

一品红的组织培养研究

张 颖, 王晓立

(宿迁学院 教师教育系, 江苏 宿迁 223800)

摘 要:以一品红腋芽、顶芽、茎段、嫩叶为初次诱导外植体,对一品红的组织培养途径进行研究,建立了一品红植株再生体系。结果表明:组织培养的取材部位为腋芽、顶芽和茎段。诱导愈伤组织外植体为茎段,培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+2,4-D 2.0 mg/L+蔗糖 30 g/L。诱导丛生芽的外植体为腋芽、顶芽和愈伤组织,培养基配方为腋芽、顶芽:MS+6-BA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L;愈伤组织:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L。丛生芽继代增殖的培养基配方为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L。生根培养基配方 1/2MS+NAA 1.0 mg/L+蔗糖 30 g/L。

关键词:一品红;组织培养;愈伤组织;丛生芽;生根培养

中图分类号:S 685.23 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)24-0155-03

一品红为大戟科大戟属多年生直立灌木,原产于墨西哥^[1],其花朵色彩鲜红,被当地人视为纯洁的象征^[2-3]。一品红别名象牙红、老来娇等,为常绿或半常绿灌木,茎叶含白色乳汁,单叶互生,靠近花序的叶片变态成苞片,开花时朱红色的苞片甚是鲜艳,为其主要观赏部位。市场上还有其常见品种,如一品白、一品粉、一品黄等,还有重瓣、斑叶、球状品种等。由于一品红的花期正值圣诞、元旦、春节期间,非常适合节日的喜庆气氛,因此在我国的销售很好。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为市场上常见的一品红栽培品种“圣诞之星”。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的选择、处理 选择健壮、无病虫害的一品红为母株,从其上切取 5~8 cm 长带有腋芽的嫩梢、顶芽(萌芽后 3~4 周)、茎段(萌芽后 3~4 周)、嫩叶,用软毛笔在洗衣粉水中刷洗干净(注意腋芽的清洗)。在超净工作台上用 75% 的酒精溶液浸泡 30 s 后无菌水冲洗 3 次,用 0.1% 升汞灭菌 4 min,无菌水冲洗 3 次,再 0.1% 升汞灭菌 4 min,无菌水冲洗 5 次(溶液要全部浸没外植体),用无菌滤纸吸干水分。将带腋芽的嫩梢与茎段切成 1.5~2 cm 长小段,将段两端接触消毒液的切口剪去;沿嫩叶主脉切割,两侧各留 2 mm,然后横切成 5 mm 见方。

1.2.2 愈伤组织及丛生芽的诱导 把灭过菌的茎段、

嫩叶放入相应的培养基中,以 MS 为基本培养基(添加蔗糖 30 g/L,琼脂 6 g/L,121℃ 高压灭菌 15 min,pH 5.8),附加不同浓度的 2,4-D(0、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/L)、6-BA 浓度为 0.5 mg/L。2 种外植体的各个组合处理 10 瓶,每瓶 2 块,3 次重复。25 d 后,统计各培养基中愈伤组织的诱导率,并观察愈伤组织的生长情况。愈伤组织诱导率(%)=愈伤组织块数/接种外植体块数×100%。

1.2.3 丛生芽的诱导 把一品红的愈伤组织、灭过菌的腋芽、顶芽放入相应的培养基中,培养基为 MS 基本培养基,添加蔗糖 30 g/L,琼脂 6 g/L,附加不同浓度的 6-BA 和 NAA(表 1)。每种组合外植体处理 10 瓶,每瓶 2 块,3 次重复。30 d 后,统计各培养基中丛生芽诱导率。丛生芽诱导率(%)=有芽点或苗分化的愈伤组织块数/接种总数×100%。

表 1 诱导丛生芽激素浓度

6-BA/mg·L ⁻¹	0	0.3	0.6	1.0	2.0
NAA/mg·L ⁻¹	0	0.1	0.2	0.5	1.0

1.2.4 丛生芽的继代增殖 将诱导的一品红丛生芽切割,接种在不同配方的增殖培养基中,配方见表 2,每种组合外植体处理 10 瓶,每瓶 2 块,3 次重复。45 d 后统计芽的增殖系数。

表 2 丛生芽继代增殖激素浓度

NAA/mg·L ⁻¹	0.05	0.1	0.2
6-BA/mg·L ⁻¹	0.1	0.5	1.0

1.2.5 生根培养 一品红丛生芽经过继代培养会迅速生长,当继代增殖的不定芽长至 2.5 cm 左右时,需诱导使其生根,转入不同浓度激素的生根培养基中,培养基为 1/2MS+NAA+蔗糖 30 g/L+琼脂 6 g/L,NAA 设 3 个浓度水平:0.1、0.5、1.0 mg/L。每个组合

第一作者简介:张颖(1980-),女,硕士,讲师,研究方向为植物组织培养。E-mail:ying807812@163.com。

收稿日期:2011-10-08

外植体处理 5 瓶,每瓶 1 株,3 次重复。30 d 后统计生根率及生根总数。生根率(%)=生根芽数/培养芽数 $\times 100\%$ 。

1.2.6 培养条件 整个试验均在植物组织培养室中进行,温度(25 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$,光照时间(10~12) h/d,光照强度 1 600~2 000 lx,环境湿度 60%~80%。

2 结果与分析

2.1 一品红的初代培养

该试验采用了一品红的腋芽、顶芽、茎段和嫩叶 4 种材料作为外植体,在诱导培养基中进行培养,腋芽和顶芽诱导产生不定芽,茎段和嫩叶诱导产生愈伤组织。

2.1.1 一品红愈伤组织的诱导 一品红的茎段、嫩叶在添加不同浓度的 2,4-D 和 0.5 mg/L 6-BA 的培养基中诱导愈伤组织。由图 1 可知,一品红茎段和嫩叶诱导愈伤率均是随着 2,4-D 浓度的增加而增长,6-BA 单独作用于外植体虽能诱导产生愈伤,但愈伤率远低于组合配方。茎段在 2,4-D 浓度为 2.0 mg/L 时愈伤率最高,为 96.7%,在浓度为 0 mg/L 时愈伤率最低,为 63.65%;嫩叶在 2,4-D 浓度为 2.5 mg/L 时愈伤率最高,为 40.7%,在浓度为 0 mg/L 时愈伤率最低,为 9.95%。由表 3 可知,各处理组合中 A1B4 愈伤率最高,它与 A1B5 在 1% 水平上无显著差异,与其它处理差异均显著。因此诱导愈伤的培养基配方为 A1B4 或 A1B5,但 2,4-D 浓度过高会影响后期的分化,且试验成本高,故茎段诱导愈伤应选择 A1B4 配方。由表 4 可知,外植体茎段和嫩叶的差异在 5% 和 1% 水平上均显著。经观察,2 种外植体诱导的愈伤组织外部形态不同,茎段产生的愈伤组织为黄色,结构紧密,而嫩叶产生的愈伤组织是白色,结构疏松,此种结构不再分化。因此,确定诱导愈伤组织的外植体为茎段。

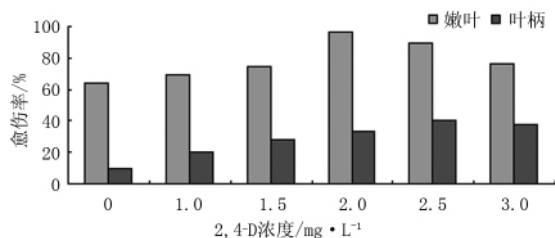


图 1 不同浓度的 2,4-D 对诱导愈伤率的影响

表 3 各处理组合诱导愈伤率的新复极差测验

处理	平均数	5% 差异	1% 差异
茎段(A1)×2,4-D 2.0 mg/L(B4)	96.4	a	A
茎段(A1)×2,4-D 2.5 mg/L(B5)	89.2	b	A
茎段(A1)×2,4-D 3.0 mg/L(B6)	76.35	c	B
茎段(A1)×2,4-D 1.5 mg/L(B3)	74.15	cd	B
茎段(A1)×2,4-D 1.0 mg/L(B2)	68.9	de	BC
茎段(A1)×2,4-D 0 mg/L(B1)	63.65	e	C
嫩叶(A2)×2,4-D 2.5 mg/L(B5)	40	f	D
嫩叶(A2)×2,4-D 3.0 mg/L(B6)	37.55	fg	D
嫩叶(A2)×2,4-D 2.0 mg/L(B4)	33.5	g	DE
嫩叶(A2)×2,4-D 1.5 mg/L(B3)	27.9	h	EF
嫩叶(A2)×2,4-D 1.0 mg/L(B2)	20.5	j	F
嫩叶(A2)×2,4-D 0 mg/L(B1)	9.95	j	G

表 4 不同外植体诱导愈伤率的新复极差测验

处理	平均数	5% 差异	1% 差异
茎段	78.11	a	A
嫩叶	28.23	b	B

2.1.2 一品红丛生芽的诱导 把一品红的顶芽、腋芽、愈伤组织放入不同浓度的 6-BA、NAA 的培养基中,诱导丛生芽,芽诱导率见表 5,方差分析见表 6。由表 5 可知,丛生芽可由愈伤、顶芽、腋芽诱导产生,各自的诱导率不同。在不添加 6-BA 时不能诱导产生丛生芽,随着 6-BA 浓度的增高丛生芽的诱导率增加,但达到一定数值时又开始降低。由愈伤诱导产生的丛生芽在 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 的诱导率最高,为 89.4%;由顶芽诱导产生的丛生芽在 6-BA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L 的诱导率最高,为 85.5%;由腋芽诱导产生的丛生芽在 6-BA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L 的诱导率最高,为 80.65%。由表 6 可知,愈伤、顶芽、腋芽三者诱导丛生芽的诱导率在 5% 和 1% 水平上均存在显著差异,虽然愈伤组织诱导丛生芽的诱导率最高,但因其时间长,易变异,因此可考虑用腋芽和顶芽诱导产生丛生芽。腋芽和顶芽诱导丛生芽的培养基配方均为 6-BA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

2.2 一品红丛生芽的继代增殖

把一品红的丛生芽放入不同浓度的 6-BA、NAA 的继代增殖培养基中。由表 7 可知,增殖系数在 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 组合下最高,达到 3.24,在 6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.05 mg/L 组合下最低,为 1.14。由表 8 可知,6-BA 3 种浓度的增殖系数差异显著,均是随着 6-BA 浓度的增加增殖系数增长,但试验观察发现高浓度的 6-BA 丛生芽致密,无茎发生,因此 6-BA 浓度应选择 0.5 mg/L。由表 9 可知,NAA 的 3 种

表 5 不同激素浓度的丛生芽诱导率

6-BA 浓度 /mg · L ⁻¹	NAA 浓度 /mg · L ⁻¹														
	0			0.1			0.2			0.5			1.0		
	顶芽	腋芽	愈伤组织	顶芽	腋芽	愈伤组织	顶芽	腋芽	愈伤组织	顶芽	腋芽	愈伤组织	顶芽	腋芽	愈伤组织
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.3	20.05	21.7	23.2	35.9	51.15	60.05	31.15	45.65	54.45	24.5	39.95	34.35	20.55	37.35	15.2
0.6	83.5	76.15	27.35	85.5	80.65	78.35	79.35	70.35	75.5	60.45	64.45	47.45	51.85	60.45	34.8
1.0	58.85	51.65	48.4	70.25	63.8	88.0	62.5	54.45	85.35	55.5	48.5	64.05	46.8	40.3	47.15
2.0	34.0	30.0	40.75	65.85	59.55	89.4	58.5	48.35	86.4	47.5	40.35	84.5	39.25	34.4	71.45

表 6 三因素随机区组统计方差分析

处理/mg·L ⁻¹	诱导率/%	5%差异	1%差异
6-BA 2.0×NAA 0.1×愈伤	89.4	a	A
6-BA 1.0×NAA 0.1×愈伤	88.0	b	B
6-BA 2.0×NAA 0.2×愈伤	86.4	c	C
6-BA 0.6×NAA 0.1×顶芽	85.5	d	D
6-BA 1.0×NAA 0.2×愈伤	85.35	e	E
6-BA 2.0×NAA 0.5×愈伤	84.5	f	F
6-BA 0.6×NAA 0×顶芽	83.5	g	G
6-BA 0.6×NAA 0.1×腋芽	80.65	h	H
6-BA 0.6×NAA 0.2×顶芽	79.35		

表 7 二因素随机区组统计方差分析

处理/mg·L ⁻¹	增殖系数	5%差异	1%差异
6-BA 1.0+NAA 0.2	3.24	a	A
6-BA 1.0+NAA 0.1	3.06	b	B
6-BA 1.0+NAA 0.05	2.82	c	C
6-BA 0.5+NAA 0.1	2.48	d	D
6-BA 0.5+NAA 0.2	2.41	d	D
6-BA 0.5+NAA 0.05	2.08	e	E
6-BA 0.1+NAA 0.2	1.50	f	F
6-BA 0.1+NAA 0.1	1.38	g	F
6-BA 0.1+NAA 0.05	1.14	h	G

表 8 6-BA 因素三水平新复极差测验

因素 6-BA/mg·L ⁻¹	平均值	5%差异	1%差异
1.0	3.04	a	A
0.5	2.32	b	B
0.1	1.34	c	C

表 9 NAA 因素三水平新复极差测验

因素 NAA/mg·L ⁻¹	平均值	5%差异	1%差异
0.2	2.38	a	A
0.1	2.31	b	A
0.05	2.01	c	B

浓度在 5% 水平上差异显著,在 1% 水平上 NAA 0.2 mg/L 与 NAA 0.1 mg/L 差异不显著,二者与 NAA 0.05 mg/L 差异显著,从成本方面考虑应选用 NAA 0.1 mg/L。

2.4 生根

把长到 2.5 cm 左右的一品红丛生芽放入不同浓度 NAA 的 1/2MS 培养基中诱导生根,生根率及生根总数见表 10。由表 10 可知,在 1/2MS 培养基中,生根

表 10 不同 NAA 浓度对一品红诱导生根的影响

NAA /mg·L ⁻¹	接种苗数 /株	生根苗数 /株	生根率 /%	生根总数 /条	平均生根数 /条·株 ⁻¹
0.1	15	4	26.67	7	1.75
0.5	15	6	40.00	16	2.67
1.0	15	14	93.33	68	4.86

率和生根总数均是随着 NAA 浓度的增加而增长,在 NAA 浓度为 1.0 mg/L 生根率为 93.33%,平均每株根数 4.86 条,为适宜的生根培养基。

3 讨论

一品红外植体在采取时因时间不同效果也不一样,潘远智^[4]研究表明,5 月份取材效果较好,此时叶片生长旺盛,易消毒灭菌。而在 2 月份取材,芽细小,不易取到嫩叶。7~12 月份取材污染率较高,嫩叶叶片短日照下,会逐步成为苞叶,而且组织分泌汁液较多,易发生褐变和污染。该试验诱导愈伤组织以茎段为好,嫩叶次之,这与李畅等^[5]诱导一品红愈伤组织的外植体为叶片有所不同。

在诱导愈伤组织过程中,有试验证明不同碳源对愈伤组织的诱导作用不同,焦海华^[6]研究表明,蔗糖的效果比葡萄糖好,不同光质对愈伤组织的诱导作用也不同,红光、黄、蓝、绿光同日光相比均有促进作用,尤以红光最好,黄、蓝、绿光次之。在愈伤组织诱导丛生芽试验中发现,单独使用 6-BA 不能诱导出芽,必须与 NAA 结合使用。一品红在生根时加入活性炭可减少褐化,但会影响生根率和每株平均根数,因此生根试验中活性炭的加入有待进一步研究。

参考文献

- [1] 熊丽,吴丽芳.观赏花卉的组织培养与大规模生产[M].北京:化学工业出版社,2003.
- [2] 魏国汶,胡新龙.圣诞花的现代种植技术[J].花卉,1995(9):20-23.
- [3] 张万佛.绿叶端上“一品红”[J].花卉,1996,11(2):36-39.
- [4] 潘远智.一品红组织培养技术体系研究[D].雅安:四川农业大学,2001.
- [5] 李畅,陈璐,苏家乐,等.一品红品种柠檬雪叶片愈伤组织的诱导及再生技术[J].江苏农业科学,2009(4):71-73.
- [6] 焦海华.一品红组织培养与植株再生初步研究[D].武汉:华中师范大学,2001.

Study on Tissue Culture of *Euphorbia pulcherrima*

ZHANG Ying, WANG Xiao-li

(Department of Horticulture and Landscape, Suqian College, Suqian, Jiangsu 223800)

Abstract: Axillary buds, apical buds, stems and leaves of *Euphorbia pulcherrima* were used as explant, tissue culture of *Euphorbia pulcherrima* way and establishment system of plant regeneration were studied. The results showed that the best explants were axillary buds, buds and stems. The best explants of callus was stems, the most favorable media was MS+6-BA 0.5 mg/L+2,4-D 2.0 mg/L+sucrose 30 g/L. The best explants of induced buds was axillary buds, apical buds and callus, the most favorable media of apical bud and axillary bud as explant: MS+6-BA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L+sucrose 30 g/L; The most favorable media of callus as explant: MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+sucrose 30 g/L. The subculture media was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+sucrose 30 g/L. The rooting media 1/2MS+NAA 1.0 mg/L+sucrose 30 g/L.

Key words: *Euphorbia pulcherrima*; tissue culture; callus; buds; rooting culture