

虎刺梅愈伤组织的诱导和快速繁殖

李修岭¹, 相洪丽² (1. 临沂师范学院生命科学院, 山东临沂 276005; 2. 南坊中学, 山东临沂 276005)

摘要 以虎刺梅不同部位为试验材料, 不同浓度 6-BA、NAA 进行愈伤组织的诱导和快速繁殖。结果表明, MS 培养基附加 6-BA 0.5 mg/L + NAA 1.0 mg/L 的激素组合对花柄愈伤组织诱导效果最佳; 将产生的愈伤组织团转入分化培养基中诱导不定芽, 其最適分化培养基为 MS 附加 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; 再生苗在附加 6-BA 2.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L 的 MS 培养基上生根培养效果较好。

关键词 虎刺梅; 组织培养; 愈伤组织诱导; 再生苗; 快速繁殖

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)18-4572-02

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Euphorbia millii* var. *Splendens*

LI Xiu-ling et al (College of Life Science, Linyi Normal University, Linyi, Shandong 276005)

Abstract To explore the effective and rapid propagating method of *Euphorbia millii* var. *Splendens*, the stem, flower stalk and leaf of *Euphorbia millii* var. *Splendens* were selected as explants for callus induction and propagation. The experiment was carried out under the conditions of different concentration of 6-BA and IAA. It was showed that MS medium supplemented with the combination of 6-BA 0.5 mg/L and NAA 1.0 mg/L was the best to callus induction with section flower stalk as explants. The optimum differentiation medium for regeneration of shoots was MS medium with 6-BA 3.0 mg/L and IAA 0.2 mg/L. The plantlets were rooted on MS medium with 6-BA 2.5 mg/L and IAA 0.5 mg/L with good results. Therefore both of stem and flower stalk can be used as explants. Since the quantity of section flower stalk was large and the materials were easily gathered, the inducing effect of callus was much better than stem, and flower stalk was also considered as an ideal explants for callus induction and propagation.

Key words *Euphorbia millii* var. *Splendens*; Tissue culture; Callus induction; Plantlets; Rapid propagation

虎刺梅 (*Euphorbia millii* var. *Splendens*) 又名铁海棠、麒麟花、麒麟刺, 原产于非洲南部, 属大戟科大戟属多年生灌木状多浆植物。它喜温暖, 不耐寒, 喜充足阳光; 对土壤要求不严, 耐瘠薄、干旱, 怕水渍。虎刺梅茎内多肉, 全身具乳汁; 小叶单生, 无柄, 鲜绿色; 顶生聚伞花序, 有总梗, 先端分叉, 花小型, 苞片大红色, 2 枚, 呈扁扇状, 形似花瓣, 四季开花。虎刺梅已成为我国常见的盆栽观赏花卉。通过组织培养诱导的愈伤组织和丛生芽可以高效地诱导突变, 改良品种, 加速虎刺梅栽培品种的培育。但是, 有关虎刺梅诱导愈伤组织及植株再生的研究尚未见报道。为此, 笔者对虎刺梅的组织培养和快速繁殖技术进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料 供试虎刺梅种源来自临沂师范学院生命科学院植物示范区。

1.2 培养基

(1) 愈伤组织培养基。MS + 6-BA (0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/L) + NAA (0, 0.01, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50, 1.00, 2.00

mg/L), 共有 48 种组合。

(2) 芽诱导培养基。MS + 6-BA (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/L) + NAA (0, 0.01, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50 mg/L), 共有 25 种组合。

(3) 根诱导培养基。1/2MS + NAA (0.0, 0.05, 0.10, 0.20 mg/L), 共有 4 种组合。

所有培养基中加琼脂 8.0 g/L, 诱导培养基中附加蔗糖 30 g/L, 生根培养基中附加蔗糖 15 g/L, pH 值调至 5.8。

1.3 培养条件 植物人工气候培养箱, 培养温度 (25 ± 1) °C, 光照强度 2 000 lx, 光照 12 h/d。

1.4 方法 剪取虎刺梅生长良好的茎段、叶、花柄, 用自来水冲洗 1~2 h, 对茎段可在自来水下用毛刷刷去表面灰尘, 然后将材料置于小烧杯中。在超净工作台上, 用 75% 酒精对茎段、叶、花柄进行表面消毒 30 s, 再放入 0.1% 升汞中消毒 7~8 min。消毒后采用 3 种处理方式: ①用无菌水冲洗 5~6 次; ②无菌 1/2 Hoagland 溶液冲洗 5~6 次; ③无菌 Hoagland 溶液冲洗 5~6 次。

表 1 不同激素浓度和比例对虎刺梅愈伤组织诱导率的影响

NAA//mg/L	6-BA//mg/L																	
	0.1			0.5			1.0			1.5			2.0			2.5		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0	25	20	28	30	25	33	28	20	25	25	20	30	20	11	30	12.5	0	20
0.01	30	22	33	33	30	42	30	25	33	28	20	42	30	11	28	30	11	28
0.05	33	30	42	30	28	50	30	28	42	30	25	40	28	12.5	28	28	12.5	30
0.10	33	28	50	33	25	50	28	28	50	30	25	40	30	22	33	30	22	33
0.20	33	25	50	37.5	30	87.5	33	25	55.5	33	28	50	28	25	37.5	28	25	37.5
0.50	37.5	30	87.5	67.7	40	90	37.5	30	87.5	37.5	30	55.5	30	25	40	30	20	40
1.00	67.7	50	90	77.7	50	100	67.7	44	87.5	50	30	66.7	33	28	55.5	37.5	25	50
2.00	50	44	88	50	44	88	42	33	75	40	28	50	37.5	22	50	33	12.5	42

注: A 为茎段; B 为叶; C 为花柄。

在无茵条件下, 将茎段切割成 0.5 cm² 大小的楔型组织块, 叶切割成 0.5 cm² 大小组织块, 花柄切成 0.5 cm 长的小

段, 然后将外植体分别接种到愈伤组织诱导培养基上; 最后, 将茎段、叶、花柄置于植物人工气候培养箱内培养。培养 7 d 后观察消毒处理情况, 剔除污染瓶, 并且在处理后 15.30 d 观察、统计结果。剪下诱导培养基中发出的新枝, 分别接种到继代培养基和生根培养基中, 培养 20 d 后观察、统计结果。

作者简介 李修岭 (1971-), 男, 山东临沂人, 讲师, 从事植物生理方面的研究。

收稿日期 2006-08-17

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导 表 1 表明, 6-BA 0.5 mg/L + NAA 1.0 mg/L 组合诱导愈伤组织的效果最好。花柄接种在培养基上 8 d 后, 部分边缘伤口增厚, 呈白色颗粒状细胞团, 部分中部膨大, 有些愈伤组织细胞团呈红色, 这些细胞团在诱导培养基上可以继续生长, 若延长培养时间则有些可以直接分化出绿色芽点; 茎段外植体接种在培养基上 10 d 后增大、变厚, 切面破裂长出愈伤组织细胞团, 呈白色颗粒状, 随时间延长而增长, 但茎段出愈率低于花柄, 叶片出愈率低于茎段, 同时总的长势以叶片为差。这 3 种外植体愈伤组织经培养可大量增殖, 在愈伤组织增殖过程中有些可分化出新芽。

2.2 消毒后 3 种处理方式对愈伤组织诱导的影响 表 2 表明, 消毒后采用的 3 种处理方式对不同外植体愈伤组织的诱导有明显差异。花柄在无菌 1/2 Hoagland 溶液、无菌 Hoagland 溶液冲洗后比单纯用无菌水冲洗出愈率明显提高, 无菌 1/2 Hoagland 溶液、无菌 Hoagland 溶液冲洗处理达到同样的效果; 茎段在不同处理下出愈率不同, 以无菌 Hoagland 溶液最高, 无菌 1/2 Hoagland 溶液次之, 无菌水最低; 叶片未见影响。

表 2 消毒后 3 种处理方式对虎刺梅愈伤组织诱导的影响

处理	茎段	叶	花柄
①	+	+	+
②	++	+	+++
③	+++	+	+++

2.3 愈伤组织分化成再生苗 将 3 种外植体生成的愈伤组织细胞团转接到含有不同浓度组合的丛芽培养基上。研究发现, 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 效果最佳。培养 15 d 后外植体愈伤组织细胞团大部分都能够分化出绿色芽点, 且随时间的延长生成再生苗。将再生苗转接到含 6-BA 2.5 mg/L

+ NAA 0.5 mg/L 的生根培养基上, 培养 15 d 左右, 分化出较多短粗的不定根。随着时间的延长, 根不断伸长, 而且出现许多侧生根, 成为白色的根系, 同时再生苗叶片也增多, 成为完整植株。

2.4 再生苗的移栽 取出并洗净长成完整植株的约 4 cm 再生苗, 直接移栽到培养钵中, 保持湿润。研究发现, 95% 以上再生苗均能成活。2 周后, 可移植至一般土壤中, 按常规管理即可。

将腐叶土、园土、河沙等量混合作盆栽培养土。生长季节保持盆土湿润, 每月追施 1 次液肥。植株喜光, 全年都应给予充足光照。10 月上旬入室, 越冬温度不低于 10℃, 每年需翻盆换土 1 次。

3 讨论

(1) 试验表明, 虎刺梅组织培养对培养条件要求不高。试验处理都可以诱导愈伤组织和分化不定芽。经对比试验, 以花柄段作为外植体在含 6-BA 0.5 mg/L + 2,4-D 1.0 mg/L 的培养基上诱导愈伤组织效果最好, 茎段次之。

(2) 消毒后处理方式对不同外植体愈伤组织的诱导有明显影响。选用花柄作为外植体时, 建议采用无菌 1/2 Hoagland 溶液冲洗; 选用茎段作为外植体时, 建议采用全 Hoagland 溶液冲洗; 选用叶片作为外植体时, 建议采用无菌水冲洗。但是, 这些处理方式是否适合其他物种, 有待于进一步研究。

(3) 试验表明, 以虎刺梅的不同部位作为外植体诱导的愈伤组织最终都能分化再生苗, 其主要区别在于对愈伤组织的诱导率不同。因此, 虎刺梅全茎均可作为组培快繁的外植体, 但花柄的快繁效果最佳。由于花柄段数量较大, 易取材, 且效果明显, 所以花柄段是虎刺梅组培快繁的理想外植体。

参考文献

[1] 李玉梅, 高尚士. 虎刺梅[J]. 特种经济动植物, 2002(8): 36.

(上接第 4558 页)

2.3 不同处理对大白菜产量的影响 从表 3 可以看出, 不同浓度的维生素 C 都可以明显提高大白菜的单株重和产量, 其中以 70 mg/L 维生素 C 处理效果最明显, 提高幅度达 19%, 与对照的差异达到了 0.01 水平显著, 其余处理与对照的差异也都达到了 0.05 水平显著, 可见维生素 C 对大白菜的增产效果非常好。

3 结论与讨论

采用不同浓度的维生素 C 对大白菜进行叶面喷施, 可以促进大白菜生长, 使连座叶增大, 光合面积增加, 叶绿素含量提高, 光合作用加强, 光合产物增多, 从而大大提高了大白菜的产量。总糖和维生素 C 含量是大白菜品质的重要指标。试验表明, 各处理都不同程度地提高了大白菜球叶的总糖和维生素 C 含量, 从而提高了大白菜的品质。综合

各项指标, 在该试验范围内, 以 70 mg/L 维生素 C 处理效果最好, 各项指标与对照的差异都达到了 0.01 水平显著, 随着处理浓度的增加或减小, 效果逐渐减弱, 10 mg/L 维生素 C 处理效果最差, 部分指标与对照不存在差异, 但都没有负作用。至于在其他蔬菜上的应用效果还有待进一步试验。

参考文献

- [1] 张百俊, 李贞霞, 陈碧华, 等. 维生素 C 对黄瓜幼苗质量及光合特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(4): 612 - 613, 685.
- [2] 孙艳, 崔洪文, 尹明安, 等. 抗坏血酸对黄瓜种子萌发及组培苗生长的影响[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1996, 10(4): 72 - 74.
- [3] 叶陈亮, 柯玉琴, 陈伟. 抗坏血酸浓度对青花菜花蕾衰老的影响[J]. 福建省农科院学报, 1996, 11(4): 43 - 47.
- [4] 黄荣茂, 刘刚, 张志广, 等. 6% 抗坏血酸水剂茂丰对小麦增产效果研究[J]. 贵州大学学报, 2002, 19(3): 252 - 255.
- [5] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [6] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.