

凤尾兰的组织培养^①

庞 仪 张月雄 罗远华 莫 饶^②

(华南热带农业大学农学院 海南儋州 571737)

摘 要 以凤尾兰(*Yucca gloriosa* Linnaeus)的茎尖、幼嫩茎段及嫩叶为外植体进行组织培养。结果表明以嫩叶为外植体的愈伤组织诱导率最高,由茎段诱导的愈伤组织继代增殖最好,由茎尖诱导的愈伤组织诱导不定芽表现最佳。筛选出最佳初代培养基 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;愈伤组织增殖培养基 MS+6-BA 8.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;不定芽诱导培养基为 MS+6-BA 5.0 mg/L+KT 1.0 mg/L;不定芽增殖培养基为 MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L+椰子水 100 mL/L;生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L。

关键词 凤尾兰;组织培养;愈伤组织;不定芽

分类号 Q813.1

Tissue Culture in *Yucca gloriosa* Linnaeus

PANG Yi ZHANG YueXiong LUO Yuanhua MO Rao

(College of Agronomy, SCUTA, Danzhou, Hainan 571737)

Abstract Using the stem tip and tender stem shoot and leaf as the explants, the tissue culture of *Yucca gloriosa* Linnaeus was studied. The callus-inducing rate from the tender leaf was the highest and the induced calli from the tender stem were the best for subculture, while the induced calli from the stem tip produced best adventitious buds. The optimum media for each culture stages were: MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + sucrose 30 g/L for formation of callus; MS + 6-BA 8.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 30 g/L for callus subculture for multiplication; MS + 6-BA 5.0 mg/L + KT 1.0 mg/L + sucrose 30 g/L for inducing adventitious buds; MS + 6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L + CW 100 mL/L + sucrose 30 g/L for buds multiplication; 1/2 MS + NAA 0.2 mg/L + sucrose 30 g/L for rooting.

Keywords *Yucca gloriosa* Linn.; tissue culture; callus; induction; bud

凤尾兰(*Yucca gloriosa* Linnaeus)又名菠萝花,为百合科(Liliaceae)丝兰属(*Yucca* Linnaeus)常绿灌木。原产北美,具有较高的观赏价值,被塞舌尔定为国花。中国长江流域各地普遍栽培,是庭院绿化的理想花木,可植于花坛中,草坪或园林建筑之旁或门厅两侧;盆栽用于布置会场、客厅、会议室^[1]。凤尾兰具有很高的环保价值,对二氧化硫、氟化氢、氨气、氯气等有很强的抗性,并且能吸收有害气体,是工矿污染区的绿化佳品^[2]。此外,凤尾兰叶纤维韧性强,是加工缆绳的优良原材料。凤尾兰主要靠种子和营养繁殖方式进行繁殖,但繁殖系数

低,且有些地区的凤尾兰不结种子^[3]。凤尾兰的组织培养及快繁的研究尚未见报道^[3,4]。本文对凤尾兰的组织培养技术进行研究,建立快繁技术体系,为工厂化育苗提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

凤尾兰茎尖、幼嫩茎段、嫩叶。

1.2 方法

取健壮无病虫害的凤尾兰茎尖、幼嫩茎段、嫩叶,用自来水冲洗 30~40 min;在超净工作台上,

① 中国热带农业科学院、华南热带农业大学科技基金项目“几种热带药用植物离体快繁的研究”。

收稿日期:2006-06-19

责任编辑/曾莉娟

<http://rdnk.chinajournal.net.cn/>

E-mail: rdnk@chinajournal.net.cn

② 通讯作者。E-mail: xiaotaomo@163.net。

75% (体积分数) 酒精浸泡 10 s; 无菌水冲洗 2 次, 转入 1 g/L 的 HgCl_2 溶液中振荡浸泡 10 min; 无菌水漂洗 5~6 次。将消毒好的外植体切成小块接种于培养基中。各培养阶段皆以 MS 为

基本培养基, 添加不同的植物激素和 30 g/L 的蔗糖, 并加入 5.8 g/L 的卡拉胶作为固化剂, pH 5.8。培养温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照 $1500 \text{ lx} \times 10 \text{ h/d}$ 。

$$\text{愈伤组织诱导率} = \frac{\text{诱导出愈伤组织的外植体数}}{\text{接种的外植体数}}$$

$$\text{平均相对生长速率}^{[5]} = \frac{30 \text{ d 增加量}}{\text{原有数量}}$$

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导及增殖培养

不同激素组合对不同外植体愈伤组织诱导作用差异显著。接种 1 周后, 嫩叶开始膨大, 2 周后, 茎尖、幼嫩茎段也开始膨大, 3 周后, 外植体都不同程度的诱导出愈伤组织。结果表明: 激素组合 6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.20 mg/L 最适于愈伤组织的诱导培养 (图 1)。嫩叶的愈伤组织诱导率最高 (96%), 幼嫩茎段次之 (32%), 茎尖较低 (小于 10%)。

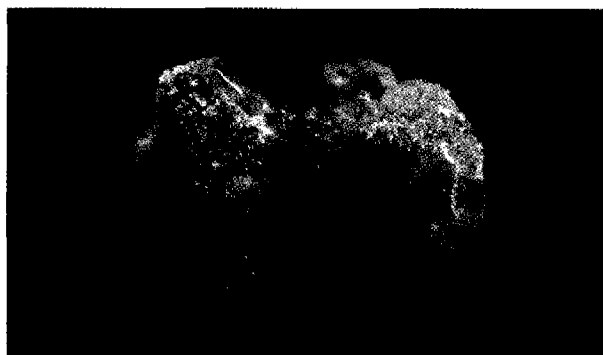


图 1 诱导的愈伤组织

不同外植体诱导出的愈伤组织于 6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.20 mg/L 培养基中培养 2 代, 使各愈伤组织的生理状况相对一致, 然后将其转入不同激素组合的培养基中培养, 30 d 后, 计算平均相对生长速率, 并观察愈伤组织的生长情况 (表 1)。

表 1 6-BA 与 NAA 配合对凤尾兰愈伤组织增殖的影响

培养基 编 号	培养基的成分			样本数 /瓶	愈 伤 组 织 增 殖 速 率			愈伤组织特点
	基本 成分	激素/(mg·L ⁻¹)			鲜 重 /g		平均相对生 长速率/%	
		6-BA	NAA		原鲜重	30 d 增重量		
愈伤①	MS	0.5	0.1	15	4.21	5.02	121.6	少量褐化, 结构疏松
愈伤②	MS	1.0	0.1	15	5.89	6.31	107.1	结构较致密, 生长较旺
愈伤③	MS	3.0	0.1	15	3.22	6.76	209.9	结构致密, 生长旺盛
愈伤④	MS	5.0	0.1	15	4.19	8.76	209.1	结构致密, 生长旺盛
愈伤⑤	MS	8.0	0.1	15	3.41	8.19	240.2	结构较致密, 生长旺盛
愈伤⑥	MS	10.0	0.1	15	3.50	6.26	178.9	结构疏松, 生长较旺盛

从表 1 可见, 6-BA 浓度较低时, 愈伤组织出现褐化、结构疏松; 随 6-BA 浓度增加, 愈伤组织结构越致密, 平均相对生长速率也不断增加; 当浓度为 10.0 mg/L 时, 出现抑制作用, 愈伤组织结构疏松, 平均相对生长速率明显下降。在 NAA 浓度为 0.1 mg/L 的条件下, 愈伤组织增殖培养最佳的 6-BA 浓度范围是 5.0~8.0 mg/L。在培养过程中, 愈伤组织体积逐渐增加, 其颜色呈乳白→淡黄→黄绿→绿的变化, 结构较致密。综合而言, 培养基 MS+6-BA 8.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 增殖的效果较好, 平均相对生长速率高达 240.2%。但不同来源的愈伤组织增殖效果不同, 且以嫩叶诱导的愈伤组织增殖最好, 其次为茎尖, 较次为茎段。

2.2 愈伤组织分化不定芽

将愈伤组织转接在不同激素组合的培养基中, 经 30 d 培养后, 淡黄色的愈伤组织块出现绿色的芽点, 40 d 后, 分化出芽。培养基 MS+6-BA 5.0 mg/L+KT 1.0 mg/L 对芽的诱导效果最好 (图 2), 不定芽多, 且健壮整齐, 诱导率为 83%; 培养基 MS+6-BA 0.5 mg/L+KT 5.0 mg/L 次之, 为 70%; 培养基 MS+6-BA 5.0 mg/L 诱导效果最差, 芽弱小, 不整齐, 诱导率仅为 36%。

此外, 不同外植体所分化出的愈伤组织在诱导不定芽时所需时间存在差异。初代培养 7 周后, 茎尖的愈伤组织首先诱导出不定芽; 10 周后, 幼嫩茎段愈伤组织诱导出不定芽; 13 周后, 嫩叶愈伤组织诱导出不定芽。不同部位外植体分化的不定芽在形态、大小、颜色、数量、密集程度以及分化动态等诸多方面都表现出明显的差异性 (表 2)。

2.3 不定芽继代增殖

将形成的丛生芽去掉基部的愈伤组织, 切成



图2 愈伤组织分化的不定芽



图3 继代增殖的不定芽

表2 不同来源的愈伤组织分化不定芽的情况

愈伤组织来源	分化时间/周	不定芽分化情况					分化动态	长势
		最初形态	最初颜色	数量	密集度			
茎尖	7	绿豆状突起	绿	多	大	先突起, 然后整体才逐渐向外展开		最好
幼嫩茎段	10	鳞状突起	淡黄	较多	中	先突起, 然后长出1~2片向外弯曲的叶, 最后才整体逐渐向外展开		一般
嫩叶	13	宝塔形	浓绿	较少	小	先突起, 叶不展开; 芽长8~10 mm时, 叶逐渐展开		好

2~4个芽块, 接种到不同的培养基上进行继代增殖培养。30 d后, 在各种增殖培养基上都能诱导出丛生芽, 且不同来源的不定芽其增殖率没有明

显差异。但不同的培养基对形成丛生芽的数量和质量有很大的区别。6-BA浓度高的, 芽苗粗壮, 长势旺盛、整齐、叶色浓绿(图3), 且增殖倍率可达3.6, 是不定芽增殖的理想培养基。6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L+100 mL/L椰子水(CW)组合的增殖效果更好, 增

殖系数达到了4.26。6-BA浓度低的, 芽苗细小瘦弱, 长势较差, 增殖倍率低(表3)。因此, 确定MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L+CW 100 mL/L为不定芽继代增殖培养基。

2.4 生根培养

将2~3 cm高的不定芽接种到不同的生根培养基中进行培养。结果表明, MS与NAA配合使用, 诱导凤尾兰不定芽生根的效果优于与IBA的配合, 详见表4。培养基1/2 MS+NAA 0.2 mg/L最适合凤尾兰的生根培养, 培养30 d后, 生根率可达100%;

表3 6-BA与NAA配合对凤尾兰不定芽增殖的影响

培养基编号	激素/(mg·L ⁻¹)		样本数/瓶	30 d增殖率		不定芽生长情况
	6-BA	NAA		增殖率	标准差	
芽增①	0	0	15	1.1	0.1744	茎细小、瘦弱
芽增②	0.5	0.05	15	1.9	0.1534	茎细小, 芽苗长势不整齐, 叶色淡绿偏黄
芽增③	2.0	0.05	15	2.0	0.0937	茎较粗壮, 芽苗长势较整齐, 叶色淡绿
芽增④	4.0	0.05	15	3.6	0.3353	茎粗壮, 芽苗长势旺盛且整齐, 叶色浓绿
芽增⑤	6.0	0.05	15	3.5	0.4592	茎较粗壮, 芽苗长势旺盛, 较整齐, 叶色浓绿

表4 不同激素浓度对生根培养的影响

培养基 编 号	培 养 基 的 成 分			接种 芽数 /个	生根数 /个	生根率 /%	生根情况
	基本 成分	激素/(mg·L ⁻¹)					
		NAA	IBA				
生根①	1/2 MS	0	0	40	36	90.0	根细长、多
生根②	1/2 MS	0.1	0	40	38	95.0	基部愈伤化轻, 根较粗, 较多
生根③	1/2 MS	0.2	0	40	40	100	基部愈伤化轻, 根粗, 根量适中
生根④	1/2 MS	0.5	0	40	39	97.5	基部愈伤化较重, 根粗, 较多
生根⑤	1/2 MS	0	0.5	40	36	90.0	基部愈伤化轻、疏松, 根量少
生根⑥	1/2 MS	0	1.0	40	34	85.0	基部愈伤化较重、疏松, 根量少
生根⑦	1/2 MS	0	2.0	40	35	87.5	基部愈伤化重, 根粗、根量少

40 d 可全部长成完整根系, 且根的基部愈伤化轻, 根粗, 根量适中, 苗高达 5 cm 以上(图 4)。

2.5 炼苗与移栽

将具有完整根系、苗高达 5 cm 以上的试管苗

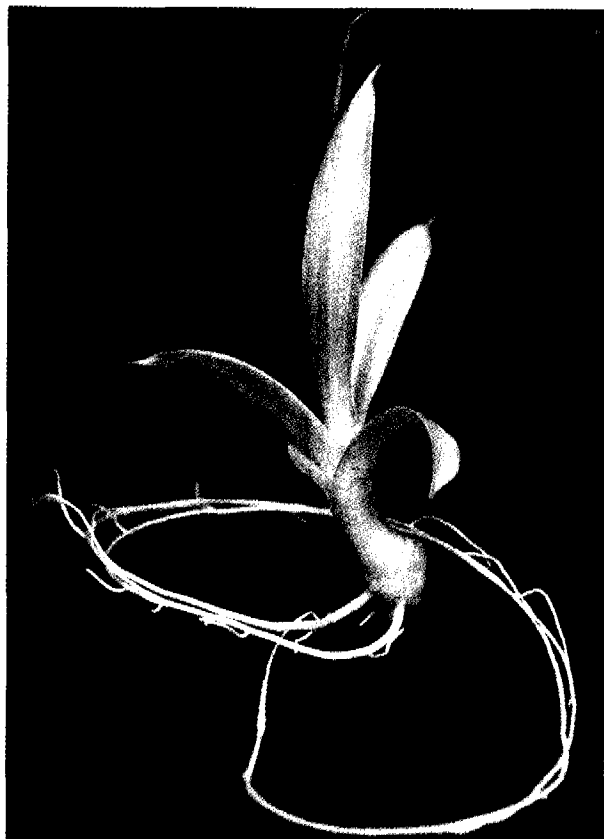


图 4 生根

置荫棚内炼苗 1 周; 打开瓶盖再炼苗 3~5 d 后, 进行移栽。移栽时, 小心取出试管苗, 洗去粘附在根系上的培养基, 用质量分数为 0.3% 的多菌灵水溶液浸泡 20 min, 再移植到由等体积河沙、表土、火烧土、椰糠配成基质的营养杯中, 注意遮荫保湿, 成活率可达 100%(图 5)。

3 结论与讨论

3.1 结论

嫩叶诱导愈伤组织率最高, 由茎段诱导的愈伤组织继代增殖最好, 由茎尖诱导的愈伤组织不定芽分化表现最佳。愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L; 愈伤组织增殖培养基为 MS+6-BA 5.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 诱导不定芽培养基为 MS+6-BA 5.0 mg/L+KT 1.0 mg/L;



图 5 育苗

不定芽继代增殖培养基为 MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L+椰子水 100 mL/L; 生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L。

3.2 讨论

① 凤尾兰的茎尖数目少, 茎段的诱导率低。而嫩叶的数目较多, 且愈伤组织诱导率高。因此, 快繁育种时, 选用嫩叶为外植体。

② 在激素组合适宜的条件下, 凤尾兰可以通过丛生芽和愈伤组织两种途径达到增殖, 是比较理想的多途径快繁方式。如果以保持原品种的优良性状为目的研究, 可采用不定芽增殖途径; 如果是对凤尾兰进行遗传操作的, 则可考虑采用愈伤组织的增殖途径。

参考文献

- 1 赵崇武. 园林花木小百科. 北京: 中国建筑工业出版社, 2002. 124
- 2 高尚士. 环保花卉——凤尾兰. 特种经济动植物, 2005, 8(7): 31
- 3 尚富德, 李锁平, 崔一蕾, 等. 凤尾兰胚胎学研究(1): 花粉粒的发育和胚囊的形成. 河南大学学报(自然科学版), 2000, 30(3): 44~46
- 4 邓运川. 凤尾兰炭疽病如何防治. 农村大众, 2005-09-26(1)
- 5 王 忠, 等. 植物生理学. 北京: 中国农业出版社, 2005. 336