

杨志坚,温杭凯,陈选阳,等.金边龙舌兰组织培养技术研究[J].江苏农业科学,2019,47(5):37-39.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.05.010

# 金边龙舌兰组织培养技术研究

杨志坚<sup>1,2</sup>,温杭凯<sup>1,2</sup>,陈选阳<sup>1</sup>,何碧珠<sup>3</sup>,刘江洪<sup>1,2</sup>,许明<sup>1,2</sup>,廖素凤<sup>1,2</sup>,郑金贵<sup>1,2</sup>

(1.福建农林大学作物遗传育种与综合利用教育部重点实验室,福建福州 350002;

2.福建农林大学农产品品质研究所,福建福州 350002; 3.福建农林大学园艺学院,福建福州 350002)

**摘要:**以金边龙舌兰(*Agave americana* var. *Marginata*)植株茎段为外植体,研究不同消毒方式对茎段污染率、褐化率及不同分化培养基与生根培养基对金边龙舌兰丛生芽分化、生根的影响。结果表明,采用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  处理 10 min 对金边龙舌兰植株茎段的消毒灭菌效果相对较好;诱导分化的最佳培养基为 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + KT 1.0 mg/L,金边龙舌兰丛生芽分化率、增殖效率相对最高,分别为 80.0%、130.0%;诱导生根的最佳培养基为 MS + 0.4 mg/L NAA,其生根率相对最高,为 100.0%,且长出的根系健壮,数量适中,根长 1.5 cm 左右。

**关键词:**金边龙舌兰;茎段;组织培养;快速繁殖;培养基;生根;分化

**中图分类号:** S682.360.4<sup>+</sup>3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)05-0037-03

金边龙舌兰(*Agave americana* var. *Marginata*)别称金边莲、金边假菠萝、龙舌兰、黄边龙舌兰,龙舌兰科龙舌兰属多年生常绿草本植物<sup>[1]</sup>,茎短、稍木质,叶丛生,呈莲座状排列,叶片肉质剑状,主要呈绿色,边缘带有黄白色条,有红或紫褐色顶刺。金边龙舌兰原产美洲的沙漠地带,喜温、喜阳、耐旱,要求土壤疏松透水,国内主要分布于西南、华南地区,现多栽培于庭院,作为盆栽或花槽观赏,造型独特,茎叶艳丽,别具一格,不仅可有效美化环境,还能释放负离子,改善周围环境小气候,提高人体舒适度,增强人体的免疫力<sup>[2]</sup>。金边龙舌兰不仅具有较高的观赏价值,还有很好的药用价值,其味甘、微辛,具有润肺、化痰、止咳、疏风除湿、清热祛风之功,可用于化痰定喘,治咳嗽吐血、哮喘等症<sup>[3]</sup>,且有一定的抗菌消炎作用<sup>[4]</sup>,煎剂可治疗慢性支气管炎、急性痛风性关节炎等<sup>[5-6]</sup>。金边龙舌兰在栽培过程中存在 4 个制约其发展的问题,一是以分株繁殖为主,繁育速度较慢,同时生长也较为缓慢,须生长 10 余年才开花<sup>[7]</sup>;二是生长期需要充足的阳光,光照不足会使植株徒长,植株松散、瘦长,叶片变薄,从而导致经济价值严重降低<sup>[8]</sup>;三是对栽培基质或土壤要求严格,须有一定的颗粒度和有良好的排水透气性,常采用腐叶土、粗沙、炉渣、贝壳粉等材料配制基质,以增加排水透气性,防止根系受损<sup>[9]</sup>;四是金边龙舌兰叶片若被水浇或雨淋易患褐斑病<sup>[10]</sup>,破坏了植株的整体美。植物组织培养可加快植株的繁育进度,缩短其生长发育进程,增强植株的抗病能力,提升其生产管理效率。

植物组织培养是运用植物细胞的全能性<sup>[11]</sup>,在适宜条件下,植物体任何一个细胞都具备发育成为一个完整植株的潜力<sup>[12]</sup>。植物组织培养能否成功,除培养材料自身因素外,还取决于培养基的选择,应根据培养植物的种类、部位及生长阶段差异选择适宜的培养基<sup>[13]</sup>。近年来,对金边龙舌兰的市场需求越来越大,通过组织培养途径加快金边龙舌兰的繁殖,有利于金边龙舌兰的推广应用。本试验以金边龙舌兰植株茎段为外植体,研究不同消毒时间及含不同生长调节物质的培养基对组织培养金边龙舌兰茎段污染、褐化及出芽、生根的影响,以期对金边龙舌兰的组织培养快繁提供技术依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 外植体消毒灭菌时间的筛选

试验于 2017 年 7—11 月在福建农林大学海峡两岸农业技术合作中心实验室内进行,剪取金边龙舌兰生幼嫩茎段,去除外部叶片 1~2 层;清水冲洗 30 min 以去除表面污物,双蒸水冲洗 1 min;超净工作台上用 75% 乙醇处理 30 s,分别用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒灭菌 6、8、10、12 min;无菌水涮洗 5 次,切成 1.0~1.5 cm 的茎段,接种到含蔗糖 2%、琼脂 0.7%、活性炭 0.1% 的基本培养基 MS 培养基<sup>[14]</sup>上培养 10 d,培养基 pH 值为 5.6~5.8,培养温度为 25℃,光照为 16 h/d,光照度为 2 000 lx;每个消毒灭菌处理接种 20 瓶 50 个茎段,观察茎段污染、褐化情况,计算污染率、褐化率,公式为:

污染率 = 污染的外植体个数/接种的外植体个数 × 100%;

褐化率 = 褐化外植体数/接种的外植体数 × 100%。

### 1.2 丛生芽诱导培养基生长调节物质(PGR)配比筛选

将外植体分别接种到含有不同浓度生长调节物质配比的 MS 培养基上培养,共 27 个处理组合(表 1),培养基 pH 值为 5.6~5.8,培养温度为 25℃,光照为 16 h/d,光照度为 2 000 lx;每处理接种 30 个,接种培养后 35 d 观察并统计每个外植体的发芽个数,计算分化率、增殖率,公式为:

分化率 = 发芽总数/接种的胚状体数 × 100%;

增殖率 = 发芽总数/接种的外植体数 × 100%。

收稿日期:2018-01-03

基金项目:福建省教育厅科技项目(编号:JT180145);国家科技支撑计划(编号:2013BAD01B05);福建农林大学科技创新基金(编号:KFA17155A,KFA17420A)。

作者简介:杨志坚(1981—),男,泉州安溪人,硕士,讲师,从事功能型特用作物研究。E-mail: yangzj41@fafu.edu.cn。

通信作者:郑金贵,硕士,教授,从事功能型特用作物研究。E-mail: jgzheng@fafu.edu。

表 1 芽诱导阶段的 PGR 浓度配比

处理组合	A;6-BA (mg/L)	B;NAA (mg/L)	C;KT (mg/L)
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	1.0	0.1	0.8
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	1.0	0.1	1.0
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	1.0	0.1	1.2
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	1.0	0.2	0.8
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	1.0	0.2	1.0
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	1.0	0.2	1.2
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	1.0	0.3	0.8
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	1.0	0.3	1.0
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	1.0	0.3	1.2
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	2.0	0.1	0.8
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	2.0	0.1	1.0
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	2.0	0.1	1.2
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	2.0	0.2	0.8
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	2.0	0.2	1.0
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	2.0	0.2	1.2
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	2.0	0.3	0.8
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	2.0	0.3	1.0
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	2.0	0.3	1.2
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	3.0	0.1	0.8
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	3.0	0.1	1.0
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	3.0	0.1	1.2
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	3.0	0.2	0.8
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	3.0	0.2	1.0
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	3.0	0.2	1.2
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	3.0	0.3	0.8
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	3.0	0.3	1.0
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	3.0	0.3	1.2

1.3 生根培养基 NAA 浓度筛选

金边龙舌兰的芽长至 1 cm 左右时,将小苗从芽丛上分离下来,分别接种到含 NAA 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/L 的 MS 培养基上培养,培养基 pH 值为 5.6~5.8,培养温度为 25℃,光照为 16 h/d,光照度为 2 000 lx;每处理接种 20 瓶,接种后 25 d 观察并统计生根情况。

1.4 统计分析

采用 Excel 2007 软件对试验数据进行统计整理和作图。

2 结果与分析

2.1 金边龙舌兰外植体消毒灭菌时间的筛选

由图 1 可见,随 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒灭菌时间的延长,外植体污染率有明显降低,而褐化率逐渐增加;0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒处理 6 min 时,金边龙舌兰外植体的褐化率相对最低,为 2.0%,但污染率相对较高,为 74.0%;消毒处理 10 min 时,培养材料的污染率、褐化率分别为 8.0%、10.0%,均相对较低。综合考虑,0.1% HgCl<sub>2</sub> 最佳消毒时间为 10 min。

2.2 金边龙舌兰丛生芽诱导培养基生长调节物质(PGR)配比筛选

由表 2 可见,不同激素水平诱导金边龙舌兰丛生芽的分化效果有明显差异;处理组合 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub> 即 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + KT 1.0 mg/L 的金边龙舌兰丛生芽分化率、增殖效率相对最高,分别为 80.0%、130.0%,分别是最低组合 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub> 分化率的 3.43、3.25 倍。因此,诱导金边龙舌兰丛

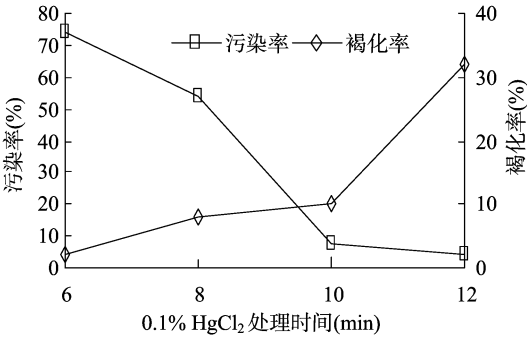


图1 0.1 g HgCl<sub>2</sub> 不同消毒时间对金边龙舌兰外植体的影响

生芽分化的最佳培养基为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>, 即 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + KT 1.0 mg/L。

3.3 生根培养基 NAA 浓度筛选

由表 3 可见,诱导生根的最佳培养基为 MS + 0.4 mg/L NAA,此时金边龙舌兰的生根率相对最高,为 100.0%,且长出的根系健壮,数量适中,根长 1.5 cm 左右,是生根效果最差培养基 MS + 0.1 mg/L NAA 的 2.2 倍。

3 结论与结论

潘梅等研究发现,3% 双氧水 + 0.1% HgCl<sub>2</sub> 对金边龙舌兰幼茎的灭菌效果相对较好;含 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 的培养基对金边龙舌兰芽的增殖效果相对最好,平均 30 d 可增殖 3.2 倍,且 6-BA 在金边龙舌兰组织不定芽再生中起着重要作用;金边龙舌兰试管苗对移栽基质的适应性广,移栽成活率高,植株生长健壮<sup>[1]</sup>。本试验结果表明,金边龙舌兰组织培养的最佳消毒方法为 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 10 min,时间过短,外植体污染会较为严重,时间过长,外植体的褐化程度会加深;诱导分化的最佳培养基为 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + KT 1.0 mg/L,金边龙舌兰丛生芽分化率、增殖效率相对最高,分别为 80.0%、130.0%;诱导生根的最佳培养基为 MS + 0.4 mg/L NAA,其生根率相对最高,为 100.0%,且长出的根系健壮,数量适中,根长 1.5 cm 左右。

须强调的是,采摘金边龙舌兰茎段时应避开阴雨天,尽量选择晴天中午或下午,以降低其组织培养过程中的污染。在金边龙舌兰组织培养过程中,应注意培养瓶的相对温度,这是克服玻璃苗产生的重要措施<sup>[15]</sup>。在炼苗、移栽时,应待组培苗根系发育完整且根长达到 4~5 cm 时再进行,先置于荫棚内利用散射光炼苗 4~5 d,以提高幼苗对外界环境的适应能力;炼苗结束,小心取出瓶内苗,洗去黏附在根系上的培养基,并使用杀菌剂对其进行消毒处理,再移植到土质疏松的基质上,最初 10~15 d 应通过喷雾或罩上透明的塑料膜以保持较高的湿度,后把植株搬入温室遮阴栽培 3 周,并逐渐降低湿度并增加光强,最终确保小苗在正常的温室或田间条件下生长。

参考文献:

[1] 潘梅,吕德任,徐东. 金边龙舌兰组织培养研究[J]. 海南农业科技,2007(1):9.

表 2 不同 PGR 浓度对比对金边龙舌兰丛生芽的分化诱导效果

处理组合	接种数(个)	分化数(个)	分化芽数(个)	分化率(%)	增殖效率(%)
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	30	7	12	23.3	40.0
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	30	10	17	33.3	56.7
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	30	8	13	26.7	43.3
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	30	9	16	30.0	53.3
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	30	12	19	40.0	63.3
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	30	11	18	36.7	60.0
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	30	6	11	20.0	36.7
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	30	11	16	36.7	53.3
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	30	8	15	26.7	50.0
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	30	10	19	33.3	63.3
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	30	13	22	43.3	73.3
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	30	12	20	40.0	66.7
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	30	18	32	60.0	106.7
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	30	24	39	80.0	130.0
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	30	20	33	66.7	110.0
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	30	15	27	50.0	90.0
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	30	19	31	63.3	103.3
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	30	16	28	53.3	93.3
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	30	12	21	40.0	70.0
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	30	13	23	43.3	76.7
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	30	10	18	33.3	60.0
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	30	14	25	46.7	83.3
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	30	17	29	56.7	96.7
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	30	12	22	40.0	73.3
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	30	11	18	36.7	60.0
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	30	13	24	43.3	80.0
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	30	9	17	30.0	56.7

表 3 不同 NAA 浓度对生根的影响

实验组	NAA (mg/L)	培养时间 (d)	接种数 (个)	生根数 (个)	生根率 (%)	生长情况
1	0.1	25	20	9	45	根疏松,较细,根长 0.5 cm 左右
2	0.2	25	20	14	70	根较粗,数量较多,根长 0.5 cm 左右
3	0.3	25	20	17	85	根粗壮,数量多,根长 1 cm 左右
4	0.4	25	20	20	100	根健壮,数量适中,根长 1.5 cm 左右
5	0.5	25	20	19	95	根较粗,数量稀疏,根长 1 cm 左右

[2]吴仁烨,邓传远,杨志坚,等. 脉冲电场作用对植物释放负离子的影响[J]. 应用生态学报,2015,26(2):419-424.

[3]江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977:1414-1415.

[4]焦淑萍,陈彪,姜虹. 龙舌兰抗炎作用的实验研究[J]. 北华大学学报(自然科学版),2001,2(5):377-379.

[5]魏霞. 金边龙舌兰煎剂治疗慢性支气管炎 50 例[J]. 中医临床研究,2010,2(13):103,105.

[6]曾胜,周苹. 土家药龙舌兰外用治疗急性痛风肿痛[J]. 中国民族医药杂志,2008,14(5):19.

[7]兑宝峰. 龙舌兰属植物栽培与繁殖[J]. 中国花卉园艺,2012(20):34-36.

[8]林云甲. 怎样养好龙舌兰[J]. 中国花卉盆景,1990(5):16.

[9]Liu F N, Peng S C, Liu L R. Study on flowering, cultivation, and reproduction of *Agave americana* var. *marginata* Hort. (Agavaceae) [J]. Agricultural Science & Technology, 2012, 13(9):1864-1869.

[10]李意颖. 常见龙舌兰有哪些? 叶片如何养护? [J]. 中国花卉盆景, 1996(12):21.

[11]李聪聪,李艳提. 植物组织培养概论[J]. 现代园艺, 2013(20):142-144.

[12]孙忠青. 植物细胞的全能性及应用[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(21):8843-8844.

[13]王家麟. 植物组织培养及其应用研究概况[J]. 黑龙江农业科学, 2006(3):86-89.

[14]李勇,杨建芬,张朝成. 狐尾龙舌兰的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(5):474.

[15]金建平. 金边龙舌兰的茎段离体培养[J]. 植物生理学报, 1993(5):41-42.