

文章编号:1008-0171(2006)01-0077-04

华南可爱花组织培养快速繁殖技术研究

萧洪东, 聂磊, 王惠珍, 梁火娣

(佛山科学技术学院 园艺系, 广东 佛山 528000)

摘要:以华南可爱花(*Eranthemum austrosinensis*)茎段、腋芽为外植体, MS 为基本培养基, 探讨 6-BA, TDZ, NAA 和糖在华南可爱花离体培养中, 对愈伤组织诱导不定芽及 NAA, IBA 对不定芽生根和试管苗移栽成活率的影响。结果表明: 6-BA $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 MS + 6-BA $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + TDZ $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对愈伤组织诱导不定芽较好; $1/2\text{MS}$ + IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1/2 \text{MS}$ + NAA $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对促进华南可爱花不定芽生根效果较好, 试管苗移栽成活率达 95% 以上。

关键词:华南可爱花; 组织培养; 育苗

中图分类号: S68

文献标识码: A

华南可爱花(*Eranthemum austrosinensis*)又名喜花草, 爵床科可爱花属, 常绿灌木植物, 喜温暖, 怕低温, 最好将环境温度保持在 $18 \sim 28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 间, 环境温度不宜低于 $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[1]。适于室内盆栽, 且冬季开花, 花香淡淡, 可爱怡人。

上个世纪 90 年代以来, 南方山区随处可见的野生植物被广泛利用。华南可爱花、野牡丹、草果、桃金娘、细辛和蕨类也愈来愈深受园林界人士的垂青。但是这类植物的苗木大多是从乡村旷野中挖掘移植、扦插、分株、压条、嫁接等措施进行植株繁殖, 开发力度较大, 资源愈来愈少。本文采用组织培养方法, 研究培养基因子对诱导华南可爱花再生植株的影响, 为开发华南可爱花在园林绿化中的应用和保护野生华南可爱花资源提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

取生长健壮的华南可爱花植株为外植体。

1.2 方法

1.2.1 建立无菌系^[2]

将华南可爱花植株茎段用自来水冲洗干净, 并剥去植株外层老叶和叶鞘, 切掉茎尖嫩叶, 用洗洁精和软毛刷擦洗干净, 冲洗干净后沥干水分。然后将材料切成长度为 1 cm 左右的茎段(带腋芽或顶芽), 先经 75% 的酒精溶液消毒 15 s, 再将茎段置于 0.1% 的升汞(HgCl_2)溶液中浸泡 10~15 min 并摇动消毒液, 最后用无菌水冲洗 4~5 次。然后将茎段接入培养基 MS + 6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + TDZ $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中, 培养 20 d 左右, 侧芽部位会长出绿色的致密愈伤组织。

1.2.2 继代增殖

以 MS 为基本培养基, 添加不同浓度的 6-BA, TDZ 和 NAA 及 6-BA $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.1

收稿日期: 2005-11-25

基金项目: 佛山科技发展专项基金(No. 0102009A)

作者简介: 萧洪东(1967-), 男, 广东兴宁人, 佛山科学技术学院讲师。

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下添加不同质量的糖。将经诱导分化的愈伤组织切割后接种于培养基中,每个处理接 6 瓶,在温度为 $20 \sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$,光照度 $1\,500 \sim 2\,000\text{ lx}$,光照时间为 $12\text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 下培养 28 d 后统计出芽率,重复三次,并记录总芽数和出苗数。

1.2.3 诱导生根

生根试验中,在 MS, 1/2MS 条件下,添加不同浓度的 IBA 和 NAA。选健壮无根苗接种,每瓶 3 苗,每个处理接 6 瓶,28 d 后统计生根率与发根条数,重复三次。

1.2.4 试管苗移栽

培养 30 d 后,株高达 30 mm 左右时,即可进行移栽。移栽前统计试管苗的苗高、根长和条数、叶片数。为了提高试管苗移栽的成活率,还应在移栽前进行炼苗。首先将试管瓶移到阴棚下培养 3~5 d,再将瓶盖打开继续培养 3~4 d,空气相对湿度要保持在 $80\% \sim 90\%$ 之间,温度在 $23 \sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间。然后洗去根部培养基,移入砂和已堆沤腐熟的椰子壳混合(2:8)苗床上,应特别注意做好保温、保湿(湿度保持在 80% 以上)、遮光等管理工作。

2 结果与分析

2.1 6-BA 对愈伤组织诱导不定芽的影响

在一定浓度范围内,随着 6-BA 浓度增加,诱导不定芽株数不断增加,当 6-BA 浓度达到 0.6 时,增殖倍数达到最大值 6.55。随着 6-BA 浓度增加,不定芽的苗数反而不断减少(见表 1),说明 6-BA 浓度较低时有利于诱导不定芽。

表 1 6-BA 对愈伤组织诱导不定芽的影响

处理	激素组合($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	原不定芽数(株)	不定芽数(株)	增殖倍数	生长状态
1	6-BA 0.2+NAA 0.1	4.10	18.33	4.47	苗较幼小,叶较绿,生长较好
2	6-BA 0.4+NAA 0.1	2.83	14.70	5.19	苗较壮,叶深绿,生长较好
3	6-BA 0.6+NAA 0.1	2.78	18.22	6.55	苗较高,叶青绿,生长最好
4	6-BA 0.8+NAA 0.1	2.75	11.50	4.18	苗幼小,叶青绿,生长一般
5	6-BA 1.0+NAA 0.1	3.33	11.95	3.59	苗壮,叶深绿,生长较好

注:不定芽普遍健壮、较高大且整齐的划分为“最好”级;材料生长情况较好,但芽的高度参差不齐的划分为“较好”级;材料生长情况一般的划分为“一般”级;材料瘦弱,甚至有枯黄、萎蔫现象的划分为“较差”级^[3]。以上数据取三次试验的平均值(下同)。

2.2 TDZ 对诱导芽分化的影响

TDZ (Thidiazuron)是近年来发现的一种人工合成的具有细胞分裂素活性的物质,其分子式为 $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_4\text{OS}$,分子量为 220.2,化学名称为 N' -苯基-1,2,3-噻二唑-5-脲。在培养基中添加低浓度 TDZ 能促进愈伤组织生长,促进侧芽及不定芽发生,促进胚状体的形成^[4]。从表 2 中可以看出,TDZ 对诱导不定芽有促进作用,浓度较低时(TDZ 0.05),不定芽增殖倍数最大,达 7.54,随着浓度的增加增殖倍数不断减少。

表 2 TDZ 对诱导不定芽的影响

处理	激素组合($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	原不定芽数(株)	不定芽数(株)	增殖倍数	生长状态
1	6-BA 0.4+NAA 0.1+TDZ 0	2.83	14.70	5.19	苗较壮,叶较绿,生长较好
2	6-BA 0.4+NAA 0.1+TDZ 0.05	3.12	23.52	7.54	苗较壮,叶深绿生长最好
3	6-BA 0.4+NAA 0.1+TDZ 0.10	2.58	16.10	6.24	苗较高,叶青绿,生长较好
4	6-BA 0.4+NAA 0.1+TDZ 0.15	2.95	17.37	5.89	苗壮,叶青绿生长较好
5	6-BA 0.4+NAA 0.1+TDZ 0.20	3.32	18.86	5.68	苗壮,叶深绿,生长较好

2.3 糖对愈伤组织诱导不定芽的影响

糖类在培养基中除了作为碳源合能源外,还具有维持培养基一定渗透压的作用,糖的适宜浓度一般为 $2 \sim 4\%$ ^[4]。据王侠礼^[5]对香花槐微体快繁的研究表明蔗糖对诱导不定芽、愈伤组织有一定的促进作用。表 3 结果表明,在 6-BA 0.6+NAA 0.1 时,糖浓度 $30\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 不定芽增殖倍数最大,达到 5.71,苗壮,整齐度好,且有 3~5 条粗根,对诱导不定芽较为合适。

表 3 糖对诱导不定芽的影响

处理	糖浓度 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	原不定 芽数(株)	不定芽 数(株)	增殖倍数	生长状态
1	25	5.00	16.80	3.36	苗较壮,叶青绿生长一般
2	30	4.29	24.49	5.71	苗壮,叶绿,有粗根,生长最好
3	35	3.71	14.72	3.97	苗较壮,叶青绿有长根生长较好
4	40	3.67	15.85	4.32	苗较壮,叶青绿,有长根,生长较好

注:MS(不加糖)+6-BA 0.6+NAA 0.1

2.4 在 MS,1/2MS 条件下,IBA,NAA 对不定芽生根的影响

表 4,5 结果表明,无论在 MS,1/2MS 培养基中,添加 NAA,IBA 的每株平均根数、生根率、试管苗移栽成活率均高于不加 NAA,IBA;在 MS 培养基中均是 NAA,IBA 浓度为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 效果较好;在 1/2MS 培养基中,NAA 的效果比 IBA 的效果要好;无论是添加 NAA 还是 IBA,1/2MS 培养基的效果均好于 MS 培养基,以 1/2MS+IBA 0.2 和 1/2 MS+NAA 0.4 效果最好。

表 4 在 MS,1/2MS 条件下,IBA 对不定芽生根的影响

处理	激素	出根 /d	平均根 数(株)	生根率 /%	成活率 /%	
1	MS+IBA 0	15.67	4.5	52.56	84.80	出根少,根有 3~10cm 长,有须根,生长一般
2	MS+IBA 0.2	12.25	8.8	85.22	86.36	根较粗且多,有 5~10cm 长,有须根,生长较好
3	MS+IBA 0.4	12.33	11.1	81.11	91.23	根有 5~10cm 长,须根多,生长最好
4	1/2MS+IBA 0	13.20	6.33	66.67	86.25	出根较多,根幼且长,有须根,生长一般
5	1/2MS+IBA 0.2	12.67	11.67	83.33	95.12	根有 15cm 长,较粗,多须根,生长极好
6	1/2MS+IBA 0.4	12.10	9.67	85.00	96.64	根长,须根多,生长较好

表 5 在 MS,1/2MS 条件下,NAA 对不定芽生根的影响

处理	激素	出根 /d	平均根 数(株)	生根率 /%	成活率 /%	
1	MS+NAA 0	14.23	8.00	58.33	86.64	出根少,根细长,有须根,生长较差
2	MS+NAA 0.2	12.23	17.20	88.33	88.19	根粗,须根粗且长,生长极好
3	MS+NAA 0.4	12.53	12.60	91.67	93.28	根粗但较短,大部分有须根,生长较好
4	1/2 MS+NAA 0	13.10	10.30	75.00	92.13	根幼且长,有须根,生长一般
5	1/2 MS+NAA 0.2	12.35	15.10	85.00	96.24	根较长且粗,须根多且长,生长较好
6	1/2 MS+NAA 0.4	12.55	27.67	87.50	98.00	根粗且长,须根多、长且粗,生长极好

3 小结与讨论

(1)试管苗生产的最终目的是大量、快速繁殖优良种苗。因此,如何培养健壮试管苗、提高试管苗移栽的成活率,从而降低成本是每个生产者都十分关注的问题。本试验对华南可爱花诱导芽分化增殖和不定芽生根情况进行了初步的研究。结果表明:MS+6-BA $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 MS+6-BA $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +TDZ $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对诱导不定芽分化增殖能力较好;蔗糖对诱导芽分化增殖不明显;在生根试验中以 1/2MS+IBA 0.2 和 1/2 MS+NAA 0.4 对促进可爱花不定芽生根效果较好,试管苗移栽成活率达 95%以上。

(2)在试验过程中,出现部分试管苗玻璃化现象。对试管苗的玻璃化现象的研究曾有报道,有人认为玻璃化苗植物是内部生理失调的外在表现^[7],也有人认为形态结构上的畸形导致了功能上的障碍,或是一些生理指标的变化表现出玻璃苗的特征^[8],还有人认为培养基中的水分和相对湿度是导致玻璃化的主要原因^[9]。同时也出现了随着室温的变化而导致生长滞后。在植物组织培养中,不同植物繁殖的最适温度不同,大多为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。这些问题有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 徐汉卿.植物学[M].北京:中国林业出版社,2005:1.
- [2] 萧洪东,聂磊,王惠珍.华南可爱花的组织培养快速繁殖[J].植物生理通,2005,40(4):460.
- [3] 林勇.植物生长调节剂在我省农业生产中的应用现状与发展前景.[EB/OL]http://seek.163.com/dir/company/agriculture-company/farming/.

- [4] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1997:55-75.
- [5] 王侠礼. 糖和激素对香花槐微体快繁的影响[J]. 山东林业科技,2004,(05):15-16.
- [7] 张洪胜,牟云官,辛培刚. 苹果离体培养中试管苗玻璃化现象发生机理探讨[J]. 果树科学,1991,8(2):71-74.
- [8] 卜学贤,陈维伦. 试管植物的玻璃化现象[J]. 植物生理通讯,1987. 23(5):13-19.
- [9] ZIVM, MEIRG, HARLEVYA. Factors influencing the production of hardened glaucous carnation plantlets in vitro[J]. Plant Cell. Tissue and Drgan Culture,1982,2(1):55-65.

The effect of culture factors in propagation of *eranthemum austrosinensis*

XIAO Hong-dong, NIE Lei, WANG Hui-zhen, LIANG Huo-di

(Horticulture Department, Foshan University, Foshan 528000, China)

Abstract: The stem segments and the auxiliary buds of *Eranthemum austrosinensis* as the explants were cultured on MS elementary culture medium. This experimentation was to research into the effect of 6-BA, IBA, NAA and sucrose on inconstant buds of callus induction, callus induction's seedling radication and cuvette seedling's transplanting survival. The results shew that it was more suitable for inconstant buds of callus induction with 6-BA $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and 6-BA $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + TDZ $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and 1/2MS + IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and 1/2MS + NAA $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ to better accelerate inconstant buds growth and radication. Seedling's transplanting survive rate achieved 95% upwards.

Key words: *eranthemum austrosinensis*; tissue culture; grow seeding