

一品红的组织培养及快速繁殖

黄文江¹ 刘庆忠² 罗琦¹

(1 安徽师范大学生命科学学院, 安徽芜湖 241000; 2 山东省果树研究所, 山东泰安 271000)

摘要:以一品红(*Euphorbia Pulcherrima*)的茎段和茎尖为外植体,以MS为基本培养基,设计不同的试验,探讨了离体条件下影响一品红增殖的若干因素,建立了其离体快繁技术体系。结果表明:激素组合、糖浓度等因素能影响一品红离体增殖。适宜一品红无菌苗高效增殖的培养基为MS + BA0.5mg/L + NAA0.2mg/L + 6%蔗糖;在1/2MS + IBA0.5mg/L + NAA0.5mg/L + 3%蔗糖的生根培养基上,无菌苗生根率为75.4%。小苗移栽容易成活,成活率可达95.1%。

关键词:一品红;离体;组织培养

中图分类号 Q944-33

文献标识码 A

文章编号 1007-7731(2006)11-64-02

Effect of Some Factors on the Propagation of *Euphorbia Pulcherrima* in Vitro

Huang Wenjiang¹ Liu Qingzhong² Luo Qi¹ (1 College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu Anhui 241000; 2 Shandong Institute of Pomology, Taian Shandong 271000)

Abstract: Using shoot tips and stem segment of *Euphorbia Pulcherrima* as explant, studied on the effect of the factors that affect the propagation of *Euphorbia Pulcherrima*. The simple and efficient method for rapid propagation was established. The result of experiments demonstrated that MS basal medium with BA0.5mg/L and NAA0.2mg/L was better than others in proliferation of *E. Pulcherrima*, and 1/2MS + IBA0.5mg/L + NAA0.5mg/L was a appropriation medium for rooting. The plantlets were transplanted into soil and established in the field. The survival rate of transplanting was 95.1%.

Key words: *Euphorbia pulcherrima*; in vitro; tissue culture

一品红又名“圣诞花”、“老来俏”,为大戟科直立灌木。短日照条件诱导花芽分化,我国多在十二月中下旬开花,一品红主要观赏其如花瓣状的大形苞片,而花序本身并无观赏价值。枝梢顶部在花序分化前先长出鲜红的苞片,而叶片翠绿挺拔,红绿相映,极富观赏价值。一品红常规的繁殖方法为带叶茎段扦插繁殖,由于受良种基数的限制,繁殖速度较慢,且扦插繁殖成活率低,容易积累病菌和病毒,造成品种退化,影响生产。采用组织培养技术,能快速繁殖大量生长均匀一致的苗木,满足市场的需求。目前国内外有关一品红组织培养的报道较少^[1-2]。本试验旨在探讨合理的培养基组合因子对一品红生长分化的影响,以提高其繁殖系数达到快繁的目的。

1 材料与方法

1.1 植物材料 试材为美国引进的脱毒矮化一品红品种“自由”。

1.2 外植体灭菌方法 取经过休眠的1年生枝条用自来水冲洗3-4h,然后进行不同的灭菌处理,处理1:用自来水冲洗过的茎段或茎尖,在无菌条件下,用75%的酒精灭菌30s后,再用0.1% HgCl₂溶液表面灭菌6-8min,用无菌水冲洗4-5次,无菌滤纸吸干水分,剥去外层鳞片,接种到培养基上;外理2:外理1中的材料剥去鳞片后,再次浸入0.1% HgCl₂中进行第2次灭菌,用无菌水冲洗干净

后接种到培养基上。

1.3 培养基及培养条件 在无菌条件下把无菌苗接种在MS + BA0.5mg/L培养基上,待其腋芽长到2-3cm时,再剪切成0.5cm左右的单芽茎段或茎尖接种在增殖培养基上。取生长健壮,长度约大于1cm的新梢接种于以1/2MS为基本培养基的生根培养基上诱导生根,所有培养基均添加琼脂6g/L,蔗糖3%。在灭菌前用1N NaOH调节pH值为5.6,121℃、131Kpa条件下高压灭菌30min。培养温度为25±2℃,光强2500lx,光照16h,8h黑暗。

2 结果与分析

2.1 无性系的建立 采用处理1和处理2两种方法建立无菌系,接种后15d观察污染情况,试验表明:不同的处理方法,外植体的污染率有明显差异,处理2的方法明显提高了外植体灭菌的成功率,与处理1相比其污染率降低了20%,由于鳞片剥去后,外植体芽原基较嫩,因此要严格控制第2次灭菌的时间,清洗也要彻底,防止组织受伤而褐化死亡。试验证明,第2次灭菌3-4min后,立即用无菌水冲洗,既可以彻底灭菌,又可以保护外植体免受伤害。

2.2 芽的诱导与增殖 带芽茎段或茎尖接种在MS + BA0.5mg/L的启动培养基上,培养8d以后,腋芽开始萌动,15d左右可长出侧枝。茎段切口处诱导产生少量的淡黄色愈伤组织。待侧枝长到2-3cm长时,再剪切成

基金项目:安徽师范大学青年教师基金资助(2003xqn09);安徽省教育厅资助课题(2003KJ162)

作者简介:黄文江(1976-),男,硕士,从事植物生理及生物工程方面的研究。

收稿日期:2006-09-16

0.5cm 左右的茎段,接种到添加不同植物激素的培养基上。4 周后观察发现,各处理芽生长情况因处理不同而有差异。试验表明:在一品红增殖培养过程中,增殖率受到细胞分裂素的调控(图 1)。细胞分裂素能够打破顶端优势,促进侧芽萌发而形成丛生芽。在诱导一品红增殖方面,供试细胞分裂素中,6-BA 效果最好,随 6-BA 浓度的增加,丛生芽增多,增殖系数升高。当浓度超过 1mg/L 时,6-BA 的存在抑制了不定芽的伸长,有效苗(>1cm)的比例下降。试验表明:6-BA 在 0.1-0.5mg/L 的范围内,添加 NAA0.2mg/L 的培养基最适宜一品红增殖培养。接种后 5-8d 开始恢复生长,15d 既可进入迅速生长期,4 周以后便可以进行新一轮的增殖培养。组培苗生长健壮、叶色浓绿,无黄叶枯死。增殖系数在 3-4 之间。

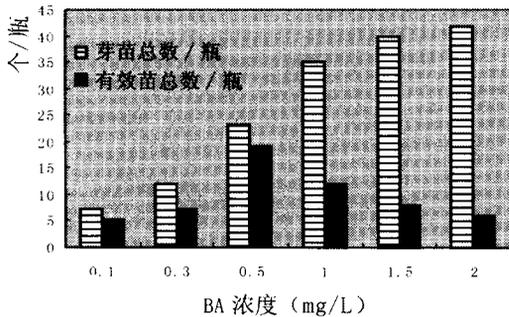


图 1 BA 对一品红增殖的影响

2.3 蔗糖浓度对增殖的影响 本试验在 MS 添加 0.5mg/L + NAA0.2mg/L 的增殖培养基上,研究不同浓度的蔗糖对一品红增殖的作用。4 周后调查芽苗增殖倍数如图 2。图 2 表明,在 1%-6% 的蔗糖浓度范围内,随糖浓度升高,增殖系数逐渐增加。蔗糖浓度为 6% 时,增殖系数最高达 6.2。浓度大于 6% 时,增殖系数迅速降低,在糖浓度为 10% 时,组培苗不能增殖,且叶片黄化枯死。这是因为,组织培养时,蔗糖是碳素和能量的来源,蔗糖浓度升高,促进了培养物对碳源的吸收、转化和贮运,进而促进了培养物的生长。但高浓度蔗糖会使培养基渗透压升高,对培养物造成伤害,培养物不能正常生长。

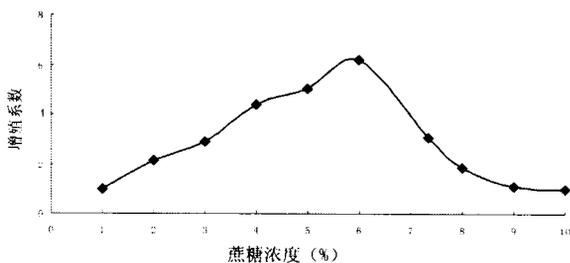


图 2 蔗糖对一品红增殖的影响

2.4 培养方式对一品红增殖的影响 不同的培养方式对外植体增殖的影响在不同的基因型之间有明显的差异。谭文登^[3-4]在花卉芋和竹节秋海棠的离体培养中发现,液体培养优于固体培养。他认为液体培养时,外植体对养分的吸收面积广、养分交流迅速、自体抑制效应减弱。周根余^[5]等对影响安祖花试管苗生长因素的研究中发现,苗高度、叶片数量等指标在不同培养方式间的差异不显著。同

样,固体和液体两种培养方式对木立芦荟试管苗增殖的影响也不明显^[6]。本试验的结果(表 1)表明,固体和液体两种培养方式对一品红增殖的影响差异不显著,在适宜的培养基上均可取得较高的增殖率。

表 1 培养方式对一品红增殖的影响

培养方式	接种数	形成芽数	增殖系数
固体	15	87	5.8 ± 2.3
液体	12	66	5.5 ± 1.9

2.5 根的诱导与幼苗移栽 剪取生长健壮的新梢,接种在 1/2MS 添加不同生长素的生根培养基(表 1)上诱导生根。结果表明:无论是 IBA 还是 NAA,在一定浓度范围内均能促进不定根的产生。1.0mg/L NAA 或 1.5mg/L IBA 均有利于一品红生根,但促使新梢基部切口处形成愈伤组织,不定根从愈伤组织中分化而来。这种根与茎之间缺少维管束联系,移栽不易成活。综合考虑生根质量和移栽成活率,选择 1/2MS + BA0.5mg/L + NAA0.5mg/L 为一品红诱导生根培养基。

在生根培养基上培养 4 周后,新梢能够形成完整的根系。将培养生根试管苗的试管封口打开,在无菌室中炼苗 3-4d。取出生根的试管苗洗净附着在表面的培养基,移栽到灭菌的 2/3 腐殖土 + 1/3 河沙基质中,用 400 倍 50% 的多菌灵可湿性粉剂喷布,保持 90% - 95% 的相对湿度、温度保持在 20 - 25℃,移栽初期完全遮荫,逐渐通风透光、增加光照,4-5 周后移栽盘中的小苗可以发生新根,长出新叶,这时可带土移栽到大田,成活率可以达到 95.1%。

表 2 不同培养基对一品红生根的影响

编号	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	生根率 (%)	生根数	移栽成活率 (%)
1	0.3	0	48.3	2.1	75.2
2	0.5	0	65.0	2.4	73.3
3	1.0	0.5	61.1	3.2	60.1
4	1.5	1.0	80.0	3.1	45.5
5	0	0.3	32.9	1.6	73.3
6	0.5	0.5	75.4	3.4	95.1
7	1.0	1.0	71.1	3.8	43.3
8	1.0	1.5	61.8	3.4	41.1

3 讨论

关于一品红组织培养,国内外文献报道较少。一品红的工厂化育苗技术尚未见报道。本研究首次建立了一品红离体茎段快繁技术体系,大大提高了试管苗增殖系数。有利于降低种苗生长成本,迅速推广优良品种。

3.1 提高增殖系数 提高增殖系数、增加有效苗比例是降低组培苗成本的有效途径。提高一品红增殖系数的关键是提高其丛生芽分化能力。试验表明:在适宜的激素组合培养基中,增加蔗糖浓度可提高增殖率。蔗糖浓度为 6% 时,增殖系数达 6.2 左右。理论上,一个优良单株经 1 年培养,将繁殖苗木 100 万株以上。优良品种可很快推广利用。

3.2 降低生产成本 组培苗的生产成本限制优良品种的推广应用。提高组培苗增殖系数、生根率 (下转 156 页)

仔猪水肿病的防治

蒋广德^{1,2} 王志耕^{1*}

(1 安徽农业大学, 安徽合肥 230036; 2 滁溪县畜牧技术推广中心, 安徽滁溪 235100)

摘要: 本文对仔猪水肿病的病症特点及防治措施进行了阐述。

关键词: 仔猪水肿病; 防治

中图分类号 S828 **文献标识码** B **文章编号** 1007-7731(2006)11-156-01

近几年来, 仔猪水肿病的发病率呈上升趋势, 给养猪业带来较大的损失。

1 病症特点

1.1 病原及实行特点 水肿病原是由病原性大肠杆菌产生的毒素而引起的疾病, 有报道是溶血性大肠杆菌引起的, 贫血、缺硒也能引起仔猪水肿病。

常见于肥胖的刚断奶不久的仔猪, 肥育猪或 10 日龄以下的仔猪较少见。一般呈散发, 有时呈地方流行性发生。

1.2 临床症状 急性水肿病, 见不到症状, 突然死亡。亚急性水肿病表现不食, 眼睑、头部、颈部水肿, 严重的可引发全身水肿, 指压水肿部位有压痕。发病初期有神经症状, 表现兴奋、转圈、痉挛、前肢跪地, 四肢僵直, 惊厥, 运动失调, 粪便减少, 个别猪表现病, 体温一般不高, 后期表现后肢麻痹, 经过 1-2d 死亡。

1.3 病理变化 切开水肿部位, 常见有大量透明或微黄色液体流出, 胃大弯部水肿最明显, 大肠、和其肠系膜高度水肿, 呈白色透明胶冻样, 胃黏膜水肿呈半透明状。体表淋巴结和肠系膜淋巴结肿大。胸腔和腹腔积液, 脊髓、大脑、皮层及脑干也有炎性水肿。

2 防治措施

2.1 预防措施 本病出现症状后再治疗一般难以治愈, 应以预防为主, 预防应从以下几方面着手:

- (1) 坚持兽医防疫制度, 定期消毒以消除病原。
- (2) 在仔猪出生 3 日龄进行补铁补硒, 以预防贫血和

缺硒性水肿。进行早期补料, 可在 7 日龄进行诱食。在 14-18 日龄进行注射水肿疫苗, 可有效预防水肿病。

(3) 应加强对断奶前后仔猪的饲养管理, 防止饲料单一化, 补充富含无机盐和维生素的饲料, 最好喂全价饲料。蛋白质应控制在一定水平, 营养浓度过高易引起水肿病。断奶时不要突然改变饲养条件, 保持原圈饲养, 原饲养方式不变, 防止受寒受冻及贼风侵袭, 以消除诱发因素。

(4) 在哺乳母猪饲料中添加亚硒酸钠和维生素 E 等, 能够降低水肿病的发病率。

(5) 在发病区可在饲料中添加一定量的氯霉素、土霉素, 也可添加磺胺嘧啶、大蒜等, 大蒜用量为每日每头仔猪添加 10g 左右, 连用 3d。其它药物可按每 kg 体重 5-20mg 添加, 连用 3-5d。

2.2 治疗措施

治疗应坚持以下原则:

(1) 利尿。速尿加甘露醇或高渗(25% 以上) 葡萄糖进行静脉注射。

(2) 抗菌。可用磺胺嘧啶钠、卡那霉素、乙基环丙沙星等抗菌药物, 腹腔注射效果更好。

(3) 强心。可用强心甘、安那钾、地塞米松配合维生素 B12、维生素 C 进行静脉注射。

(4) 补充亚硒酸钠和维生素 E 亦有疗效。

(5) 有痉挛、神经症状者可用氯化可的松、氯丙嗪等解痉、安神药。

(6) 可在静注时加碳酸氢钠以维持电解质平衡。

作者简介: 蒋广德(1969-), 男, 安徽滁溪人, 畜牧师, 从事畜牧技术推广工作。

* 通讯作者: 王志耕, 男, 安徽农业大学茶叶食品科技学院食品系教授。 收稿日期: 2006-09-26

(上接 65 页) 和移栽成活率是降低成本的关键。试验证实, 培养生长健壮的组培苗, 分化出 3-4 条根时, 移栽成活率较高。同时用廉价白砂糖代替蔗糖, 为一品红组织培养的碳源, 其增殖和生根具有与蔗糖同样的效果。

参考文献

- [1] 陈利萍, 汪炳良, 张明方. 一品红离体培养诱导体细胞胚的研究[J]. 植物生理学通讯. 1999, 35(6): 463-465
- [2] 钟士传, 王侠礼. 一品红茎段离体快速繁殖研究简报[J]. 中国

农学通报. 199, 15(3): 74-75

- [3] 谭文登, 戴策刚. 花叶芋液体静置培养快速繁殖[J]. 云南植物研究, 1987, 9(3): 348-353
- [4] 谭文登, 戴策刚. 竹节秋海棠的组织培养和液体快速繁殖[J]. 广西植物, 1987, 7(1): 49-52
- [5] 周根余, 苗秀莲, 程磊. 影响安祖花试管苗生长的若干因素[J]. 上海师范大学学报, 1999, 28(4): 76-81
- [6] 周根余, 陈萍, 程磊. 离体条件下影响芦荟增殖的若干因素[J]. 上海师范大学学报, 2002, 31(1): 55