

7种十二卷属植物栽培品种组培技术的比较研究

宋毅豪¹, 吴坤耀², 吴远双^{1*}

(1. 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500 ;

2. 昆明理工大学 建筑工程学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 采用7种十二卷属植物的花剑为材料进行组织培养, 在相同培养基条件下对其去分化、愈伤组织诱导、丛生芽诱导及生根各阶段的生长情况进行了观察。研究结果显示: 7种植物的外植体在两种启动培养基中均能膨大, 并有小的愈伤组织长出, 最佳愈伤组织诱导及分化培养基均为MS+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L, 最佳生根培养基为1/2MS+IBA 0.5 mg/L+AC 0.5 g/L。组培各阶段7种植物对培养基激素配方的选择上体现出高度一致性, 表明本研究所采用的培养基配方可能适用于多种十二卷属植物, 或可用于十二卷属大多数植物品种的快速扩繁, 这将极大地有利于十二卷属植物新品种的大规模组培苗繁育, 为建立十二卷属植物统一高效的规模化、系统化快速扩繁体系提供了基础。

关键词: 十二卷属植物 组织培养 组培条件 差异 快速扩繁

中图分类号: S682.33 文献标识码: B 文章编号: 1003-6997(2019)06-0054-03

DOI: 10.15979/j.cnki.cn62-1057/s.2019.06.022

十二卷(*Haworthia Dural*)为百合亚纲天门冬目独尾草科十二卷属多肉植物的简称, 是一类小型、多年生植物, 原产地大多在南非, 原名是为纪念19世纪初英国植物学家Adrian Hardn Haworth而得名^[1], 其性喜温暖、干燥和阳光充足的生态环境, 忌寒冷、霜冻和潮湿, 最适生长温度15~25℃, 冬季最低5℃以上, 夏季能耐40℃左右的高温, 最适生长期为3~11月, 对土壤要求不严, 以肥沃疏松的沙壤土为最适^[2]。该属按植株和叶的形态, 分为硬叶类和软叶类, 约有20个系, 150种以上^[3]。近年来, 随着“多肉热”席卷全球, 十二卷属多肉植物以其品种繁多、小巧玲珑、株形独特、清秀典雅、易于打理等特点, 非常适合高级爱好者收集栽培^[4], 这也使得十二卷植物迅速成为小型多肉市场的重要品种。

同时, 十二卷属多肉植物由于生长周期长, 自然繁殖效率低下等诸多因素, 制约了其大规模繁育, 而造成供求失衡^[5], 采用分株、扦插和种子繁殖, 繁殖量少, 还容易伤害母体^[6], 所以研究十二卷属植物的组培扩繁技术就成为十二卷属植物大规模繁育生产的关键。早在20世纪70年代国外就有人对一些十二卷属植物的组培进行了研究^[7], 对激素在愈伤组织绿化和再生芽分化及其生长中的作用进行了探索^[8], 但尚未见报道用于商业化的大量繁殖。在国内“多肉热”之初, 十二卷属的玉露和寿等新品种不断推陈出新, 价格高居不下, 很多爱好者只能望而却步, 这也促进了国内十二卷属植物组培的研究热潮, 对玉露、寿及截形十二卷组培的研究层出不穷, 也取得了不少成就^[2,5,9,10]。

收稿日期: 2018-12-18

作者简介: 宋毅豪(1997-), 男, 云南蒙自人, 在读本科生, 主要从事生物工程研究。

通讯作者: 吴远双(1973-), 女, 湖北松滋人, 高级实验师, 主要从事植物逆境生理学研究。

基金项目: 昆明理工大学大学生创新创业训练计划项目(201610674088); 昆明理工大学实验室建设与管理项目(SYYJ201745); 昆明理工大学引进人才科研启动基金项目(KKSY201826005)。

本研究采用7种十二卷属植物(包含了玉露、寿和万象)的花剑为外植体,综合国内外研究中发现的对不同阶段具有较好效果的激素,采用不同配比,探索这7种植物在启动培养、愈伤组织诱导、丛生芽分化及生根等各阶段对相应培养基不同激素配比的喜好,试图发现其共性和差异,为十二卷属植物新品种的大规模组培苗繁育提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以黑肌玉露、冰河玉露、圆头玉露、玉露与寿杂交的品种小叶楼兰、红纹寿、克里克特寿和一种万象的花剑为外植体材料。

1.2 外植体灭菌

将采取的新鲜花剑用自来水冲洗30 min左右,滤纸吸干水分,然后用1%的次氯酸钠浸泡5 min,无菌水冲洗3~4次,随后用75%的酒精浸泡30 s,无菌水冲洗3~4次,最后用0.1%的升汞溶液浸泡5 min,无菌水冲洗4~5次,置于无菌滤纸上吸干水分,备用。

1.3 启动培养

用剪刀将灭菌好的花剑剪成2 cm左右小段,每段保留1~2个花蕾,接种到启动培养基上(见表1),共计3个处理,于人工气候箱中暗培养7 d后,改用光照14 h/d,光强2 000 Lux,湿度50%,培养3~4周,观察外植体变化情况。以上培养基蔗糖30.0 g/L,琼脂9 g/L, pH 5.8。

表1 启动培养基配方

培养基	MS培养基	6-BA(mg/L)	NAA(mg/L)
Q1	√	3.0	0.02
Q2	√	2.0	0.02
MS ₀ (对照)	√	0.0	0.0

1.4 愈伤组织和丛生芽诱导

将经过启动培养后膨大的外植体切割至1.0~1.5 cm左右,每段花茎保留1个花蕾,接种到诱导培养基上(见表2)。培养条件:光照14 h/d,光强2 000 Lux,湿度50%。培养5~7周后,观察愈伤组织及丛生芽生长情况,并统计愈伤组织和丛生芽诱导率,筛选出

最佳诱导和分化培养基。

表2 愈伤组织培养基配方

培养基	MS培养基	6-BA(mg/L)	KT(mg/L)	NAA(mg/L)
Y1	√	1.0	0.5	0.01
Y2	√	0.5	0.5	0.01
Y3	√	1.0	0.5	0.02
Y4	√	0.5	0.5	0.02

1.5 丛生芽分化及增殖培养

选取黄绿色颗粒状愈伤组织接种于筛选出的诱导和分化培养基上进行继代增殖培养,培养条件同1.4,5周后观察记录结果。

1.6 生根培养

选取生长健壮的丛生芽,接种到生根培养基上(见表3)。生根培养基:蔗糖20 g/L,琼脂粉7 g/L, pH 5.8,光照时间12 h/d,4周后统计生根率及生根条数,确定最佳生根培养基。

表3 生根培养基配方

培养基	MS培养基	IBA(mg/L)	AC(g/L)	NAA(mg/L)
G1	1/2MS	0.5	0.5	0.0
G2	1/2MS	0.0	0.5	0.5
G3	1/2MS	0.5	0.5	0.5
G4	1/2MS	0.5	0.5	0.1

1.7 硬化土培

选取根系发育良好的组培苗,经炼苗硬化1周后移至大棚土培,土壤配比为珍珠岩:腐殖土:椰糠(2:3:5)。

2 结果与分析

2.1 无菌体系的建立及启动培养

将灭菌处理过的外植体接种到启动培养基上,外植体污染情况极少,灭菌率均达90%以上。对外植体的生长情况观察发现:7种玉露、寿及万象在两种启动培养基上均出现外植体膨大和小型愈伤组织生成现象,而在对照组MS₀培养基中的外植体都呈现不同程度的萎缩褐变状态。观察外植体切口上的愈伤组织生长状况,发现当6-BA的浓度为2.0 mg/L时,无论是玉露、寿或万象的外植体脱分化后愈伤组织生长状况都略好于6-BA浓度为3.0 mg/L时,因此认为Q1培养基为十二卷属玉露及寿的最佳启动培养基。

2.2 外植体愈伤组织及丛生芽的诱导

将启动培养膨大后的外植体接种到 4 种不同的愈伤组织及丛生芽诱导培养基上, 5 周后观察各种玉露、寿及万象的外植体愈伤组织及丛生芽生长的情况, 发现在同种培养基上无明显差别。表 4 对玉露、寿及万象的愈伤组织诱导率和丛生芽分化率分别进行了记录。结果显示: Y2 培养基中 7 种十二卷外植体愈伤组织诱导率及丛生芽分化率在 4 种培养基中均为最高值, 多数外植体出现大量绿色颗粒状愈伤组织, 且有小型丛生芽自部分愈伤组织外缘长出。以 0.5 cm 为计量标准统计的丛生芽分化率来看, Y2 培养基的诱导分化率也最高。此外, Y1 及 Y2 培养基的愈伤组织诱导率都比较高, 但 Y1 培养基的丛生芽分化率要低于 Y2 培养基, 说明较低浓度的 6-BA 更有助于愈伤组织再分化出丛生芽。比较 Y2 及 Y4 培养基的丛生芽诱导情况发现, 高浓度的 NAA 可能降低愈伤组织的再分化进程, 不利于丛生芽分化, 且愈伤组织的玻璃化现象较为严重, 说明在一定范围内降低 NAA 浓度有利于丛生芽的分化并减轻愈伤组织玻璃化的程度, 这与郭生虎等^[11]及陈丽等^[12]的研究结果一致。

表 4 不同培养基中愈伤组织及丛生芽诱导情况

诱导培养基类型	愈伤组织诱导率(%)			丛生芽分化率(%)		
	玉露	寿	万象	玉露	寿	万象
Y1	71.8	71.4	69.2	28.2	31.0	30.8
Y2	79.5	85.7	84.6	46.2	47.6	46.2
Y3	54.4	54.8	46.2	23.1	21.4	30.8
Y4	66.7	64.3	53.8	23.1	26.2	23.1

2.3 丛生芽的壮苗与生根

将生长状况良好的丛生芽接种到 Y2 培养基中继代培养, 待丛生芽呈现成株形态, 将生长状态相近的小苗切下, 接种到生根培养基中进行壮苗生根培

养。对 6 种玉露和寿的生根情况进行记录(万象小苗数量少, 未统计), 结果如表 5 所示。玉露、寿在 4 种生根培养基上均可生根, 玉露的生根诱导率均在 70%以上, 对寿的生根诱导率也基本高于 65%。从小苗在 G1、G2 培养基中的平均根长、平均生根数及生根率等数据来看, 在单一激素诱导的生根过程中, I-BA 的诱导效率明显优于 NAA。而从综合数据来看, G1 和 G4 的生根诱导率较高, 适于诱导多种玉露和寿生根。万象小苗虽然数量少未统计, 但观察生根的情况与玉露和寿一致。

2.4 炼苗移栽

将生根培养的小苗培养瓶瓶盖逐步打开, 置于常温炼苗 7 d, 然后将其移出培养瓶, 洗净丛生苗根部的琼脂, 用剪刀减去毛根并用滤纸吸干苗株上黏附的水分, 在阴凉处晾 3 d, 并少量喷水保持湿度, 移栽到配好的基质土上, 置于阴凉处, 期间每周浇水一次, 待组培苗新根长出、正常萌发新叶后移栽到花盆中。

3 结果与讨论

本试验以十二卷属玉露、寿及万象新抽生的花剑作为外植体, 通过植物组织培养技术, 实现在不伤及母体的情况下, 实现快速繁育的目的(过程见图 1)。由于采用新抽生的花剑, 本身污染较小, 在消毒

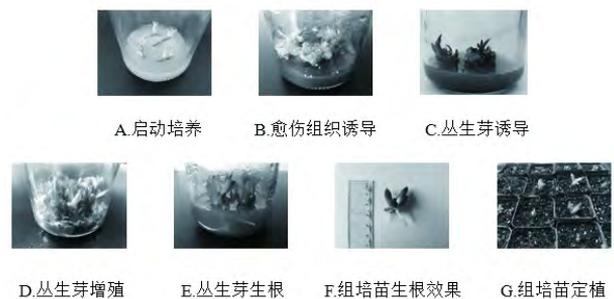


图 1 十二卷属植物组织培养过程

表 5 不同的生根培养基对玉露及寿生根的

生根培养基	接种数(株)		平均根长(cm)		平均生根数(根/株)		生根率(%)	
	玉露	寿	玉露	寿	玉露	寿	玉露	寿
G1	10	6	1.42	2.02	1.7	2.8	90	100
G2	10	6	0.64	0.74	1.7	3.0	70	66.7
G3	10	6	0.90	1.48	2.2	2.2	80	66.7
G4	10	6	1.31	1.64	2.2	2.8	90	83.3

(下转第 59 页)

参考文献

- [1] 崔俊,李孟楼.花椒开发利用研究进展[J].林业科技开发,2008,(2).
- [2] 史劲松,顾龚平,吴素玲,等.花椒资源与开发利用现状调查[J].中国野生植物资源,2003,(5).
- [3] 蓝峰,苏子昊,黎子明,等.果园采摘机械的现状与发展趋势[J].农机化研究,2010,(11).
- [4] 胡文.花椒采摘方法及采摘工具的探索研究[J].四川林业科技,2015,(4).
- [5] 张会玲.对花椒收获机研究现状的思考[J].农机化研究,2009,(6).
- [6] 张涛依,张会玲.全自动花椒采摘机的结构设计[J].农业机械,2009,(8).
- [7] 万芳新.花椒采摘机的设计与试验[J].安徽农业科学,2014,(4).
- [8] 王峰.负压吸收式花椒采摘机设计[J].科技展望,2016,(26).
- [9] 苏光远,安邦,孙胜.4HJ-8型便携式花椒采摘机的研制[J].当代农机,2017,(11).
- [10] 郑天云.电磁花椒采摘器的设计[J].电气自动化,2017,(4).
- [11] 宋健,张铁中,徐丽明,等.果蔬采摘机器人研究进展与展望[J].农业机械学报,2006,(5).

(编辑 张顺全)

.....

(上接第 56 页)

灭菌处理中有一定的优势,通过 1%的次氯酸钠、75%的酒精及 0.1%的升汞溶液的组合消毒方法,灭菌率可达 90%以上,保证了后续操作的可行性。本研究还发现 7 种十二卷属植物在组培各阶段对培养基激素配方的选择上体现出高度的相似性。启动培养基均以 MS+6-BA3.0 mg/L+NAA0.02 mg/L 为优,愈伤组织和丛生芽诱导培养中 MS+6-BA

0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L +NAA0.01 mg/L 的效果最好,生根培养中 IBA 的浓度以 0.5 mg/L 为适。这说明十二卷植物在组培条件上种间差异比较小,该培养基配方组合和外植体灭菌方法或可用于十二卷属大多数植物品种花剑的快速扩繁,这将极大地有利于十二卷属植物新品种大规模组培,对促进十二卷植物产业发展具有很好的应用前景。

参考文献

- [1] 严霖,黄显雅,毛立彦,等.南宁十二卷属多肉植物的引种试验与栽培管理技术规程[J].安徽农业科学,2018,(5).
- [2] 金燕,陆锦明,卜顺法,等.多肉类十二卷属植物组织培养技术[J].上海农业科技,2018,(1).
- [3] 翟恒华,李耿,李权生.十二卷属植物的生长环境与光照要求[J].黑龙江农业科学,2012,(10).
- [4] 十二卷植物(一)多姿的类型[J].南方农业,2012,(4).
- [5] 朱天华,陆锦明,孙清,等.十二卷类植物的离体培养技术研究[J].上海交通大学学报(农业科学版),2012,(3).
- [6] 岳岚,张玉芳,何松林,等.植物组织培养新技术的应用现状与发展趋势[J].现代园林,2008,(3).
- [7] Majumdar S K, Lane D J. Effects of Sodium Cyclamate on Haworthia Callus Cultured in Vitro: Development, differentiation, and the chromosomes[J]. Journal of Heredity, 1970,(5).
- [8] Y. Ogihara. Tissue Culture in Haworthia: . Effects of Three Auxins and Kinetin on Greening and Redifferentiation of Calluses[J]. Botanical Magazine, 1979.
- [9] 何佳越,刘天乐,余丽萍,等.帝玉露的离体培养及快速繁殖技术研究[J].安徽农业科学,2017,(8).
- [10] 熊丙全,田进,廖相建,等.多肉植物玉扇组培快繁体系的建立[J].北方园艺,2018,(7).
- [11] 郭生虎,朱永兴,关雅静.百合科十二卷属玉露的组培快繁关键技术研究[J].中国农学通报,2016,(34).
- [12] 陈丽,宋婷婷.玉露的离体培养与快繁研究[J].北京农学院学报,2018,(2).

(编辑 张顺全)