处诱导出花芽,越靠近小苗顶端的叶腋处,诱导花芽的频率越高(图 1);培养 45 d 左右,形成肉眼可见的花蕾;培养 60 d 左右,可见试管苗开花,花形及色泽均正常,与原品种无明显差异,花冠直径 2~2.5 cm,具有正常的雄蕊和雌蕊(图 2),开花期 7~8 d(体外正常开花期 1~2 d).诱导成花的途径有两条:一是外植体叶腋处绿色小突起直接诱导分化形成花芽;二是外植体叶腋处绿色小突诱导形成再生营养枝,再由枝营养枝的腋芽被诱导形成花芽.

图 1 *Quamoclit sloteri* 试管苗诱导出的花芽

图 2　槭叶茑萝试管内开花

2.2　不同的离子浓度及蔗糖浓度对槭叶茑萝离体开花诱导的影响

表 1 列出了不同离子浓度及蔗糖浓度对槭叶茑萝试管苗开花的影响.从表 1 可以看出,在蔗糖浓度相同的情况下,1/2 MS 基本培养基优于 MS 和 1/4MS 培养基.加入 KT 2.0 ,IBA 0.2 和 40 g·L^{-1}蔗糖,对槭叶茑萝离体开花有明显的促进作用,开花量及植株生长情况均较理想.适当降低离子浓度有利于试管苗的离体开花诱导,但是过度降低培养基中离子浓度,会出现整株矮小,变黄等现象,这可能是营养元素过度缺乏造成的.所以,本实验采用 1/2MS 培养基为槭叶茑萝离体开花的基本培养基.

表 1　不同离子浓度及蔗糖浓度对槭叶茑萝试管苗开花的影响

培养基配方(激素浓度 mg·L^{-1})	接种的外植体/个	形成花芽外植体数/个	花芽诱导率/%	开花外植体数/个	开花率/%	至第一朵开花时间/d	生长情况
MS0(对照)	20	0	0	0	0	0	
MS+KT2.0+IBA0.2+30 g·L^{-1}蔗糖	20	15	75	5	25	61	花小、叶绿且小
1/2MS+KT2.0+IBA0.2+30 g·L^{-1}蔗糖	20	18	90	10	50	60	花大、叶绿且大
1/4MS+KT2.0+IBA0.2+30 g·L^{-1}蔗糖	20	12	60	4	20	69	花小、叶黄且小
MS+KT2.0+IBA0.2+40 g·L^{-1}蔗糖	20	16	80	4	20	61	花小、叶绿且大
1/2MS+KT2.0+IBA0.2+40 g·L^{-1}蔗糖	20	20	100	13	65	52	花大、叶绿且大
1/4MS+KT2.0+IBA0.2+40 g·L^{-1}蔗糖	20	13	65	3	15	65	花大、叶黄且小

开花诱导可能依赖于植物本身碳水化合物的高水平积累,碳的提高一般通过增加培养基中蔗糖的浓度来实现,在一定范围内,培养基的糖浓度越高,开花率越高.[6]但含糖量过高也会抑制植物开花,可能是因为糖含量过高引起培养基的渗透压过高,而抑制了植物开花.通过对表 1 的观察发现,蔗糖浓度在 40 g·L^{-1}时,其各项指标都远远优越于蔗糖浓度 30 g·L^{-1}. 这表明适当提高蔗糖的浓度,有利于提高花芽的诱导率及开花.

3　结论

试管苗开花的诱导与植物的生长习性、温度、光周期、碳氮营养的水平以及内源和外源植物激素的水平有关,目前尚缺乏系统的研究.本文在离体快繁的基础上,研究试管内诱导槭叶茑萝组培苗开花现象,为进一步探讨外界条件对试管苗开花的影响提供了一个简便的实验体系.槭叶茑萝从起始培养到试管开花,仅需 60 d 左右,花期可长达 7~8 d,且操作程序简单方便.试管花具有独特的观赏价值,因此,槭叶茑萝试管花具有一定的商业开发价值.诱导槭叶茑萝花芽分化及开花的最适培养基为 1/2MS+KT 2.0+IBA 0.2 +40 g·L^{-1}蔗糖.花芽诱导率 100%,开花率 65%.

参考文献

[1] 刘义存,周俊辉,白志川.试管开花的研究评述[J].西南园艺,2006,34(5):20-22.
[2] 张晓军.槭叶茑萝的离体培养与植株再生[J].植物生理学通讯,2007,43(1):119.
[3] 张晓军.金娃娃萱草的离体培养及植株再生[J].牡丹江师范学院学报:自然科学版,2017(1):49-51.

编辑:琳莉