

陈传红,周亚平,余志坚,等. 金边虎尾兰组织培养的研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(14):34-36.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.14.010

金边虎尾兰组织培养的研究

陈传红,周亚平,余志坚,金卫根

(东华理工大学生物系,江西南昌 330013)

摘要:以金边虎尾兰(*Sansevieria trifasciata* var. *laurentii*)肉质叶片作为外植体材料,进行组织培养研究。结果发现,金边虎尾兰叶龄与叶片部位对愈伤组织的诱导有影响,其中采用一年生叶片中部的组织诱导率最高;诱导叶片愈伤组织最适培养基为 MS+2.0 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+0.7% 琼脂+4% 蔗糖;诱导芽分化最适培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+0.7% 琼脂+4% 蔗糖;诱导试管苗生根最适培养基为 1/2MS+1.0 mg/L NAA+0.7% 琼脂+4% 蔗糖。

关键词:金边虎尾兰;愈伤组织;芽分化;诱导生根

中图分类号:S682.360.4⁺3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)14-0034-02

金边虎尾兰(*Sansevieria trifasciata* var. *laurentii*),别称金边虎皮兰,属龙舌兰科、虎尾兰属植物,原产非洲热带和印度。金边虎尾兰是一种可净化室内空气的观叶草本植物,能清除甲醛、三氯乙烯、硫化氢、苯、苯酚、氟化氢、重金属微粒,还能吸收铀等放射性元素等^[1-3],因此在当今花卉市场中占据着重要的一席,深受人们的喜爱。

传统的虎尾兰繁殖方式为分株繁殖,其繁殖速度不快^[4-5]。目前,对虎尾兰愈伤组织的诱导有少量报道^[6-7],但对虎尾兰“器官发生型”诱导方式获得试管苗的系统研究报道较少。本试验以金边虎尾兰叶片为外植体,比较研究叶龄、叶片部位、激素组合对愈伤组织诱导率的影响,并进一步对愈伤组织芽分化以及根诱导成苗的培养基进行优化。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验外植体材料取自金边虎尾兰叶片,金边虎尾兰购自花店,为多年生盆栽苗。

1.2 外植体表面的消毒

用小刀从金边虎尾兰植株上取下叶片,在自来水下擦拭掉叶片表面的污垢,将叶片切成 2.5 cm×2.5 cm 大小的片段,放置到装有洗衣粉溶液的广口瓶中,盖好广口瓶塞,反复振荡浸泡 12 min 后,倒掉洗衣粉水,用流动自来水冲洗 15 min 洗去洗衣粉残留。冲洗完后把水沥干并盖上盖子,移至超净工作台中,用适量 70% 乙醇消毒 30 s,之后无菌水冲洗 2 次,加入适量 0.1% 浓度的 HgCl₂ 和 1 滴吐温,不停摇动,10 min 后,用无菌水冲洗 3~4 遍,接种时外植体切成 2.0 cm×2.0 cm 大小的片段。

收稿日期:2016-03-23

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金(编号:4156202);江西省“三区”人才计划项目(编号:JX2120700004);江西省自然科学基金面上项目(编号:20161BAB204191)。

作者简介:陈传红(1973—),男,江西乐安人,博士,副教授,主要研究方向为湖泊生态学、植物组织培养。E-mail: cchuanhong@163.com。

1.3 外植体的选取

本试验采用了一年生、二年生、多年生叶片作为外植体进行对比实验,另外对当年生叶片进行不同部位(叶基部、中部和顶部)对比试验。

1.4 培养基的配制

本试验所用基本培养基均为 MS 培养基,附加 0.7% 琼脂、4% 蔗糖。愈伤组织诱导培养基共 5 组,其中培养基 1~4 分别附加 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L 2,4-D,附加浓度均为 0.5 mg/L 的 6-BA、NAA 的组合;培养基 5 为附加 2.5 mg/L 2,4-D、1.0 mg/L 6-BA、0.5 mg/L NAA 的组合。愈伤组织芽分化培养基共 6 组,其中 a~d 分别附加 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L 6-BA 与 0.5 mg/L NAA 组合,e、f 分别附加 0.5、2.0 mg/L 6-BA 与 0.5 mg/L NAA 组合。试管苗生根培养基以 1/2MS 为基本培养基,附加 0、0.5、1.0、1.5、2.5 mg/L NAA,共 6 组(I~V)。以上试验每处理均接种 10 瓶,每瓶接种 1 个外植体。于光照培养箱中培养,培养条件为:温度(25±1)℃,光照度为 2 000 Lx,光照时间为 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同外植体对愈伤组织诱导的影响

将多年生、二年生和一年生叶片中部所取的片段作为外植体,各接种 10 瓶在诱导培养基中,于培养箱中培养 40 d(表 1)。另将当年生叶片的叶鞘部、中部和顶部所取的片段作为外植体,各接种 10 瓶在诱导培养基中,放在恒温培养箱中培养 40 d(表 2)研究发现,一年生叶片中部外植体所产生愈伤组织的能力要大于二年生和多年生叶片;嫩叶中部产生愈伤组织的效果最好,愈伤组织诱导倍数达到 1.88。综合考虑,选择一年生叶片的中部作为愈伤组织诱导的外植体,可达到较好的诱导效果(图 1-a、图 1-b)。

2.2 2,4-D 对愈伤组织诱导的影响

2,4-D 对愈伤组织诱导有着重要影响,适当浓度的 2,4-D 有利于愈伤组织的诱导,其中 2.0 mg/L 2,4-D 与 0.5 mg/L 6-BA、NAA 时的组合诱导效果最好,且诱导出来的愈伤组织颜色淡黄、结构疏松(图 1-b、表 3)。

表 1 不同叶龄叶片产生愈伤组织的情况

外植体叶龄	接种数 (瓶)	污染数 (瓶)	产生愈伤组织 的总边数(个)	平均边数 (个)
多年生叶片中部	10	6	5	1.25b
二年生叶片中部	10	3	9	1.28b
一年生叶片中部	10	3	12	1.71a

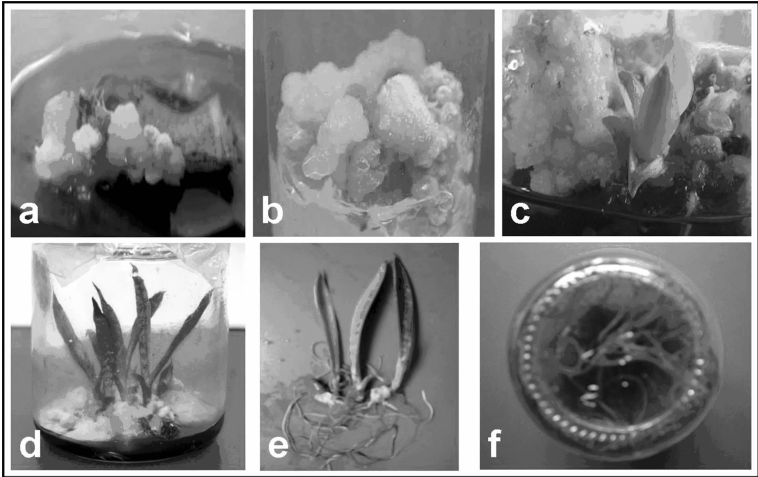
注:培养的 2.5 cm 见方的外植体片段有切割边数均为 4,产生愈伤组织的总边数即为外植体片段产生愈伤组织的边数总和。平均边数即为形成有愈伤组织的边数总和除以外植体个数。表 2 同。

表 2 一年生叶片不同部位产生愈伤组织的情况

外植体部位	接种数 (瓶)	污染数 (瓶)	产生愈伤组织 的总边数(个)	平均边数 (个)
叶基部	10	3	11	1.57b
叶中部	10	2	15	1.88a
叶顶部	10	5	8	1.60bc

2.3 诱导芽分化最适培养基的筛选

将 4 号培养基中诱导出的愈伤组织转接到 a~f 这 6 组芽分化培养基中,经过 45 d 的培养,结果发现,不同培养基组



a-叶片的中部诱导出的愈伤组织; b-愈伤组织增殖培养; c-愈伤组织诱导出芽;
d-虎尾兰试管苗; e-移出的虎尾兰试管苗; f-虎尾兰试管苗根部系

图1 虎尾兰愈伤组织分化及植株再生过程

表 3 2,4-D 对愈伤组织诱导的影响

培养基编号	接种数(瓶)	污染数(瓶)	愈伤组织诱导率(%)	愈伤组织诱导情况
1	10	2	20d	愈伤组织少,颜色泛绿,结构紧密
2	10	2	40c	愈伤组织较少,颜色泛绿,结构紧密
3	10	0	70ab	愈伤组织较多,颜色黄绿相间,结构较松
4	10	3	80a	愈伤组织多,颜色泛黄,结构疏松易分散
5	10	2	50c	愈伤组织中等,颜色泛黄,结构较紧密

合之间其诱导率差别较大。其中 d 号诱导芽分化诱导出的芽数最多,芽诱导率最高,达 90%,同时 d 号诱导培养基诱导出的芽比其他几种培养基诱导出的芽要饱满些(图 1-c、表 4)。因此,d 号芽诱导培养基为最适芽诱导培养基。

表 4 诱导芽分化培养基的概况

培养基编号	接种数 (块)	诱导出芽的愈 伤组织数(块)	诱导出的 芽总数(个)	芽诱导率 (%)
a	10	3	7	30c
b	10	4	10	40c
c	10	7	14	70b
d	10	9	19	90a
e	10	5	11	50bc
f	10	4	9	40c

2.4 试管苗生根培养基的筛选

由以上试验愈伤组织诱导出来的芽生长至 3~4 cm 长后,接种到 I~V 5 种生根培养基进行根诱导培养 30 d 后发现,没有添加 NAA 的 I 号生长出的根数少,而且根的长度也相对较短,生根率也低,Ⅲ~V 号的生根率都是 100%,根的长度上也相差不大,但Ⅲ号的根数明显比其他 3 种要多,另外

Ⅲ号和Ⅳ号所长出的根均比较饱满粗壮。总体来看,Ⅲ号生根培养基对试管苗根诱导效果最好(图 1-e、图 1-f、表 5)。

表 5 试管苗生根的概况

培养基编号	接种芽数 (个)	总根数 (条)	最长根长 度(cm)	最短根长 度(cm)	生根率 (%)
I	10	3	1.7	0.5	30c
II	10	8	2.3	0.7	80b
III	10	18	4.8	1.6	100a
IV	10	13	4.5	1.8	100a
V	10	11	4.7	1.2	100a

3 讨论

本研究表明,在植物组织培养中不同器官及部位作为外植体,其芽或愈伤组织的诱导率差异较大,因此必须依据材料的特点,选取较易表达全能性的器官及部位,这样不但能降低植物组织培养的难度,而且能达到最佳效果。例如在金边虎尾兰组织培养中,最好的外植体是金边虎尾兰嫩叶片的中部叶片,培养过程中的基部叶片细胞生长缓慢,叶顶部细胞容易死亡。本试验揭示了 2,4-D、6-BA、NAA 等激素在诱导叶

管菊,万劲,陈嘉裔. 多肉植物白牡丹 (*Graptopetalia* 'Titubans') 组培快繁技术[J]. 江苏农业科学,2017,45(14):36-38.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.14.011

多肉植物白牡丹 (*Graptopetalia* 'Titubans') 组培快繁技术

管菊¹, 万劲², 陈嘉裔³

(1. 西南林业大学园林学院, 云南昆明 650224; 2. 三江学院, 江苏南京 210012; 3. 昆明绿岛园艺有限公司, 云南昆明 650224)

摘要:以白牡丹叶片及幼嫩茎段为外植体,建立无菌快繁体系,在此基础上筛选适合白牡丹组培快繁不同生长阶段的最适培养基。结果表明:最适宜的外植体材料为叶片,灭菌方法为 75% 乙醇处理 15 s、0.1% HgCl₂ 处理 12 min;最佳的丛生芽诱导培养基为 MS + 2 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA,芽诱导量可达 10.8 个/张;最适增殖培养基为 MS + 0.2 mg/L NAA + 2 mg/L 6-BA + 1 mg/L KT,增殖倍数可达 11.57;使用切根苗于干燥基质上进行生根炼苗可取得较好效果,炼苗成活率可达 95%。

关键词:多肉植物;白牡丹;组织培养

中图分类号: S682.330.4⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)14-0036-03

白牡丹 (*Graptopetalia* 'Titubans') 由景天科石莲花属多肉植物静夜 (*Echeveria derenbergii*) 与风车草属胧月 (*Graptopetalum paraguayense*) 杂交培育而来,是目前较为流行的多肉园艺品种之一。白牡丹茎叶肉质化,全株被白粉,互生叶排列成莲座形,如牡丹花绽放,具有很高的观赏价值^[1]。白牡丹繁殖方式目前仅局限于扦插以及分株繁殖,白牡丹规模繁殖一直存在技术瓶颈。因此,对于白牡丹组培快繁技术进行研究具有一定意义,本研究将为白牡丹组培扩繁提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为西南林业大学大棚内种植的多肉植物白牡丹。选取的外植体分别为白牡丹植株的叶片、茎段。

1.2 试验方法

1.2.1 培养条件 本试验采用 MS 为基本培养基,附加 0.4% 1 500 g/cm² 强度卡拉胶、30 g/L 蔗糖, pH 值调节至 5.8~6.0, 121 ℃ 高压灭菌锅中灭菌 15 min 备用。选用日本

三洋 MLR-351H 型培养箱进行组织培养,光照度设定为 3 000 lx,设定每天的光照时间为 18 h,培养温度为 25 ℃。

1.2.2 材料与消毒 选取长势良好的植株茎段与叶片为供试材料。叶片要求为从基部与茎段分离的完整叶片,叶片饱满挺拔、表面无伤痕;茎段要求为当年生幼嫩茎段,表面无伤痕、无虫害。剪取材料后,将材料首先置于洗衣粉中浸泡约 10 min,在浸泡过程中,用软毛刷轻轻刷洗,将材料表面残留的污物清除;之后再材料置于流水中冲洗,冲洗约 3 h,冲洗完成后,将材料置于超净台内,用 75% 乙醇快速浸泡 15 s;取出后立即置于无菌水中清洗,再用 0.1% HgCl₂ 消毒,设置 4、8、12、16 min 4 个时间梯度的消毒处理,之后用无菌水清洗 5~6 次,总清洗时间不少于 15 min;将清洗后的材料置于灭菌滤纸上吸去多余水分,接种入 MS 空白培养基中,每瓶接种 1 株,每个处理 20 瓶,3 次重复。3 d 后开始记录污染率、污染类型、死亡率,之后每天记录 1 次,15 d 后结束记录。

1.2.3 诱导培养 以 MS 为基本培养基,分别附加不同含量的 NAA、6-BA (表 1),使用之前试验中所得的最适外植体材料以及最适消毒方法,将外植体接种于分别附加不同激素含量的培养基中,每种处理接 20 瓶,每瓶接种 1 株,重复 3 次,30 d 后统计诱导情况。

1.2.4 增殖培养 根据初代培养中白牡丹无菌苗诱导培养的长势情况,确定白牡丹无菌苗的增殖培养方式。将初代培养中诱导得到的白牡丹丛生芽或愈伤组织接种于以 MS 为基

收稿日期:2016-12-19

基金项目:西南林业大学科技创新项目(编号:C16051)。

作者简介:管菊(1991—),女,云南宣威人,硕士研究生,从事观赏植物繁殖与栽培研究。E-mail:710029000@qq.com。

通信作者:陈嘉裔,硕士,从事观赏植物育种与繁殖研究。E-mail:wansju@foxmail.com。

片愈伤组织形成的影响,其中 2,4-D 对愈伤组织诱导有着关键性作用,以 2.0 mg/L 2,4-D 再附加 0.5 mg/L 6-BA、0.5 mg/L NAA 的激素组合诱导效果最好;1.0 mg/L NAA 促进试管苗生根的效果最好。

参考文献:

- [1] 林丽仙,谢志南,苏明华,等. 虎尾兰吸收甲醛及其保护酶活性的初步研究[J]. 福建农业学报,2009,24(3):258-261.
- [2] 李泽鸿,张璐,刘文涛,等. 虎皮兰中 4 种重金属元素的含量测定[J]. 北方园艺,2010(1):153-154.

- [3] 林越平,王凤兰,黄子锋. 金边虎尾兰的栽培管理技术[J]. 农业与技术,2008,28(3):89-90.
- [4] 周宇,闫国华,张开春,等. 虎尾兰叶片切段扦插育苗技术[J]. 中国花卉园艺(技术版),2006(4):25.
- [5] 刘建雄,李涛涛. 虎尾兰外植体的组织培养[J]. 植物生理学通讯,1987,54(4):54.
- [6] 黄凤兰,李静,张茜,等. 虎尾兰的组织培养技术研究[J]. 东北农业大学学报,2012,43(1):131-136.
- [7] 谢怡青,温清英. 金边虎尾兰的组织培养和快速繁殖[J]. 农业科技通讯,2007(6):56.