

大花虎刺梅的组培快繁技术

张 燕

(石家庄市植物园 科研所,河北 石家庄 050000)

摘 要:用大花虎刺梅的外植体进行组织培养研究。结果表明:最佳外植体诱导培养基为 A6:MS+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA,最佳不定芽诱导培养基为 B2,即 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA,增殖效果最好的培养基为 C2:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA,最适宜大花虎刺梅的生根培养基为 D2:1/2MS+0.1 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA。

关键词:大花虎刺梅;苞片;叶柄;组织培养;培养基

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)08-0156-03

大花虎刺梅为大戟科大戟属植物,商品名称为皇帝梅,茎粗,富韧性,聚伞花序2个,生于枝顶,排成具长柄的二歧状复聚伞花序;花先绿变红,总苞鲜红,阔卵形或肾形,长期不落。大花虎刺梅一年四季都能开花,花期长,苞片明艳华丽色彩丰富,可观花赏叶,并且分枝性极佳,花朵繁茂。大花虎刺梅在生长期不需要勤浇水,还要经常保持干燥,非常适合现代人的养花观念,也叫懒人花卉。它是一种极具市场潜力的优良花卉品种,但都是从国外进口的高档花卉,国内市场很少见到。由于数量少,可用于扦插的材料更少,加之大花虎刺梅扦插生根率低,繁殖速度慢,不能满足当前生产的需要。而且,目前国内外对大花虎刺梅的组织培养研究较少,其组培快繁尚未见报道。因此,对大花虎刺梅进行了试管快速繁殖技术研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为大花虎刺梅尚未展开的嫩叶、叶柄、苞片。

1.2 试验方法

选取大花虎刺梅尚未完全展开的嫩叶、叶柄、苞片,用75%酒精先擦拭1遍^[1],再用75%酒精对其消毒50 s后,转放到0.1%的HgCl₂溶液中消毒8~10 min,再用无菌水冲洗3~4次,作为外植体以备接种。

1.3 培养基

1.3.1 外植体诱导培养基 以“A”表示,基本培养基附加不同量的细胞分裂素6-BA和生长素NAA。A1:MS+0.5 mg/L 6-BA+0 NAA, A2:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA, A3:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA, A4:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA, A5:

MS+2.0 mg/L 6-BA+0 NAA, A6:MS+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA, A7:MS+2.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA, A8:MS+2.0 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA, A9:MS+1.0 mg/L 6-BA+0 NAA, A10:MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA, A11:MS+1.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA, A12:MS+1.0 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA, A13:MS+4.0 mg/L 6-BA+0 NAA, A14:MS+4.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA, A15:MS+4.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA, A16:MS+4.0 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA。

1.3.2 不定芽的诱导培养基 以“B”表示, B1:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA, B2:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA, B3:1/2MS+1 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA, B4:1/2MS+1 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA, B5:MS+1 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA。

1.3.3 继代培养基 以“C”表示, C1:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA, C2:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA, C3:MS+0.2 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA, C4:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA, C5:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.03 mg/L NAA。

1.3.4 生根培养基 以“D”表示, D1:1/2MS, D2:1/2MS+0.1 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA, D3:1/2MS+0.1 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IBA, D4:1/2MS+0.5 mg/L BA, D5:1/2MS+0.5 mg/L NAA。在外植体诱导、继代阶段,蔗糖浓度为3%,生根阶段蔗糖浓度降至2%,再加2%的活性炭(c)^[2],另加0.6%琼脂进行固化, pH 5.8~6.0。

2 结果与分析

2.1 外植体的选择

经表面灭菌的外植体接种于MS基本培养基,添加不同激素及组合的培养基上,每处理10瓶,每瓶3个外植体,3次重复。采用SAS统计分析软件对试验结果进行统计分析。

作者简介:张燕(1976-),女,本科,工程师,现从事花卉组织培养方面的研究工作。E-mail:zhangyan3736@sina.com。

基金项目:河北省建设厅科研资助项目(200501)。

收稿日期:2011-02-14

3 种不同的外植体,在添加不同浓度的生长素和细胞分裂素的培养基上,先暗培养 10 d,然后在散射光下培养 30 d,外植体开始膨大,形成愈伤组织。

表 1 不同取材部位和激素配比诱导愈伤组织比较

培养基	嫩叶		苞片		叶柄	
	愈伤组织 数/块	百分率 /%	愈伤组织 数/块	百分率 /%	愈伤组织 数/块	百分率 /%
A1	5	5.6	12	13.3	1	1.1
A2	11	12.2	19	21.1	2	2.2
A3	16	17.8	14	15.6	4	4.4
A4	4	4.4	10	11.1	3	3.3
A5	12	13.3	13	14.4	1	1.1
A6	20	22.2	29	32.2	5	5.7
A7	23	25.6	22	24.4	8	8.9
A8	19	21.1	11	12.2	5	5.7
A9	24	26.7	33	36.7	8	8.9
A10	32	35.6	48	53.3	9	10.0
A11	25	27.8	34	37.8	12	13.3
A12	19	21.1	22	24.4	5	5.7
A13	10	11.1	17	18.9	2	2.2
A14	11	12.2	21	23.3	3	3.3
A15	13	14.4	12	13.3	7	7.8
A16	8	8.9	8	8.9	3	3.3

注:百分率为愈伤组织百分率(即愈伤组织数/接种数)。

从表 1 和图 1 可看出,不同的外植体都能在相应的激素配比的培养基上诱导成功,但不同部位愈伤组织诱导率存在差异,表现出苞片最好,嫩叶次之,叶柄最差。

表 2 6-BA 与 NAA 不同浓度组合培养基中愈伤组织诱导率方差分析

变异来源	自由度	嫩叶		苞片		叶柄	
		均方	F	均方	F	均方	F
6-BA	3	898.37	19.96**	1 477.16	24.82**	108.66	12.64**
NAA	3	202.08	5.08*	715.74	13.60**	64.59	8.502*
6-BA×NAA	9	45.34	10.57**	59.95	11.85**	8.66	2.027*
随机误差	32	4.08		4.81		4.07	
总和	47	3 878.30		7 390.16		745.08	

注:*表示在 $p=0.1$ 存在差异显著;**表示在 $p=0.05$ 存在差异极显著。

2.3 芽诱导

当在初代诱导培养基上诱发的侧芽高 1 cm 左右时,将侧芽在超净工作台上切下,接种到芽诱导培养基中,其中添加不同浓度的 6-BA、NAA,30 d 后观察结果。由表 3 可看出,6-BA 以 0.5 mg/L 效果好,丛生芽个数较多,NAA 在 0.1~0.2 mg/L 水平上,丛生芽生长状况都比较好,但丛生芽个数及生长状况综合判断,以 B2:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA 为最佳。

表 3 不同培养基对芽诱导的影响

培养基号	丛生芽数/个	高度/cm	生长状况
B1	4.0	1.2	较壮实,嫩绿
B2	5.2	2.0	壮实,鲜绿
B3	3.5	1.4	较壮实,嫩绿
B4	2.0	1.5	壮实,鲜绿
B5	3.0	1.0	弱,黄绿

注:各处理数据均为平均值。

2.4 大花虎刺梅继代培养基的筛选

由表 4 可知,大花虎刺梅增殖效果最好的培养基为 C2:MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA,增殖倍数高,且苗壮。

不同部位的多重分析表明,嫩叶和苞片、苞片和叶柄、嫩叶和叶柄对愈伤组织的诱导存在显著差异。不同外植体的诱导差异,因植物种类和部位所含内源激素与生长素的绝对含量和相对比例不同所致。所以在愈伤组织的诱导过程中,选择合适的外植体是非常重要的。

2.2 不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对愈伤组织诱导的影响

从表 1 还可看出,单独使用细胞分裂素 6-BA 就可诱导愈伤组织的发生,但诱导率低,在加入 NAA 后诱导率明显增加。在嫩叶和苞片的愈伤组织诱导中,当 6-BA 固定在某一浓度时,随着 NAA 浓度从 0.2 增加到 0.8 时,愈伤组织的诱导率先增加后递减;当 NAA 浓度在 0.2 mg/L 时,6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 愈伤组织的诱导率最高(表 1),而且形成的愈伤组织紧密呈深绿色且生长快。方差分析表明(表 2),6-BA 对愈伤的诱导呈极显著差异,NAA 对愈伤的诱导呈显著差异,对诱导起主要作用的为 6-BA,其次为 NAA,6-BA 和 NAA 存在交互作用并且对愈伤的诱导有极显著差异^[3]。进一步做多重比较得出,6-BA(2.0 mg/L)、NAA(0.2 mg/L)为最佳的浓度组合。

表 4 不同培养基对大花虎刺梅增殖的影响

培养基号	接种茎尖数	分化不定芽数	每个芽平均增殖分化数
C1	20	56	2.80
C2	20	155	7.75
C3	20	21	1.05
C4	20	19	0.95
C5	20	34	1.7

2.5 继代无根苗诱导生根试验

试管苗移入生根培养基后,每天进行观察记载,计算出每天的生根率。

由表 5 可知,D2~D5 处理的试管苗均比 D1 中的先生根,且生根率比 D1 提前 1~2 d 达到 100%,说明大花虎刺梅生根必须附加一定量生长素和细胞分裂素,其中 NAA 比 IBA 生根效果更好^[4]。当 6-BA 为 0.1 mg/L, NAA 为 0.2 mg/L 时生根率高且生根快。D1~D5 培养基都可促使大花虎刺梅生根,但 D1、D3、D5 根纤细,移栽时附着很多培养基,很难清洗,易伤根;D4 由于根系太短,移栽成活率不高;D2 生根快,根数多,根系分布均匀、生长正常。

从表 5、6 可看出,最适宜大花虎刺梅的生根培养基为 D2:1/2MS+0.1 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA。

表 5 不同培养基对生根率的影响

处	培养时间/d									
理	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
D1	0	0	9.5	14.29	42.86	61.91	90.48	95.24	97.3	100
D2	17.65	19.05	29.05	47.06	88.24	90.25	100			
D3	30.00	33.33	45.00	50.00	60.00	85.00	92.3	100		
D4	18.75	31.25	41.25	50.00	65.50	87.50	100			
D5	25.53	29.41	52.90	58.82	70.59	94.12	96.25	100		

表 6 不同培养基对大花虎刺梅生根的影响

培养基号	生根率/%	生根时间/d	生根状况
D1	100	20	细、短、少
D2	100	12	较粗、较长、多
D3	100	16	较细、较短、多
D4	100	14	较粗、较短、多
D5	100	18	细、短、少

2.6 生根培养基对大花虎刺梅试管苗平均根数、平均根长的影响

练苗前对大花虎刺梅试管苗的每株根数、根长进行测量,计算出平均每株根数和平均根长。

由表 7 可知,D1 处理不论是平均每株根数,还是平均根长,效果均差;其它各浓度生长素平均每株根数无显著差异。而平均根长 D2、D3、D4 处理的效果显著超过 D5,D2~D4 间无显著差异,说明低浓度生长素和细胞分裂素组合对大花虎刺梅试管苗的平均每株根数的增加及平均根长的增长均优于空白培养基。

表 7 生根培养基对大花虎刺梅试管苗平均根数、平均根长的影响

处理	平均每株根数/条	每株平均根长/cm
D1	1.57 **	0.11 **
D2	3.47 *	1.48 *
D3	2.07 *	1.41 *
D4	2.56 *	1.48 *
D5	3.21 *	0.90 **

3 结论

大花虎刺梅不同部位的愈伤组织诱导率存在极显著差异,苞片和嫩叶的愈伤组织诱导率都较好,但从温

室生产来看,苞片诱导的组培苗保持母本性状完整,株型紧凑,花色艳丽。因此苞片为诱导愈伤组织的最佳取材部位。

在大花虎刺梅的离体培养中,初代培养的成功与诱导培养基的配方有很大关系,试验表明,大花虎刺梅最佳诱导培养基为 A6:MS+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA,不仅诱导率高而且芽壮。

在大花虎刺梅继代培养中,芽的分化增殖与生长受继代培养基中细胞分裂素和生长素含量的控制,试验结果表明,大花虎刺梅的继代培养基中细胞分裂素 6-BA 的含量以 0.5 mg/L 为宜,生长素 NAA 0.2 mg/L 为佳,生长素过低不利于大花虎刺梅的增殖。

在生根试验中,大花虎刺梅在 6-BA 和 NAA 的组合中生根最佳,不仅生根率高,而且每苗平均根数多、根粗、苗壮、生长势强,易于移栽。

将生根瓶苗置于温室中自然光练苗 2~3 d,然后将瓶苗取出,用 0.1% 的高锰酸钾液进行漂洗消毒,小苗进行遮荫、保温、保湿,可以在生产温室中再专门搭建一个可随装随用的小拱棚,上面覆盖塑料布和遮荫网,前期尽量保持 90% 的相对湿度,光照强度 2 000~4 000 lx,1 周后就可以撤掉拱棚和覆盖物转入正常管理,每周浇 1 次肥水,用通用肥 N:P:K=20:10:20,每天往小苗叶片上喷雾 2 次,以增加小苗的相对湿度。试管苗 2 个月,苗长高 8 cm 左右,具有 4~6 片真叶,成活率达 95%,且长势很好。

参考文献

- [1] 王家福. 组织培养与快繁技术[M]. 北京:中国林业出版社,2006:25-33.
- [2] 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,1997:56-58.
- [3] 李修平,相洪丽. 虎刺梅愈伤组织的诱导和快速繁殖[J]. 安徽农业科学,2006(18):34-35.
- [4] 孔德平,王增池. 虎刺梅的组织培养及快速繁殖初报[J]. 安徽农业科学,2008(15):36.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Euphorbiamilli* var. *splendens*

ZHANG Yan

(Institute of Scientific Research, Shijiazhuang Botanical Garden, Shijiazhuang, Hebei 050000)

Abstract: Studied the explant culture of *Euphorbiamilli* var. *splendens*; The results showed that the inductive culture medium was MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA. The best proliferating culture medium was MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA. The best rooting medium was 1/2MS+0.1 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA.

Key words: *Euphorbiamilli* var. *splendens*; tissue culture; culture medium