

矮生龙船花的组织培养和快速繁殖

曾宋君 郭少聪 彭晓明 张京丽 赵逢畔

(中国科学院华南植物园, 广州 510520)

摘要 矮生龙船花(*Ixora coccinea* L.)的带节茎段在 MS+2, 4-D 2.0 mg/L 培养基上产生大量的愈伤组织;在 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基上芽的增殖系数达 4.13, 并产生少量的愈伤组织;在 MS+NAA 0.2~2.0 mg/L 培养基上只产生芽而无愈伤组织形成。愈伤组织在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基上产生大量的不定芽, 丛生芽在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基上生长较快并产生较多分枝, 将分枝节下或切成段后在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基上能迅速生长并产生新的分枝。试管内小苗在 1/2MS+NAA 0.5 mg/L 培养基上的生根壮苗效果较好。矮生龙船花试管苗成活率为 93.5%。

关键词 龙船花;组织培养;快速繁殖;增殖系数

Tissue culture and rapid propagation of *Ixora coccinea* L. Zeng Songjun, Guo Shaocong, Peng Xiaoming, Zhang Jingli, Zhao Fengban (South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510520), *J. Plant Resour. & Environ.* 1999, 8(4): 37~41

Tissue culture and rapid propagation of the stem segment with node from *Ixora coccinea* L. were studied. The results showed that a lot of callus could be induced in medium MS with 2.0 mg/L 2, 4-D; 4.13 increased times of shoots and a little callus could be induced in medium MS with 1.0 mg/L 6-BA and 0.2 mg/L NAA; only shoots but no callus could be induced in medium MS with 0.2~2.0 mg/L NAA. A lot of cluster shoots could be induced in medium MS with 0.5 mg/L 6-BA and 0.5 mg/L NAA from callus subculture, they grew and branched fastly and those branches or their sections could produce new branches again. The best effect was appeared when the shoots were rooted in medium 1/2 MS with 0.5 mg/L NAA. The survival rate of the test-tube plantlets was 93.5% in the transplanting.

Key words *Ixora coccinea* L.; tissue culture; rapid propagation; propagation coefficient

龙船花属(*Ixora* L.)植物为茜草科常绿小灌木,全球约有 400 多种,主产热带亚洲和非洲,少数产于美洲,全年可开花。我国有 11 种,主要分布于华南地区,其中龙船花(*Ixora chinensis* Lam.)是重要的庭院花卉,但植株较高,约 1 m,株型不紧凑,华南植物园近年从泰国引种的矮生龙船花(*Ixora coccinea* L.),株高约 0.5 m,株型紧凑,花色有白、黄、深红、紫红等多种,常用作花坛中心植物,是庭院绿化的上品,盆栽置于厅堂也十分壮观^[1]。由于矮生龙船

• 广东省高新技术成果转化项目资助(97FF05)

曾宋君:男,1965年1月生,硕士,助理研究员,主要从事观赏与药用植物的组织培养与开发利用工作。

收稿日期:1999-07-12

花具有重要观赏价值,近年来得到了越来越广泛的应用。矮生龙船花在我国开花后极少结实,种子发芽率很低,主要靠扦插繁殖,繁殖系数低,无法满足市场需要。本文以矮生龙船花茎切段为材料进行组织培养和快速繁殖,获得了大量试管苗,为满足市场需求提供了一条有效途径。

1 材料与方 法

1.1 材 料

外植体材料为华南植物园从泰国引种栽培成功的矮生龙船花的当年生或二年生茎段。

1.2 培养基配方

以 MS 为基本培养基,附加蔗糖 30 mg/L,培养基用 0.8% 琼脂固化, pH 5.4~5.6。

1.3 培养条件

温度:25+2℃;光照:12 h/d,光照强度:1 500~2 000 lx。

1.4 培养过程

取当年生或二年生茎剪去叶片,用自来水冲洗 30 min 后切成 1 cm 左右的切段,每个切段带 1 个节,先用 75% 的酒精浸泡 5 s,再用 0.1% 的升汞消毒 10 min,无菌水冲洗 5~6 次后再放入 0.1% 的升汞溶液中消毒 5 min,无菌水冲洗 8~10 次后在无菌条件下接种到附加各种激素(2,4-D、6-BA 和 NAA 及其不同组合)的 MS^[2]培养基上诱导愈伤组织或丛生芽。然后将愈伤组织或丛生芽进行继代培养与生根培养,继代培养的培养基同上,生根培养以 MS 或 1/2 MS 为基本培养基并附加 NAA、IBA 及其不同组合的激素。

初代培养每种培养基用于统计的样品为随机抽取 15 瓶,每瓶中只接 1 个外植体,继代培养与生根培养统计瓶数为 20 瓶,每瓶中接 1 个丛生芽或 1 团愈伤组织。增殖系数定义为 1 个外植体、1 个继代芽或 1 团愈伤组织所产生新芽的个数。

2 结果与分析

2.1 不同激素及其浓度对外植体培养的影响

将矮生龙船花带节茎切段接种到不同浓度的 2,4-D、6-BA、NAA 及其 6-BA 和 NAA 组合的 MS 培养基上,培养 10 d 左右在多数培养基上外植体节上有侧芽萌动,培养 25 d 左右在一些培养基上茎两端切口处有愈伤组织形成,培养 40 d 左右大多数培养基上有芽生成,50 d 时统计产生的芽的数量和愈伤组织形成情况,结果见表 1。

从表 1 可以看出,在不含任何激素的 MS 培养基上,只产生芽,无愈伤组织形成。当培养基中含有 0.5 mg/L 的 2,4-D 时,约 1/3 的外植体茎两端切口处有少量愈伤组织形成,部分外植体节上产生 1 个芽,当 2,4-D 浓度为 2.0 mg/L 时,大多数外植体 15 d 左右就产生愈伤组织,且产生的数量多、速度快,但没有芽生成。6-BA 有利于芽的形成,在 0.2~1.0 mg/L 范围内,浓度越高,产生的芽越多,当其浓度达 2.0 mg/L 时,芽生成的数量减少,但约有 2/3 的外植体茎切段两端产生较多的愈伤组织。NAA 能促进生芽,但无愈伤组织形成。6-BA 和 NAA 配合使用能促进芽和愈伤组织的形成,在 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA 培养基上,

芽的增殖系数可达 4.13, 有少量外植体形成愈伤组织。

表 1 不同激素及其浓度对矮生龙船花外植体培养的影响¹⁾

Tab 1 Effect of different hormone concentrations on the culture of explants of *Ixora coccinea* L.¹⁾

激素及组合 Hormone and combination (mg/L)	接种外植体数 No. of explant	产生芽的个数 No. of shoot	芽的增殖系数 Propagation coefficient of shoot ($\bar{X} \pm SD$)	形成愈伤组织的百分数 Percentage of callus induction
无激素 No hormone	15	15	1.00 ± 0.535	0
2, 4-D 0.5	15	10	0.67 ± 0.488	33
2, 4-D 1.0	15	5	0.33 ± 0.480	40
2, 4-D 2.0	15	0	0.00 ± 0.000	87
6-BA 0.2	15	25	1.67 ± 0.617	0
6-BA 0.5	15	32	2.13 ± 0.352	0
6-BA 1.0	15	40	2.67 ± 0.488	20
6-BA 2.0	15	30	2.00 ± 0.534	67
NAA 0.2	15	18	1.20 ± 0.414	0
NAA 0.5	15	22	1.47 ± 0.516	0
NAA 1.0	15	35	2.33 ± 0.617	0
NAA 2.0	15	33	2.20 ± 0.561	0
6-BA 0.2 + NAA 0.5	15	32	2.13 ± 0.640	0
6-BA 0.5 + NAA 0.5	15	40	2.67 ± 0.488	13
6-BA 1.0 + NAA 0.2	15	62	4.13 ± 0.352	27
6-BA 2.0 + NAA 0.2	15	45	3.00 ± 0.378	73

¹⁾基本培养基为 MS Basic medium is MS

2.2 愈伤组织和芽的继代培养

2.2.1 愈伤组织的继代培养 将初代培养所得的愈伤组织切成 0.4 cm 左右的方块, 接种到含有不同激素及其不同浓度组合的 MS 继代培养基中, 每种培养基接种 20 瓶, 45 d 观测实验结果(见表 2)。

从表 2 可以看出, 在不含任何激素的 MS 培养基上, 只产生芽, 无新愈伤组织形成。当培养基中只含有激素 2, 4-D 时, 很少有芽形成, 但形成愈伤组织较多, 当 2, 4-D 的浓度为 1.0 mg/L 时, 产生愈伤组织的百分数可达 80%, 其体积在 30 d 左右可增加 1 倍; 当其浓度为 2.0 mg/L 时, 有部分新生成的愈伤组织死亡, 能顺利产生新愈伤组织的材料仅占 50%, 愈伤组织繁殖的速度也较慢。6-BA 有利于愈伤组织形成不定芽, 当 6-BA 浓度为 0.5 mg/L 时, 不定芽的增殖系数可达 6.2, 并有少量新的愈伤组织形成。培养基中只有

表 2 不同激素及其浓度对矮生龙船花愈伤组织继代培养的影响¹⁾

Tab 2 Effect of different hormone concentration on callus subculture of *Ixora coccinea* L.¹⁾

激素及组合 Hormone and combination (mg/L)	新形成愈伤 组织百分数 Percentage of producing callus	芽的增殖系数 Propagation coefficient of shoot ($\bar{X} \pm SD$)
无激素 No hormone	0	2.50 ± 0.513
2, 4-D 0.5	30	1.20 ± 0.410
2, 4-D 1.0	80	0.00 ± 0.000
2, 4-D 2.0	50	0.00 ± 0.000
6-BA 0.2	10	3.40 ± 0.501
6-BA 0.5	20	6.20 ± 1.520
6-BA 1.0	50	4.80 ± 0.410
NAA 0.2	0	3.50 ± 0.513
NAA 0.5	0	4.50 ± 0.513
NAA 1.0	5	4.60 ± 0.598
6-BA 0.2 + NAA 0.5	0	6.30 ± 0.571
6-BA 0.5 + NAA 0.5	15	7.90 ± 0.448
6-BA 1.0 + NAA 0.2	35	5.60 ± 0.501

¹⁾基本培养基为 MS Basic medium is MS

NAA时,极少有新愈伤组织形成,形成芽的数量也较少。6-BA和NAA配合使用,能明显地促进不定芽形成,但形成愈伤组织材料的百分数减少,在MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L时,芽的增殖系数可达7.9,有少量新的愈伤组织形成。

2.2.2 不定芽的继代增殖 将初代培养所得的不定芽切割成单芽接种到含有各种激素及其不同浓度组合的MS培养基上,每种培养基接种20瓶,45 d观测实验结果(见表3)。

从表3可以看出,只有MS无任何激素时,能产生少量芽但无愈伤组织形成。当MS中只加6-BA时,芽的增殖系数较大,6-BA浓度为0.5 mg/L时,芽的增殖系数可达4.8,浓度1.0 mg/L时,芽的增殖系数减少,但形成愈伤组织的数量增多。MS中只含NAA时,产生少量新芽,无愈伤组织形成。6-BA与NAA配合使用,能增加芽的增殖系数,但形成愈伤组织的百分数略有减少,在MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L培养基上,芽的增殖系数可达7.7,但仅有少量愈伤组织形成。将芽切成多段接种到此种培养基上再继续代培养,能产生相似倍数的不定芽,少量材料下端切口处仍有少量愈伤组织形成。

2.3 生根诱导培养

对由愈伤组织及丛生芽继代培养所得到的无根小苗进行生根培养,由于愈伤组织产生的丛生芽较纤细,其生根时间较长,在MS或1/2 MS培养基上大多需要20 d左右才有根生成,而由丛生芽而来的不定芽接种到MS或1/2 MS并附加激素NAA、IBA及其组合的培养基中,在大多数培养基上,不定芽10 d左右即可生根,30 d的实验结果见表4。

由表4可知,1/2 MS培养基的生根效果明显比MS好,除NAA和IBA的浓度为0.2 mg/L时生根效果稍差外,其余培养基的生根效果均较好。NAA的生根效果略好于IBA,浓度以0.5 mg/L最佳,在NAA最佳浓度时补充IBA并不能明显增加生根效果,但对壮苗有一定的促进作用。

表3 不同激素及其浓度对矮生龙船花不定芽继代培养的影响¹⁾

Tab 3 Effect of different hormone concentration on chuster shoots subculture of *Ixora coccinea* L.¹⁾

激素或组合 Hormone or combination (mg/L)	形成愈伤组织百分数 Percentage of producing callus (%)	不定芽增殖系数 Propagation coefficient of shoot ($\bar{X} \pm SD$)
无激素 No hormone	0	1.40 ± 0.681
6-BA 0.2	0	2.50 ± 0.688
6-BA 0.5	20	4.80 ± 0.696
6-BA 1.0	30	3.50 ± 0.513
NAA 0.2	0	2.10 ± 0.308
NAA 0.5	0	2.70 ± 0.657
NAA 1.0	0	3.40 ± 0.516
6-BA 0.2+NAA 0.5	0	5.60 ± 0.681
6-BA 0.5+NAA 0.5	10	7.70 ± 0.308
6-BA 1.0+NAA 0.2	25	5.40 ± 0.503

¹⁾基本培养基为MS Basic medium is MS

表4 不同培养基及其激素浓度对矮生龙船花根诱导的影响¹⁾

Tab 4 Effect of different media and hormone concentration on root induction of *Ixora coccinea* L.¹⁾

激素或组合 Hormone or combination (mg/L)	1/2 MS培养基 上的根数 No. of roots in 1/2 MS ($\bar{X} \pm SD$)	MS培养基 上的根数 No. of roots in MS ($\bar{X} \pm SD$)
无激素 No hormone	2.30 ± 0.470	1.20 ± 0.410
NAA 0.2	3.50 ± 0.513	3.40 ± 0.513
NAA 0.5	6.80 ± 0.410	4.60 ± 0.598
NAA 1.0	5.60 ± 0.503	3.50 ± 0.607
IBA 0.2	3.40 ± 0.598	3.40 ± 0.503
IBA 0.5	5.60 ± 0.503	4.50 ± 0.761
IBA 1.0	4.50 ± 0.761	3.50 ± 0.513
NAA 0.2+IBA 0.2	4.50 ± 0.513	3.80 ± 0.768
NAA 0.5+IBA 0.2	5.70 ± 0.733	4.50 ± 0.513
NAA 0.5+IBA 0.5	6.70 ± 0.801	5.60 ± 0.599

¹⁾基本培养基为MS Basic medium is MS

2.4 试管苗移栽

当生根试管苗长到 3~4 cm 高时,在室温下再培养 1 周,打开瓶塞炼苗 2~3 d,从瓶中取出试管苗,洗去根部的培养基,移入珍珠岩:河沙=3:1(V/V)的基质中,保持足够的湿度,成活率较高,在所移栽的 200 株试管苗中,有 187 株成活,成活率达 93.5%。

3 讨 论

对国外一些优良花卉品种进行引种驯化并推广应用一直是植物园的主要任务之一,传统的繁殖方法多是用种子或利用其他营养繁殖方法进行繁殖,繁殖速度慢,周期长。组织培养技术需要的材料少,繁殖速度快,已普遍应用^[3]。但对于木本植物,这方面的工作还不多。矮生龙船花组织培养与快速繁殖的成功,对其他木本植物的组织培养有一定的参考价值。

多年生木本植物的组织培养难度较大,特别是试管苗生根困难^[4],矮生龙船花组织培养不但繁殖速度快,而且生根极其容易,这说明只要培养基选择适当,一些木本植物也能像草本植物一样进行组织培养并大规模生产。

在植物的组织培养中,从外植体产生愈伤组织,再由愈伤组织产生不定芽后生根壮苗产生突变的可能性较大^[5],这也是突变体筛选培育新品种的有效方法。但在以繁殖优良矮生龙船花为目的时,不经过愈伤组织阶段而由外植体直接出芽并进行试管内扦插能较好地防止突变^[6]。矮生龙船花的试管苗扦插可采用如下程序:初代培养以 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基诱导不定芽,不定芽在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基上获得大量丛生芽,丛生芽切割成单芽后在 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L 培养基上诱导生根获得完整的试管苗。另外,各培养过程中产生的愈伤组织也可用继代培养,至于其突变情况有待进一步观察。

参 考 文 献

- 1 陈俊愉,程绪珂主编. 中国花经. 上海:上海文化出版社,1990. 524~525.
- 2 Murashige T, Shooq F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant*, 1962, 15: 473~497.
- 3 曾宋君,张京丽,赵逢畔,等. 绿巨人白鹤芋的组织培养和快速繁殖. *植物生理学通讯*, 1997, 33(4):274~275.
- 4 陈正华主编. 木本植物组织培养及其应用. 北京:高等教育出版社,1986. 24~74.
- 5 曹孜义,刘国民主编. 实用植物组织培养技术教程. 兰州:甘肃科学技术出版社,1993. 60.
- 6 罗士韦,许智宏主编. 经济植物组织培养. 北京:科学出版社,1988. 10~28.

(责任编辑:惠 红)