

• 生物技术

水牡丹的组织培养与快速繁殖

许继勇^{1,2}, 麦瑜玲², 林书瀚², 夏时云³

(1. 广东省汕头投资建设总公司, 汕头 515041; 2. 汕头市中蔬花卉有限公司, 汕头 515041; 3. 天津市农业生物技术研究中心, 天津 300192)

摘要:研究了水牡丹幼嫩花序离体培养中愈伤组织和芽诱导的适宜培养基和 6-BA 与 2,4-D 浓度, 诱导培养基中 6-BA 和 2,4-D 的最佳组合。结果表明:水牡丹幼嫩花序离体培养中愈伤组织和芽诱导以 MS 为基本培养基, 加入 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA, 配合 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 效果最好, 继代增殖培养以 MS 为基本培养基, 激素以 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 和 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT, $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 时效果较佳。水牡丹离体培养和快繁中无需另作生根培养。但移栽成活率只有 60% 左右。

关键词:水牡丹; 幼嫩花序; 离体培养

中图分类号:S685.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-6500(2007)01-0012-02

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Haworthia arachnoidea* var. *setata*

XU Ji-yong^{1,2}, MAI Yu-ling², LIN Shu-han², XIA Shi-yun³

(1. Shantou Invest Construction General Company, Shantou, Guangdong 515041, China; 2. Shantou Zhongshu Flower Company Ltd., Shantou, Guangdong 515041, China; 3. Tianjin Agricultural Biotechnology Research Center, Tianjin 300192, China)

Abstract: In this study, a protocol for plant regeneration from inflorescence pieces was established. It involved the culture of 1~2 cm long pieces of inflorescence stem on MS medium, $30.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose, $7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agar, $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT, $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA and $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA. The callus were transferred to fresh medium with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA, $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT, $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, where bulblet developed. It had no necessary for root induction. However the survival rate of plants transplanted on a large scale was only 60%.

Key words: *Haworthia arachnoidea* var. *setata*; immature inflorescence; in vitro culture

1 供试材料

水牡丹(*Haworthia arachnoidea* var. *setata*)的花序。

2 培养条件

基本培养基为 MS。

2.1 诱导愈伤组织或芽培养基

- (1) MS+6-BA $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;
- (2) MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;
- (3) MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;
- (4) MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2 增殖培养基

- (5) MS+KT $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;
- (6) MS+KT $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;

- (7) MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 复壮和生根培养基

- (8) 1/2MS+IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

上述培养基(1)~(7)中加蔗糖 3.0%; 培养基(8)中改加 2.5% 白砂糖, $6.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 卡拉胶, pH 5.8~6.0, 培养温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照 $14 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$, 光照度为 $27 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

3 生长与分化情况

3.1 无菌材料的获得

剪取植株还未花的花序, 清水冲洗 20 min, 在超净台上用 75% 酒精浸泡 30 s, 无菌水冲洗 3 次, 置于 0.1% HgCl₂ 溶液中, 加吐温-80 1~2 滴, 不断摇动, 灭菌 10 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 无菌滤纸吸干, 用手术刀切去两端, 再切段接种于诱导愈伤

收稿日期: 2006-09-05; 修订日期: 2007-02-09

基金项目: 广东省汕头投资建设总公司“名优花卉组培快繁与产业化研究”项目(1999104)

作者简介: 许继勇(1953—), 男, 广东汕头人, 工程师, 主要从事名优花卉组培快繁与产业化的研究。

组织或芽培养基(1)~(4)中。

外植体接种 12~15 d 后,可见明显膨大。25 d 后,在切口边缘产生许多淡黄绿色的愈伤组织和丛生芽。25 d 调查时,这 4 种培养基的出愈率分别为 25.0%,50.0%,75.0%和 87.5%,培养基(4)和(3)出愈率明显高于(1)和(2)。培养基(4)的出愈率高且愈伤组织成团块,易分化出丛生芽。说明 6-BA 浓度太高或太低对愈伤组织和芽的诱导均无好处,适当浓度的 6-BA 和 KT 与低浓度的 NAA 合理搭配,对愈伤组织和芽的诱导有明显的促进作用。

4.2 丛生芽的增殖

将愈伤组织和丛生芽切下,转接于培养基(5)~(7)上进行增殖培养 20 d。3 种增殖培养基均有一定的增殖效果。而培养基(7)的增殖效果相对较好,每 25~30 d 即可获得 7~9 倍的增殖速度,其他两种培养基稍差,特别在培养基(5)中,增殖速度较慢,愈伤组织发育不良,生长停止或逐渐死亡。愈伤组织在培养基(7)中培养,生长发育良好,易出现很多小芽,并长成植株。

4.3 生根与移栽

切取增殖培养中的芽苗接种于培养基(8)中,培养 13~15 d,可见到新生的白色根系 5~6 条,根系粗壮,生根率在 90%以上。培养 25~30 d 后,植株高 1.5~2.0 cm,将培养瓶移于常温室内,利用自然光照培养 7~10 d,打开瓶盖,再炼苗 2~3 d 后,取出小苗,用清水洗净附着的培养基,用 1 000~1 500 倍多菌灵溶液浸泡 10 min,在报纸上晾干并自然干燥 1~2 d,待植株刚见蔫时,移栽于蛭石或蛭石与珍珠岩混合的基质中,栽后浇少量水,用薄膜盖住,不要让植株与薄膜直接接触,以免植株腐烂。每天透风 2 次,3~4 d 浇 1 次水,并且光照

不要太强。成活后,每月喷洒杀菌剂一次。但目前植株移栽成活率只有约 50%。

5 意义与进展

“水牡丹”是百合科十二卷属(国内称“瓦苇属”或“蛇尾兰属”)的稀有名贵品种之一。叶上密生细毛,欣赏价值高,休眠时植株会向内缩成球形以保护中心的生长点。目前,该品种在日、美和欧洲国家及港澳台地区很流行,国内仅在北京、上海、福建、浙江等地的多肉植物爱好者中有少量养殖,数量极少,价格高。其常规繁殖主要依靠分株,繁殖系数小,无法满足市场需求。我们用“水牡丹”的花序作外植体,采用组培快繁技术,诱导出愈伤组织和再生植株,培养了一批小苗已移栽成活。但其植株移栽成活率偏低,提高这类多肉植物试管植株成活率的方法尚待研究。国内外关于十二卷属植物个别品种的组培快繁已有报道,但还未见“水牡丹”这一名贵品种组培快繁的报道。本试验所采用的组培和栽培技术与方法对同属内其他园艺栽培品种具有重要的指导和借鉴意义。

参考文献:

- [1]荆娟,谭文澄.条纹十二卷的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2001,37(1):36—37.
- [2]孙涛,李德森.截形十二卷的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2002,38(6):586.
- [3]孙涛,李德森.康平寿的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003,39(3):233.
- [4]夏时云,孙涛,李德森.杂交寿的无菌播种、筛选、快速繁殖与离体种质保存[J].华北农学报,2004,19(4):114.