

百子莲组织培养及植株再生研究

胡仲义, 何月秋

(宁波城市职业技术学院 环境学院, 浙江 奉化 315502)

摘要:以百子莲花蕾为外植体, 成功建立了其离体再生体系。结果表明: 百子莲花蕾在诱导培养基 MS+6-BA 4 mg/L+NAA 0.1 mg/L 可分化出不定芽; 在 MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.2 mg/L+GA₃ 0.1 mg/L 培养基上, 百子莲不定芽增殖倍数可达到 5.07; 百子莲不定芽适宜的生根培养基为 1/2MS+NAA 0.1 mg/L+AC 0.1 g/L, 生根率可达 100%, 且百子莲组培苗移栽 1 个月后成活率可达 95% 以上。

关键词:百子莲; 花蕾; 不定芽; 植株再生

中图分类号:S 682.1⁺9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)10-0118-03

百子莲(*Agapanthus praecox* ssp.) 是原产于南非的多年生根茎类花卉, 又名非洲百合、百子兰、蓝花君子兰、紫穗兰等, 素有“爱情之花”的美誉, 目前研究者对其分类地位还不统一, 曾被归为百合科(Liliaceae)、葱科(Alliaceae)或石蒜科(Amaryllidaceae)的亚科(Agapanthoideae), 近期还有学者将其单独归为一科—非洲百合科(Agapanthaceae)^[1]。百子莲植株秀丽, 叶色浓绿, 花茎挺立, 花型优雅, 花色淡雅, 不但是非常理想的地被和花境植物材料, 而且也是很好的鲜切花材料, 同时也可用作药用成分的提取, 目前已成功应用在上海世博绿化景观^[2], 这必将在上海及周边城市绿化景观上起到示范效应, 市场对百子莲需求将逐步加大, 开发前景广阔。我国于 2000 年对百子莲进行引种栽培, 栽培研究发现, 百子莲多数不结果或种子不能萌芽或分化严重, 生产上多采用分株方法进行种苗繁殖, 但繁殖速度缓慢、繁殖系数低, 且小苗生长不快, 需栽培 4~5 a 才能开花; 而组织培养的方法则可大大加快百子莲的繁殖速度, 缩短繁殖的周期。同时, 百子莲高效稳定的离体再生体系, 可为百子莲的新品种选育提供良好的操作平台。

百子莲属植物引入我国时间不长, 对其组培技术的报道比较少见, 仅见康玲^[3]以百子莲的根茎部和叶片为外植体进行组培研究, 但未获得生根; 中国绿色时报报道上海兆植物速生技术有限公司获得了百子莲的组培苗^[4]。现以百子莲的花蕾为外植体, 获得了百子莲的

组培再生体系, 为进一步深入研究百子莲的分类地位和育种技术提供了良好的操作平台。

1 材料与方法

1.1 百子莲初代培养物的建立

以宁波鄞州绿城园艺花卉培育基地种植的百子莲花蕾为外植体。6 月份从田间将百子莲刚形成的花蕾(长度为 1 cm 左右)连同花梗采回实验室。先用洗洁精进行表面清洗, 后用流水冲洗 4~5 次。分装好后移至超净工作台用 75% 乙醇浸泡 30 s 后用 0.1% 升汞处理振荡灭菌 10 min, 然后用无菌水冲洗 5~6 遍, 再用消毒滤纸吸干表面水分, 然后用解剖刀将花蕾苞片剥除, 并对半剖开接种至 MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 和 MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 2 种诱导培养基。

1.2 百子莲不定芽的增殖培养

将已经分化的百子莲不定芽切割下来, 以每 3 个或以上的不定芽为 1 芽丛转接至以 MS 为基本培养基, 以不同 6-BA、NAA、GA₃ 等作为植物生长调节物质进行调配。其中 6-BA 设 1.0、2.0、3.0 mg/L, NAA 设 0.1、0.2、0.3 mg/L, GA₃ 设 0.05、0.1、0.2 mg/L 3 个水平, 采用 L₉(3⁴) 正交实验设计, 共 9 个增殖培养基, 每种增殖培养基接种 30 个不定芽, 3 次重复。定期观察并记录不定芽增殖情况, 30 d 后统计各组试验的新芽个数、新芽生长情况。

1.3 百子莲不定芽的生根培养

待不定芽长至 2~3 cm 左右, 将其转入以 1/2MS 为基本培养基添加 NAA 为 0、0.05、0.1 mg/L 和 1.0 g/L AC 的生根培养基中, 每 5 d 观察并记录不定芽生根情况, 20 d 后统计根长及苗生长状况。以上培养基中除生

第一作者简介:胡仲义(1967-), 男, 本科, 副教授, 研究方向为植物基础。

收稿日期:2011-03-18

根阶段白糖的浓度为 1.5% 而外,其他阶段白糖均为 3%,琼脂为 0.7%,pH 调至 6.0。培养室内控制恒温 (25±1)℃,光照为 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光照时间为每天 14 h,3 次重复,每个试验包括 30 个外植体。

2 结果与分析

2.1 百子莲花蕾诱导分化结果

百子莲花蕾在诱导培养基中 10 d 后开始膨大,15 d 后花蕾开始展开,20 d 后花瓣开始枯萎,部分子房膨大转绿并形成少量芽点,30 d 后芽点逐渐长大叶子伸长(图 1-a)。观察发现,培养基 MS+6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 可诱导百子莲形成较多愈伤组织,并分化形成多而且细弱的不定芽,芽可增殖;而在培养基 MS+6-BA 4.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L 中百子莲花蕾仅仅形成少量愈伤组织并继续分化出粗壮的不定芽,但在转接后形成的不定芽不能增殖,这可能与诱导培养使用细胞分裂素和生长素浓度比例较大形成增殖能力强

2.2 不同增殖培养基对百子莲不定芽增殖的影响

将诱导获得百子莲不定芽转入添加有不同浓度激素的培养基中,定期观察并记录不定芽的生长和增殖情况。观察发现,百子莲不定芽增殖比较困难,有少部分百子莲芽丛继代后 15 d 后切口基部、芽的连接处逐渐形成暗黄致密的愈伤组织,继续培养后形成小芽点(图 1-b)。结果表明,百子莲不定芽的增殖既与培养基激素的种类和浓度有关,也与增殖苗的生长状况有关。由表 2 可知,百子莲丛生芽在 9 种增殖培养基中培养时,增殖的倍数和生长状况差异较大。在培养基 P5、P6、P8 中,百子莲不定芽的增殖倍数在 5 以上,而在其它培养基中增殖情况均不理想。其中,培养基 P5 较为适合百子莲不定芽增殖,形成的新芽叶色浓绿、生长快而且增殖能力强;而在 P6 和 P8 培养基中,培养物容易出现枯叶现象,继续增殖的能力差。同时,在增殖过程中赤霉素的添加可显著提高百子莲不定芽的增殖数量,这与石蒜科植物^[6]、百合科植物^[7]不定芽增殖条件不同。

表 1 不同植物生长调节物质种类和浓度对不定芽增殖的影响

培养基	6-BA /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	GA ₃ /mg · L ⁻¹	接种不定 芽数/个	形成不定 芽数/个	增殖倍数	不定芽生长状况
P1	1.0	0.1	0.05	30	33	1.10	叶片迅速伸长,但几乎不能增殖
P2	1.0	0.2	0.1	30	65	2.17	叶片迅速伸长,切口基部有少量芽点形成
P3	1.0	0.3	0.2	30	73	2.43	叶片迅速伸长,切口基部有少量芽点形成
P4	2.0	0.1	0.05	30	86	2.87	叶片迅速伸长,切口基部有少量芽点形成
P5	2.0	0.2	0.1	30	152	5.07	叶片迅速伸长,有较多新芽形成,叶色浓绿
P6	2.0	0.3	0.2	30	163	5.43	叶片迅速伸长,新芽形成,有枯叶形成
P7	3.0	0.1	0.05	30	77	2.57	叶片迅速伸长,切口基部有少量芽点形成
P8	3.0	0.2	0.1	30	153	5.10	叶片迅速伸长,有较多新芽形成,但叶片发黄
P9	3.0	0.3	0.2	30	141	4.70	叶片迅速伸长,新芽形成,有枯叶形成

2.3 百子莲不定芽的生根及组培苗移栽

待百子莲不定芽长至 2~3 cm 左右时,将健壮的不定芽从芽丛上切割下来(余下部分可继续进行增殖培养),转入生根壮苗培养基。结果表明,百子莲不定芽比较容易生根,在不添加任何生长素而仅添加 AC 0.1 g/L 的情况下部分植株便可长出根系。由表 3 可知,当 NAA 浓度为 0.1 mg/L 以上附加 AC,百子莲不定芽的生根率均可达到 100%(图 1-c)。不过 NAA 浓度需适量,浓度超过 0.1 mg/L 时,不定芽切口处易形成气生根,不利于

试管苗的移栽。因此,在 1/2MS+NAA 0.1 mg/L 添加 AC 0.1 g/L 生根培养基上,能形成生长健壮、生根率为 100%,移栽易成活的百子莲组培苗。百子莲组培苗长至 3.0 cm 以上,并具有 2~3 条根时,便可出瓶移栽。移栽前先将瓶苗移植常温下光照强度为 2 500 lx 的条件下练苗 5~7 d,然后将瓶苗取出,洗去附着在根部的培养基,移植于蛭石:珍珠岩:泥炭土比例为 3:2:1 的基质中,在有自然光照射、湿度 80% 的温室大棚中,1 个月 after 成活率达到 95%(图 1-d)。

表 2 不同浓度的 NAA 和 AC 对百子莲组培苗生根的影响

培养基	NAA/mg · L ⁻¹	AC/g · L ⁻¹	接种芽数/株	生根率/%	生长情况
1	0.00	0.10	40	65.5	小苗长势较弱,叶色浅绿,生根缓慢
2	0.05	0.10	40	83.3	小苗长势弱,叶色淡绿,根长但比较细弱
3	0.10	0.10	40	100	小苗健壮,叶色深绿,2~4 条根,根粗且长,长势良好
4	0.20	0.10	40	100	小苗健壮,叶色深绿,根粗且长,有气生根形成
5	0.50	0.10	40	100	小苗健壮,叶色深绿,根粗且长,有气生根形成

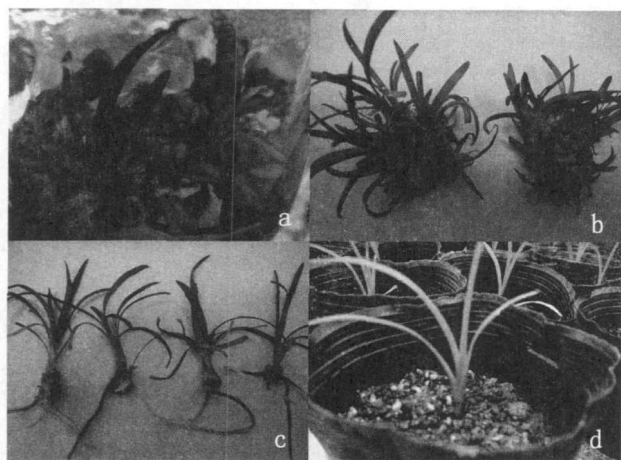


图1 有子莲诱导分化结果

3 结论

百子莲是从南非引进的一类观赏、花境植物,目前国内外对其分类地位意见不统一,组织培养研究资料也较少。该研究曾用嫩叶、花梗、茎尖等器官作为外植体,但均无法让其分化,而用百子莲花蕾中的子房在外源激素的作用下最终获得了不定芽,这是否与其它外植体诱导是采用的培养条件不合适有关,还有待进行进一步的研究。该研究发现高浓度的 6-BA 是百子莲花蕾分化出不定芽的重要条件,而辅以低浓度的生长素则可诱导出增殖能力强的百子莲不定芽。在培养基 MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L + GA₃ 0.1 mg/L 上,百子莲不定芽可形成叶色墨绿,生长旺盛的小芽,且增殖倍数可达

到 5.07。资料显示,百合科、石蒜科植物的组培中间繁殖体在增殖时均未使用赤霉素,具体是因为试验条件的差异还是百子莲本身的特性尚需进一步深入研究。而百子莲不定芽生根阶段,添加 AC 有利于生根率的提高和苗的生长。AC 是植物组织培养中一类重要的吸附物质,不但能吸附培养物在培养过程中分泌的酚类、醌类物质,防止导致褐变的有害物质积累,降低不利影响,从而促进外植体的生长;而且因其颜色为黑色还可促进根的分化。该研究中,百子莲不定芽的生根比较容易,在无生长素仅添加 0.1 g/L 的培养基中即可生根,在 1/2 MS + NAA 0.1 mg/L + AC 0.1 g/L 生根率可达到 100%。

参考文献

- [1] 卓丽环,孙颖. 百子莲的花部特征与繁育系统观察[J]. 园艺学报, 2009, 36(11): 1697-1700.
- [2] 解放日报. 3 万株百子莲绽放世博园[EB/OL]. <http://www.jfdaily.com/>, 2010-02-27.
- [3] 康玲. 百子莲的再生体系试验初报[J]. 现代园艺, 2009(12): 7-8.
- [4] 陶译文. 光兆利用组培成功快繁百子莲[N]. 中国绿色时报, 2006-11-28(B03).
- [5] 孙长生,朱虹,彭志金. 石蒜属植物的繁殖研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(3): 74-76.
- [6] 周欢,谢磊,郭和蓉,等. 百合科植物组织培养的研究进展[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(5): 1233-1235.
- [7] 胡仲义,何月秋. 斑点大吴风草叶片再生体系的建立[J]. 北方园艺, 2010(21): 177-179.

Study on Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Agapanthus praecox* ssp. *Orientalis* 'Big Blue'

HU Zhong-yi, HE Yue-qiu

(College of Environmental, Ningbo City College of Vocational Technology, Fenghua, Zhejiang 315502)

Abstract: An *in vitro* plant regeneration system of *Agapanthus praecox* ssp. *Orientalis* 'Big Blue' was established using buds as explants. The results showed that the suitable adventitious buds inducing medium was murashige and skoog (MS) + NAA 0.1 mg/L + 6-BA 4.0 mg/L. Adventitious buds were effectively generated and proliferated on MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + GA₃ 0.1 mg/L, which the multiple for multiplication was up to 5.08. The best rooting medium was 1/2MS + NAA 0.1 mg/L + AC 0.1 g/L with a rooting rate 100%. The plantlet was transplanted with a transplanting survival rates up to 95% after a month.

Key words: *Agapanthus praecox* ssp. *Orientalis* 'Big Blue'; buds; adventitious buds; regeneration system