

仙人球的组织培养

张慧英¹ 符真珠¹ 韦婉梅²

(¹ 广西大学农学院, 南宁 530005; ² 广西都安县高中生物组)

摘要:以仙人球为外植体,以MS为基本培养基,研究不同细胞分裂素和生长素对球增殖和生根的影响。结果表明:球增殖的最佳配方为MS+6-BA $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,增殖率高达330%,且增殖球能较好地保持原球特性。球生根的最佳配方为1/2MS+NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词:仙人球 组织培养 增殖 生根

仙人球 [*Echinopsis tubiflora* (Pfeiff.) Zucc.] 俗称草球,又名长盛球,现已成为花卉园艺展览不可缺少的种类,是观赏园艺新崛起的一枝奇葩^[1]。仙人球的常规繁殖发芽率低和繁殖速度慢,难以满足市场需要。采用组织培养方法是快速繁殖仙人球的有效途径,不仅繁殖速度快,频率高,操作简便易行,试验重复性好,在短期内可得到大量生长健康的再生小球,并且具有一定的经济收益。目前国内仅有少量的仙人球组织培养的文章报道^[2],为了更深入摸索仙人球的快速繁殖方法,本实验对仙人球进行组织培养研究,获得更多增殖小球,找出有利于仙人球组织培养的最佳培养基配方,为更快更多的获得有观赏、实用、药用价值^[3]的仙人球。

1 材料与方法

1.1 材料

选取圆形的仙人球,采用常规灭菌方法获得的无菌仙人球作为试验材料。

1.2 培养方法

1.2.1 仙人球增殖培养

不同浓度激素培养试验。

将以上获得的无菌球接种到以MS为基本培养基,附加不同浓度的KT和6-BA的培养基上。每个处理5瓶,每瓶3个球,每隔3天观察1次,温室培养1个月后,观察新增殖球数,并计算增殖率、球高度等,选择出最佳增殖培养基。

同一浓度激素培养试验。

选取以上试验获得的小球,接种到以MS为基本培养基,分别附加 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的6-BA、KT、CPPU(氯吡苯月尿)的3种不同配方的培养基上。每个处理5瓶,每瓶3球,每隔3天观察1次,温室培养1个月后,观察其新增殖球数,并计算增殖率、球平均长度(高度)及出现透明小球的比例等,选择出最佳增殖培养基。

6BA与NAA配合使用试验。

选取上一试验保持原形状、特性小球,分别接种到以MS+6-BA 2.0 为基本培养基,附加NAA浓度分别为 0.1 、 0.2 、 0.3 、 $0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的4个不同处理的培养基上。每个处理5瓶,每瓶4个球。每隔3天观察1次,温室培养1个月后,观察其新增殖数,计算增殖率、生长情况等,选择出最佳增殖培养基。

1.2.2 仙人球生根培养

选取上一试验保持原形状、特性的小球,转接到以1/2MS为基本培养基,附加NAA浓度分别为 0.1 、 0.2 、 0.3 、 0.4 、 0.5 、 1.0 、 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基上进行生根培养。每个处理5瓶,每瓶4个球。每隔3天观察1次,温室培养1个月后,观察其生根数及根生长情况,找出最利于生根培养的培养基。

以上试验的培养基中均加糖3%,琼脂0.4%,pH 5.8。以上材料的离体培养均采用光照培养:光强度1500-2000 lx,光照10小时/天,温度为:25

$\pm 2^{\circ}\text{C}$ 。

2 结果与分析

2.1 仙人球的增殖培养

2.1.1 不同浓度激素对仙人球增殖的影响

从表 1 可见,KT 浓度越高增殖率越低。其中浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的增殖率最高,为 213%,增殖率比最低的 40%高出 5 倍,新增殖球高度与原球相比,

无明显变化。表明 KT 低浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 适宜增殖培养。当 6-BA 浓度增高到 3.0 时,增殖率就降低。浓度为 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的增殖率是最高,为 507%,增殖率比最低的 64%高出 7.8 倍。在添加有 6-BA 的培养基上,增殖球都有所增高,范围在 0.21~0.39 cm。综上所述:6-BA 浓度为 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基更适合仙人球的增殖,其增殖率最高。

表 1 6-BA、KT 不同浓度对仙人球增殖的影响

激素	浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	接种球数 (个)	新增球数 (个)	增殖率 (%)	原球的高度 (cm)	增殖球比原 球高 (cm)
KT	0.5	15	32	213	1.0	0
	1.0	15	19	127	1.0	0
	2.0	15	11	73	1.0	0
	3.0	15	6	40	1.0	0
6-BA	0.5	11	7	64	1.0	0.34
	1.0	15	38	253	1.0	0.39
	2.0	15	76	507	1.0	0.22
	3.0	15	47	313	1.0	0.21

2.1.2 同一浓度激素对仙人球增殖的影响

从表 2 的试验结果可知:同一浓度不同细胞分裂素的 6-BA、CPPU、KT 的增殖率有明显差异,分别为 67%、187%、193%。在继代培养过程中,各处理的球有不同程度的增高,并产生透明球。以 6

-BA 透明小球占比例最小,其次是 CPPU,分别为 10%和 20%。KT 出现了较多的透明小球,占 45%,即玻璃化影响了球的特性。由此可见,3 种低浓度的细胞分裂素在继代培养中,影响球的质量。

表 2 不同细胞分裂素对仙人球增殖的影响

细胞分裂素	接种数 (个)	新增数 (个)	增殖率 (%)	原球高度 (cm)	增殖球比原 球高 (cm)	透明小球 比例 (%)
KT	15	29	193	1.34	0.62	45
6-BA	15	10	67	1.34	0.88	10
CPPU	15	28	187	1.34	0.65	20

2.1.3 6-BA 与 NAA 配合使用对仙人球增殖影响

在以上得出 $\text{MS}+6\text{-BA } 2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为最佳增殖培养基配方的基础上,添加不同浓度 NAA,找出最适合小球增殖的细胞分裂素/生长素比值。

从表 3 可知,6-BA 2.0 与不同浓度 NAA 配合使用对仙人球有较好的增殖作用,并能保持球形状。

以 NAA $0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 在培养 30 天内,新增殖球数达到 66 个,增殖率为 330%;其余处理差异不大。因此,可选择 ($6\text{-BA } 2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的配方为仙人球增殖较好的培养配方。

2.2 不同浓度 NAA 对生根的影响

将增殖得到的能够保持形状、特性的小球,转

接到以 1/2 MS 为基本培养基, 添加不同浓度 NAA 的生根培养基上生根培养。

表 3 6-BA 2.0 与不同浓度 NAA 配合使用对仙人球增殖的影响

NAA 浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	接种数 (个)	新增数 (个)	增殖率 (%)	生长情况
0.1	20	49	245	能保持形状、球小
0.2	20	45	225	能保持形状、球大
0.3	18	42	233	能保持形状、球小
0.4	20	66	330	能保持形状、但球大小不均

从表 4 可知: NAA 不同浓度对生根影响很大, NAA 浓度大于 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 平均每株生根数有降低。以 NAA 的浓度为 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 平均每株生根数最高为 1.4 条/球, 根较多且长。因此, 仙人球的生根仅适合低浓度的 NAA, 可选择 MS + NAA $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为仙人球的最佳生根培养基。

表 4 NAA 不同浓度对比对仙人球生根的影响

NAA 浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	接种数 (个)	生根数 (条)	平均每株生 根数 (条)	根平均 长度 (cm)	根生长情况
0.0	18	12	0.7	0.76	根少且细
0.1	20	28	1.40	0.95	根多, 长
0.2	20	22	1.10	0.38	根多、短、粗
0.3	22	14	0.64	0.86	根少、长、粗
0.4	24	30	1.25	0.68	根多, 长短、粗细不均匀
0.5	20	14	0.70	0.52	根少、短、粗
1.0	20	18	0.90	0.30	根少、短、粗
1.5	22	14	0.64	0.36	根少、短、粗

3 小结

在仙人球增殖试验中, 单独使用细胞分裂素继代增殖培养会影响球的质量, 产生玻璃球, 不能保持品种优良特性, 即玻璃化影响了球的质量。以浓度为 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 6-BA 添加低浓度 NAA 最适合小球增殖, 能保持球的形状。球生根仅适合低浓度的 NAA, 但生根率太低, 还有待进一步研究, 提高生根率。

参考文献

- [1] 严赞开, 严泽湘. 观赏仙人掌栽培技法 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2005.
- [2] 余伟. 仙人球的组织培养与快速繁殖 [J]. 云南热作科技, 2001, 24(2): 28-29.
- [3] 陈长勋, 金若敏, 钟健, 等. 复方仙人球抑制恶性肿瘤的药理作用研究 [J]. 上海中医药杂志, 1997(3): 39-41.