

龙凤竹的组织培养

顾福根, 孙丙耀, 陈瑞卿

(苏州大学生命科学学院, 江苏 苏州 215123)

摘要: 以龙凤竹 [*Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. var. *nanus* Dressler] 茎段为外植体, 研究了龙凤竹愈伤组织诱导、植株再生以及试管苗继代保存培养的培养条件。结果表明, 龙凤竹茎段灭菌的最佳方法是用 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{HgCl}_2$ 处理 4~10 min; 愈伤组织诱导与分化的最佳培养基为添加 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 和 $0.10 \sim 0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的 MS 培养基(含有 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉, pH 5.78~pH 5.80); 试管苗生根的最佳培养基为含有 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的生根培养基(1/2 MS, 含有 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉, pH 5.78~pH 5.80), 试管苗生根率可以达到 93.3%; 经过炼苗并移栽后, 龙凤竹试管苗的成活率可达 95.0% 以上; 龙凤竹试管苗的最佳继代保存培养条件为: 在含有 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的生根培养基中, 于温度 $15 \text{ }^\circ\text{C}$ 、光照强度 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的条件下继代保存。此外, 龙凤竹愈伤组织可以直接分化产生大量丛生芽, 达到龙凤竹试管苗增殖的目的。

关键词: 龙凤竹; 组织培养; 愈伤组织

中图分类号: S682.304⁺3; Q943.1 文献标志码: A 文章编号: 1004-0978(2008)03-0073-05

Tissue culture of *Pedilanthus tithymaloides* var. *nanus* GU Fu-gen, SUN Bing-yao, CHEN Rui-qing (School of Life Sciences, Suzhou University, Suzhou 215123, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2008, 17(3): 73-77

Abstract: The culture conditions of callus induction, plantlet regeneration and subculture were studied using stems of *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. var. *nanus* Dressler as explants. The results show that the optimal sterilization method of stem segments of *P. tithymaloides* var. *nanus* is soaking in $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{HgCl}_2$ solution for 4-10 min. The optimal medium of callus induction is MS medium containing $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA, $0.10 \sim 0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose and $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agar powder (pH 5.78-pH 5.80). The optimal rooting medium with rooting rate of 93.3% is the rooting medium (1/2 MS, containing $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose and $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agar powder, pH 5.78-pH 5.80) containing $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, and the survival rate of *P. tithymaloides* var. *nanus* plantlets reach above 95.0% after hardened and transplanted. The optimal subculture medium of *P. tithymaloides* var. *nanus* plantlets is the rooting medium containing $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, and the optimal temperature and light intensity in subculture process is $15 \text{ }^\circ\text{C}$ and $20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, respectively. Moreover, the callus of *P. tithymaloides* var. *nanus* can directly differentiate and form a large amount of rosette buds, so the multiplication goal of *P. tithymaloides* var. *nanus* plantlets can be achieved.

Key words: *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. var. *nanus* Dressler; tissue culture; callus

龙凤竹 [*Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. var. *nanus* Dressler] 又名蜈蚣珊瑚、对叶红雀珊瑚, 为大戟科 (Euphorbiaceae) 红雀珊瑚属 (*Pedilanthus* Neck. ex Poit.) 红雀珊瑚 [*P. tithymaloides* (L.) Poit.] 的变种之一, 是近年从国外引进的一种常绿草本植物, 植株小巧玲珑、通体绿色、茎肉质、叶排成两列、株型极为美观, 观赏价值较高, 具有良好的市场前景^[1], 但由于龙凤竹种苗资源有限, 常规的扦插

繁殖方法又受到繁殖材料及场地的限制, 繁殖速度较慢, 很难进行大批量生产。目前, 对红雀珊瑚、密叶红雀珊瑚 [*P. tithymaloides* subsp. *retusus* (Benth.) Dressler]、斑叶红雀珊瑚 [*P. tithymaloides*

收稿日期: 2007-12-21

基金项目: 苏州市农业科技发展计划攻关项目 (SNZ-0305)

作者简介: 顾福根(1964—), 男, 江苏苏州人, 本科, 讲师, 主要从事植物学教学与研究工作。

‘Variegatus’)及银边红雀珊瑚(*P. tithymaloides* var. *cuculatus* Hort.)的组织培养已获得成功^[2-5],而关于龙凤竹的组织培养则未见报道。为此,作者以龙凤竹茎段为外植体,通过愈伤组织的诱导及不定芽的分化培养出龙凤竹试管苗,进而摸索出适宜龙凤竹组织培养和快速繁殖的方法,以期为龙凤竹组织培养技术的优化以及苗木生产提供参考资料。

1 材料和方法

1.1 材料

实验用材料为盆栽的龙凤竹,购于苏州花木市场,取当年生枝条的茎段为外植体进行实验。

1.2 方法

1.2.1 外植体灭菌时间的比较 将龙凤竹茎段切成约5 cm的小段,用稀释500倍的洗洁精清洗5 min,流水冲洗1 h。将茎段分成5组,每组6个茎段,用 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ HgCl_2 溶液分别灭菌2、4、6、8和10 min^[6];用无菌水洗涤4~5次后,将茎段切成约0.5 cm的小茎段,接种在添加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA及 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA_3 的MS培养基上,培养基中含有 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉,pH 5.78~pH 5.80。在温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、光照强度 $25 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 的条件下培养。每瓶1个外植体,每处理60瓶,20 d后统计污染情况。

1.2.2 愈伤组织诱导与不定芽分化培养基的筛选 以MS为基本培养基(含 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉,pH 5.78~pH 5.80),分别添加0.5、1.0、1.5和 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA以及0.05、0.10、0.15和 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA^[8-9],配制成16种培养基,将经上述初代培养的无污染外植体切成 $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ 的小块后,接种在这16种培养基上,置于温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、光照强度 $25 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 的条件下培养。每瓶1个小块,每处理18瓶,观察愈伤组织的诱导与分化进程,60 d后观察和统计愈伤组织的诱导数量及高度在1 cm以上的不定芽的分化数量。

1.2.3 腋芽诱导培养基的筛选 待不定芽长至高约1 cm时从愈伤组织上切下不定芽,分别接种在添加0.5、1.0和 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA以及0.00、0.05、0.10和 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA的12种MS基本培养基

(含 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉,pH 5.78~pH 5.80)上^[10-11],于温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 、光照强度 $25 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的条件下培养。每瓶7个不定芽,每处理10瓶,30 d后观察丛生芽的诱导结果。

1.2.4 试管苗生根培养基的筛选 待丛生芽生长至高约2 cm时,切成单株后转接到分别添加0.1、0.2、0.3和 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA的1/2 MS培养基(含有 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉,pH 5.78~pH 5.80)上,于温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、光照强度 $25 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 的条件下培养。每瓶3株,每处理10瓶。观察试管苗根的生长情况,并于28 d后统计生根数、根长和生根率等。

1.2.5 试管苗的移栽方法 试管苗根长约0.5 cm时,在培养室内打开瓶盖炼苗,2 d后取出试管苗;用清水洗去根部培养基,移栽到由等体积草炭、珍珠岩和菜园土配制的混合基质中,并用50%多菌灵可湿性粉剂1000倍稀释液喷雾;将花盆移入双层塑料大棚内,移栽后第1周内每天给内棚通风1次,并使棚内的温度保持在 $20^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$ 、空气相对湿度在60%~80%^[12],随后逐日增加内棚的通风次数,3周后撤去内棚并开始给外棚通风,使育苗条件逐渐从人工控制条件过渡到自然环境条件,30 d后统计试管苗的移栽成活率。

1.2.6 试管苗继代保存培养条件的筛选 待丛生芽长至高约2 cm后,分割并转接到含 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA的1/2 MS培养基(含 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉,pH 5.78~pH 5.80)上,分别置于 5°C 、 10°C 和 15°C 光照培养箱中培养,每个培养箱分为上下2层,光照强度分别为10和 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。实验共设6个处理组,每处理10瓶,每瓶3个芽。每月观察1次试管苗的生长情况,12个月后取出。将各处理组的试管苗平均分成两部分,一部分于培养室中继续培养1个月;将另一部分试管苗的茎切成长约0.5 cm的小茎段,接种在添加 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA及 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA的MS培养基(含 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉,pH 5.78~pH 5.80)上进行愈伤组织的诱导,于温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 、光照强度 $25 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 条件下培养。1个月后观察培养结果,以检验保存培养的效果^[13-14]。

2 结果和分析

2.1 不同灭菌时间对龙凤竹外植体污染率的影响

用 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$ 溶液对龙凤竹外植体进行不同时间的灭菌处理, 20 d 后统计外植体的污染率, 结果见表 1。由表 1 可见, 用 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$ 灭菌 2 min, 外植体的污染率为 13.3%, 污染率较高; 而灭菌 4~10 min, 外植体的污染率均较低 (1.7% 以下), 且灭菌 4、6、8 和 10 min, 外植体污染率基本无差别。实验结果表明, 用 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$ 溶液处理 4 min 即可基本将龙凤竹外植体表面的细菌和真菌等杀灭; 从后期愈伤组织的诱导情况来看, 灭菌时间在 4~10 min 以内, 对愈伤组织的诱导无明显影响, 因此用 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$ 溶液对龙凤竹茎段灭菌 4~10 min 均较合适。

表 1 不同灭菌时间 ($1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$) 对龙凤竹外植体污染率的影响

Table 1 Effect of different sterilization times ($1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$) on contamination rate of explants of *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. var. *nanus* Dressler

灭菌时间/min Sterilization time	外植体数 Explant number	外植体污染数 Number of contaminated explant	污染率/% Contamination rate
2	60	8	13.3
4	60	1	1.7
6	60	1	1.7
8	60	0	0.0
10	60	1	1.7

2.2 龙凤竹愈伤组织诱导及不定芽分化的最佳培养基

在培养基中添加不同种类及浓度的激素对愈伤组织的诱导与分化有不同的影响^[15-16]。在添加不同浓度 6-BA 和 NAA 的培养基上培养 14 d 后, 大部分龙凤竹茎段外植体的上端切口处均出现紧实的浅绿色愈伤组织; 培养 40 d 后, 愈伤组织表面可见明显的凹凸现象, 并开始分化出不定芽; 培养 60 d 后, 不同培养基上愈伤组织的诱导率及不定芽的分化数量有一定的差异, 详细的统计结果见表 2。由表 2 可见, 在 6-BA 浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 4 个培养基上, 龙凤竹愈伤组织的平均诱导率为 90.3%; 而在 6-BA 浓度为 1.0、1.5 和 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 12 个培养基上, 愈伤组织诱导率均达到 100.0%, 而且随 6-BA 浓度的逐渐提高, 愈伤组织块逐渐增大、

色泽由深绿色渐变为浅绿色。从不定芽的分化状况看, 在 6-BA 浓度为 0.5、1.0、1.5 和 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上均能分化出不定芽, 但高度在 1 cm 以上的不定芽数有一定的差异, 并随 6-BA 浓度的提高逐渐增加, 其中, 在添加 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 的培养基上不定芽的分化率最高, 但出现了不定芽的玻璃化现象。因此, 在龙凤竹愈伤组织诱导和不定芽分化培养基中添加 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 较为适宜。

表 2 不同激素浓度对龙凤竹愈伤组织诱导与不定芽分化的影响
Table 2 Effect of different concentrations of phytohormones on callus induction and adventitious bud differentiation of *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. var. *nanus* Dressler

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Conc.		愈伤组织诱导率/% Induction rate of callus	不定芽平均数 Average number of adventitious bud
6-BA	NAA		
0.5	0.05	88.9	1.0
0.5	0.10	94.4	4.1
0.5	0.15	88.9	3.3
0.5	0.20	88.9	0.8
1.0	0.05	100.0	18.0
1.0	0.10	100.0	12.1
1.0	0.15	100.0	15.7
1.0	0.20	100.0	14.5
1.5	0.05	100.0	19.2
1.5	0.10	100.0	23.4
1.5	0.15	100.0	20.3
1.5	0.20	100.0	22.8
2.0	0.05	100.0	27.2
2.0	0.10	100.0	24.3
2.0	0.15	100.0	26.0
2.0	0.20	100.0	23.6

由表 2 还可以看出, 在添加 0.05、0.10、0.15 和 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的培养基上, 愈伤组织的平均诱导率分别为 97.2%、98.6%、97.2% 和 97.2%, 差异不明显; 高度在 1 cm 以上的不定芽数分别为 16.4、16.0、16.3 和 15.4, 也几乎无差别。但根据肉眼的观察可以看出: 在添加了 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的培养基上, 龙凤竹愈伤组织色泽黄绿、生长较快, 表面分化出的不定芽较稀疏, 后继分化速度较慢; 在 NAA 浓度为 0.10 和 $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上, 愈伤组织色泽嫩绿、生长有力, 在较老部位分化不定芽的同时, 较嫩部位还能继续进行愈伤组织的正常生长; 在添加 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的培养基上, 愈伤组织色泽深绿、生长速度较慢、后继分化能力较弱。因此, 在龙凤竹愈伤组织诱导和不定芽分化的培养基中添加 $0.10 \sim 0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 较为合适。

综合上述结果后认为, 在龙凤竹愈伤组织诱导

与不定芽分化的 MS 培养基(含有 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉, pH 5.78 ~ pH 5.80)中应添加 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 及 $0.10 \sim 0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA。

2.3 龙凤竹试管苗腋芽诱导的最佳培养基

在添加了不同浓度 6-BA 和 NAA 的 MS 培养基中,龙凤竹不定芽均能增殖并诱导出腋芽,实验结果见表 3。由表 3 可见,在添加了 0.5 、 1.0 和 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 的培养基上,龙凤竹的平均增殖系数分别为 2.4 、 4.0 和 5.2 ,腋芽的平均高度均达到 1.0 cm ,表明随 6-BA 浓度的提高,龙凤竹腋芽的增殖系数逐渐增大,但腋芽的平均高度无差异。

表 3 不同激素浓度对龙凤竹试管苗腋芽增殖系数和生长的影响
Table 3 Effect of different concentrations of phytohormones on multiplication coefficient and growth of axillary bud of *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. var. *nanus* Dressler

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Conc.		增殖系数 Multiplication coefficient	腋芽平均高度/ cm Average height of axillary bud
6-BA	NAA		
0.5	0.00	2.5	0.8
0.5	0.05	2.5	0.8
0.5	0.10	2.4	1.1
0.5	0.20	2.1	1.2
1.0	0.00	4.0	0.6
1.0	0.05	3.6	0.8
1.0	0.10	4.1	1.1
1.0	0.20	4.2	1.3
1.5	0.00	6.0	0.5
1.5	0.05	5.3	0.9
1.5	0.10	4.5	1.3
1.5	0.20	4.9	1.3

由表 3 还可以看出,在添加了 0.00 、 0.05 、 0.10 和 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的培养基上,龙凤竹的平均增殖系数分别为 4.2 、 3.8 、 3.7 和 3.7 ,腋芽的平均高度分别为 0.6 、 0.8 、 1.2 和 1.3 cm 。可见不含 NAA 的处理组增殖系数较高,而其他处理组的增殖系数几乎无差异,腋芽平均高度也随 NAA 浓度的提高逐渐增高。因此,若以诱导龙凤竹腋芽的方式进行增殖,可以在 MS 培养基中加入 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA;考虑到切割操作的方便,可在培养基中加入 $0.1 \sim 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA,以增加腋芽高度。由于采用腋芽诱导的方法增殖系数很小,最高增殖系数仅有 6.0 ,与通过诱导愈伤组织分化出不定芽的方式差距较大,因此,在龙凤竹的快速繁殖过程中,依靠腋芽进行增殖不是最佳的繁殖方法。

2.4 龙凤竹试管苗生根的最佳培养基

不同浓度 NAA 对龙凤竹试管苗生根的影响见表 4。由表 4 可见,在添加了不同浓度 NAA 的培养基上培养 10 d ,龙凤竹试管苗基部的切口处出现少量愈伤组织; 12 d 后,切口下表面长出许多白色根尖; 15 d 后,试管苗的根可长至 0.5 cm 左右。在含有 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的培养基上龙凤竹试管苗的生根率可以达到 93.3% ,明显高于其他培养基,且龙凤竹试管苗和根的长势等均较好。因此,添加 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的 $1/2$ MS 培养基(含 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉, pH 5.78 ~ pH 5.80)是比较适宜于龙凤竹试管苗生根的培养基。

表 4 不同浓度 NAA 对龙凤竹试管苗生根培养的影响

Table 4 Effect of different concentrations of NAA on rooting of *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. var. *nanus* Dressler plantlet

NAA 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Conc. of NAA	平均根长/ cm Average length of root	平均根数 Average number of root	生根率/% Rooting rate	试管苗生长状况 Growing situation of plantlet	根生长状况 Growing situation of root
0.1	3.5	4.0	86.7	一般 Moderate	一般 Moderate
0.2	2.8	5.1	93.3	良好 Good	良好 Good
0.3	2.5	5.0	83.3	一般 Moderate	良好 Good
0.4	2.9	3.9	86.7	良好 Good	一般 Moderate

2.5 龙凤竹试管苗移栽后的生长状况

待龙凤竹试管苗根长至 0.5 cm 后,对龙凤竹试管苗进行炼苗和移栽, 20 d 后,试管苗开始长出新叶,此后,逐步增加光照度和通风次数及通风时间,使试管苗逐步适应自然的温度和湿度环境。统计结果显示, 30 d 后移栽试管苗的成活率达到 95.0% 以上,成活率较高。

2.6 龙凤竹试管苗继代保存培养的最佳条件

在实验设置的 10 和 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 两组光照强度下,龙凤竹试管苗的生长几乎没有差异,但 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光照强度下龙凤竹试管苗的叶色和根的颜色(绿色)较深。因此,在龙凤竹试管苗继代保存培养过程中,光照强度不是主导因素。

在实验中发现,温度是龙凤竹试管苗继代保存

培养过程中的重要因素,对试管苗的生长有显著影响。在5℃条件下,试管苗生长停止,叶全落,并且在后继培养过程中有16.7%的试管苗相继死亡,说明在5℃条件下,试管苗受到较严重损害;在10℃条件下,试管苗生长停止,处于休眠状态,外植体接种培养后恢复生长很慢;在15℃条件下,试管苗能在12个月内保持缓慢的生长状态,叶不脱落,平均生根数3.2条,平均株高为刚接种时的2倍左右,外植体接种培养后能很快诱导出正常的愈伤组织并开始芽的分化。说明龙凤竹试管苗的继代保存培养最适温度应为15℃左右。因此,龙凤竹试管苗最佳继代保存培养方法为:将高约2cm的丛生苗切下并接种于含 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA的1/2 MS基本培养基(含蔗糖 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和琼脂粉 $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 5.78~pH 5.80)上,于光照强度 $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和温度15℃的条件下培养。另外,在保存培养过程中应保持封口紧密,以免培养基干涸。

3 讨 论

在进行龙凤竹外植体的初代培养时,在基本培养基中添加 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA,这个浓度比例是根据作者长期实验研究的经验设置的。GA₃对解除芽和植株休眠、促进芽的提前萌发、提高植株的萌发率等有明显作用^[17]。由于本实验是在11月上旬开始进行的,在自然环境状态下许多植物已进入休眠状态,故在初代培养基中添加 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA₃可以打破植物的休眠状态。实验结果表明,该培养基对龙凤竹外植体的诱导效果好,故在本研究中没有对初代培养基进行优化。然而,在龙凤竹的初代培养基中GA₃是否为必需添加的植物激素、各生长调节物质间的最佳配比如何等问题仍有待进一步的研究。

在龙凤竹组织培养过程中,从1块愈伤组织上能陆续分化出几十株甚至上百株丛生芽,这些丛生芽都可以直接用于生根培养,因此在龙凤竹试管苗的培养过程中不需要通过诱导腋芽产生丛生苗,可以直接通过愈伤组织的分化获得大量丛生苗。龙凤竹愈伤组织的诱导与分化可以同步完成,其分化与生长也可同步进行;但由于营养条件的限制,当丛生苗收获50个左右时,必须将新形成的愈伤组织或分化形成的试管苗分割后继代培养,以使愈伤组织的

诱导与分化可以继续进行,这是龙凤竹组织培养技术体系中较为特殊之处,这一特点有利于龙凤竹试管苗的工厂化生产。

此外,作者曾经参考红雀珊瑚茎尖组织培养体系^[2]设计的组织培养体系不适用于龙凤竹,而不同研究者在进行密叶红雀珊瑚^[3]及斑叶红雀珊瑚^[4]的组织培养时也采用了不同的组织培养体系,表明同一种类的不同变种间尽管亲缘关系很近,但在培养过程中所适用的组织培养体系并不相同。

参考文献:

- [1] 黄少华. 南方名优花卉栽培[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 16.
- [2] 周维燕. 红雀珊瑚茎尖再生植株[J]. 植物生理学通讯, 1986, 22(2): 39.
- [3] 谭文澄, 戴策刚. 密叶红雀珊瑚的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(1): 46.
- [4] 施和平, 何含杰. 斑叶红雀珊瑚叶片组织培养和植株再生[J]. 亚热带植物科学, 2004, 33(4): 64, 68.
- [5] 龙明华, 覃海明. 银边红雀珊瑚快速繁殖研究[J]. 广西科学, 1996, 3(1): 53-55.
- [6] 万志刚, 宋卫平, 顾福根, 等. 良种白沙枇杷“冠玉”的组织培养和快繁技术研究[J]. 苏州大学学报: 自然科学版, 2000, 16(4): 89-92.
- [7] 马林. 一品红愈伤组织的诱导与分化[J]. 西南科技大学学报, 2006, 21(1): 109-112.
- [8] 张伟媚, 邱承黔, 陈善娜. 琴叶榕的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(4): 345.
- [9] 杨银萍, 史益敏, 陶懿伟. 虎耳兰的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(4): 462.
- [10] 赵宏波, 陈发棣, 房伟民. 银叶菊的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(5): 578.
- [11] 孙明, 张启翔. 神农菊花蕾的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(5): 348.
- [12] 万志刚, 马晓梅, 宋卫平, 等. 甲基托布津和多菌灵对枇杷试管苗移栽成活率的影响[J]. 中国南方果树, 2006, 35(1): 29-30.
- [13] 兰芹英, 殷寿华, 何惠英, 等. 蒙自凤仙花的离体保存[J]. 西北植物学报, 2004, 24(1): 146-148.
- [14] 刘月学, 刘小军, 王家福, 等. 低温等因素对枇杷种质离体保存的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2004, 13(1): 28-31.
- [15] 高莉萍, 包满珠. 月季‘萨蔓莎’愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 园艺学报, 2005, 32(3): 534-536.
- [16] 白文苑, 沈慧敏. 苍耳愈伤组织诱导及继代培养研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2006, 41(1): 65-68.
- [17] 张文娟, 成仿云, 于晓南, 等. 赤霉素和生根粉对牡丹促成栽培影响的初步研究[J]. 北京林业大学学报, 2006, 28(1): 84-87.