

长寿花叶片的组织培养

吴连松¹, 陈桂信²

(1. 福建省泉州市农业学校 362000; 2. 福建农林大学园艺学院)

摘要: 以长寿花试管苗叶片为外植体, 对不定芽的诱导、芽苗的继代增殖、生根及移苗进行研究, 结果表明: 初代培养诱导不定芽的最适培养基为 MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L, 芽苗继代增殖的最适培养基为 MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + IAA 1.0 mg/L, 无根苗生根的最适培养基为 1/2 MS + IBA 0.5 mg/L, 试管苗移栽的成活率达 85.0% 以上。

关键词: 长寿花; 叶片; 组织培养

长寿花又名矮生伽蓝菜或寿星花, 属景天科伽蓝菜属多年生多浆类花卉植物, 原产非洲马达加斯加, 耐寒、耐旱, 适应性强, 可作室内盆栽和花坛用花。长寿花属典型的短日照植物, 可通过调整日照时间来控制其花期, 达到周年开花的目的; 同时其叶片深厚多汁、色泽鲜艳, 在低温和光线较强时, 常出现泛红色, 因此长寿花既可观花又可观叶, 是一种具有较高观赏价值的两用花卉, 市场前景看好。

长寿花常采用带腋芽茎段和带叶柄的叶片进行扦插繁殖, 但繁殖系数低、速度慢, 组织培养不但可以大大提高繁殖系数, 而且植株株型好、分枝多、节间短、开花多。前人以带腋芽茎段、节间、茎尖、嫩叶为外植体, 对长寿花的快速繁殖进行初步研究^[1-5]。本试验以试管苗嫩叶为外植体, 对长寿花的离体快繁进行初步研究, 以期对长寿花的遗传转化和工厂化育苗提供参考。

1 材料与方

1.1 材料

长寿花的试管苗由福建农林大学园艺生物工程研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 培养基设计 初代培养: ①MS + 6 - BA 0.5 mg/L (下同) + NAA 0.1, ②MS + 6 - BA 0.5 + NAA 0.5, ③MS + 6 - BA 1.0 + NAA 0.1, ④MS + 6 - BA 1.0 + NAA 0.5, ⑤MS + 6 - BA 2.0 + NAA 0.1, ⑥MS + 6 - BA 2.0 + NAA 0.5; 增殖培养: ⑦

MS + 6 - BA 1.0 + NAA 0.1, ⑧MS + 6 - BA 1.0 + NAA 0.1 + IAA 0.5, ⑨MS + 6 - BA 1.0 + NAA 0.1 + IAA 1.0, ⑩MS + 6 - BA 1.0 + NAA 0.1 + IAA 2.0; 生根培养: ⑪1/2MS + IBA 0.5, ⑫1/2MS + IBA 1.0, ⑬1/2MS + IBA 2.0。以上培养基 pH 均为 5.8、琼脂 0.8%、蔗糖 3%。

1.2.2 初代培养 取 40 日龄的试管苗叶片, 剪成 2.5 ~ 3.0 cm² 的切块, 放到无菌水中浸泡, 然后逐一挑出, 在无菌滤纸上吸干水分后接种到不同组合的培养基上, 培养温度为 (25 ± 2) °C, 光照强度为 1000 ~ 2000 lx, 光照时间为 8 ~ 10 h/d。每隔 3 ~ 5 d 观察记载 1 次。

1.2.3 继代增殖与生根培养 取初代培养无根苗带腋芽茎段, 分别接种到不同植物生长调节剂组合的增殖培养基上, 每 7 d 观察 1 次, 记载芽苗的生长和增殖状况。取继代增殖的无根苗, 接种到生根培养基上, 每 3 ~ 5 d 观察根的诱导和生长状况。

1.2.4 试管苗移栽 当长根的试管苗高度约 3.0 cm 时, 整瓶移出培养室, 置于室温阴凉处 7 d, 揭开瓶盖, 再放置 7 d, 将试管苗取出, 用自来水轻轻洗去琼脂, 移栽到经高压灭菌过的基质 ($W_{\text{锯屑}} : W_{\text{泥炭土}} = 1:1$) 中, 用无菌水浇透基质, 用半透明的塑料袋 (上面刺有小孔) 罩在苗的上方, 以保持较高的相对湿度, 室温下放置, 移栽后每 5 ~ 10 d 统计成活率, 15 d 后揭开塑料罩, 成活的幼苗用稀释 10 倍的 MS 大量元素母液浇施, 以保证芽苗的健壮生长。

2 结果与分析

2.1 不同植物生长调节剂配比对初代培养的影响

接种 18 d 后, 外植体在切块边缘开始膨大, 长

出淡绿色的愈伤组织,并呈疏松的颗粒状;接种35 d后愈伤组织表面出现绿色芽点;50 d后大部分的愈伤组织开始分化出0.2~0.5 cm的不定芽,有部分叶片在切口处直接产生不定芽。

表1为接种80 d后的统计结果。由表1可知,当NAA含量一定时,不定芽的诱导率随6-BA含量的增加而增大;当6-BA含量一定时,不定芽的诱导率随着NAA含量增加而降低。在培养过程中还发现,当NAA 0.1 mg/L、6-BA 2.0 mg/L时,虽然不定芽的诱导率最高,但大部分芽苗出现玻璃化现象;当NAA 0.5 mg/L、6-BA 2.0 mg/L时,分化出的不定芽形态明显异常,芽弱小,不饱满,由此长成的植株基部出现愈伤化,节间极短,叶片排列呈莲座状,且出现弯曲畸形;当NAA 0.1 mg/L、6-BA 1.0 mg/L时,不仅不定芽的诱导率较高,而且芽苗生长健壮。因此,初代培养的最适培养基为MS+6-BA 1.0+NAA 0.1。

表1 不同植物生长调节剂配比对长寿花不定芽诱导的影响

培养基	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	接种数 (个)	不定芽数 (个)	诱导率 (%)
①	0.5	0.1	13	5	38.5
②	0.5	0.5	16	5	31.2
③	1.0	0.1	14	12	85.7
④	1.0	0.5	13	10	76.9
⑤	2.0	0.1	14	13	92.8
⑥	2.0	0.5	16	13	81.3
CK	0	0	13	0	0

2.2 不同 IAA 含量对芽苗继代增殖的影响

在最适初代培养基MS+6-BA 1.0+NAA 0.1的基础上,添加不同含量的IAA,研究其对芽苗继代增殖的影响。结果(表2)表明,添加IAA可提高芽苗的增殖系数,且增殖系数随IAA含量增加而升高,其中以IAA 1.0 mg/L的增殖系数最高,达9.2,且芽苗生长健壮;当IAA含量提高到2.0 mg/L时,芽苗的增殖率反而降低,芽苗生长瘦弱,有部分芽苗甚至产生愈伤化现象。因此,长寿花芽苗继代增殖的最适培养基为MS+6-BA 1.0+NAA 0.1+IAA 1.0。

2.3 不同 IBA 含量对无根苗生根的影响

将继代增殖的无根苗切下,转入生根培养基中。由表3可知,IBA对根诱导与植株生长状况均有较大影响;当IBA含量在0~0.5 mg/L时,根

表2 不同 IAA 含量对芽苗继代增殖的影响

培养基	IAA (mg/L)	接种数 (个)	增殖数 (个)	增殖系数
⑦	0.1	25	165	6.6
⑧	0.5	27	197	7.3
⑨	1.0	25	230	9.2
⑩	2.0	28	151	5.4
CK	0	25	32	1.2

的诱导率随IBA含量升高而增大,其中以IBA 0.5 mg/L时根的诱导率最高,达96.8%,且植株生长健壮;而当IBA提高到1.0 mg/L时,根的诱导率反而下降,植株长势减弱,且有部分植株出现愈伤化。说明在1/2MS培养基中加入适量IBA(≤ 0.5 mg/L)可以促进生根,IBA含量太高则会抑制根和植株的生长。

表3 不同 IBA 含量对无根苗生根的影响

培养基	IBA (mg/L)	接种数 (个)	生根株数 (条)	生根率 (%)	根与植株的生长状况
⑪	0.5	31	30	96.8	根的长度3~4 cm,根粗度适中,植株健壮,叶片肥厚
⑫	1.0	37	32	86.5	根的长度2~3 cm,根细,且苗长势弱
⑬	2.0	32	26	81.3	根的长度2~3 cm,根细,且苗长势弱
CK	0	35	33	94.3	根的长度3~4 cm,比较细,植株较瘦小

3 生根苗的炼苗和移栽

试管苗移栽20 d左右,成活率可达85.0%。育苗成功的关键在于最初15 d内应加强保湿,白天温度应控制在25℃左右,夜间15~18℃,同时在育苗7 d后,应加强光照,这样有助于提高试管苗移栽的成活率和植株的长势。

4 小结与讨论

4.1 植物生长调节剂的配比与芽苗分化和增殖的关系

植物器官的分化受细胞分裂素与生长素比值高低及绝对量多少的调控,当比值大于1.0时,有利于长芽;比值等于1.0时,有利于诱导愈伤组织;比值小于1.0时,则有利于长根^[6]。在本试验中,初代培养各培养基的6-BA/NAA比值均大于1.0,有利于促进愈伤组织分化不定芽或直接从叶片分化不定芽,其中以6-BA 1.0 mg/L、NAA 0.1 mg/L时(6-BA/NAA比值为10),不定芽的诱导率最

高,达到85.7%;但6-BA的绝对量及与NAA的比值过高,即6-BA 2.0 mg/L、NAA 0.1 mg/L时(6-BA/NAA比值为20),对不定芽的诱导有抑制作用,甚至出现芽苗生长发育异常。

黄学林等^[7]研究认为,植物离体培养材料经过多次继代后,逐渐失去对外源生长物质的依赖,即外源生长物质对离体培养具有驯化作用。因此,在芽苗继代培养中,适当降低外源生长物质的绝对量或降低细胞分裂素与生长素的比值,有利于芽苗的增殖。本试验继代培养是在最适初代培养基的基础上,添加不同种类适宜含量的生长素以降低细胞分裂素与生长素的比值,来实现芽苗的增殖。添加不同含量的IAA来提高芽苗的增殖系数。最适增殖培养基为MS+6-BA 1.0+NAA 0.1+IAA 1.0,其中6-BA/NAA比值为10,不仅诱导率最高,而且增殖系数也最高。

4.2 培养过程中芽苗的愈伤化和玻璃化问题

芽苗的愈伤化是植物离体快繁过程中经常出现的问题,它会大大降低芽苗移栽的成活率。在本试验的初代培养和生根培养中均出现愈伤化现象。黄学林等^[7]研究认为,愈伤化苗根部输导组织与苗上部的输导组织被愈伤组织隔离,无法形成正常的根茎,从而导致移苗的失败,究其原因主要是由于培养材料太幼嫩、培养基中的植物生长调节剂水平太高(尤其是生长素水平太高)等原因所致。本试验初代培养中芽苗的愈伤化主要出现在高生长素水平的培养基上,在低生长素水平的培养基上的芽苗生

长正常;而在继代增殖中用幼嫩的芽苗作材料进行扩繁,也出现类似的结果。因此,本试验芽苗的愈伤化主要是由于培养基中生长素水平太高引起的。

玻璃苗很难移栽成活,给离体快繁带来极大的损失。卜学贤等^[8]研究认为,试管苗的玻璃化,主要是由于培养基中的细胞分裂素水平太高,碳源、琼脂含量太低,容器过分密闭等原因所造成。从本试验结果看,玻璃化苗只出现在高水平细胞分裂素的培养基上,因此可能是由于培养基中的细胞分裂素水平太高引起的。

参考文献:

- [1] 卢思聪. 长寿花的栽培和繁殖 [J]. 花木盆景, 1986 (3): 12.
- [2] 黄祖传, 李玉梅, 彭平妹. 长寿花的快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 1990, 26 (1): 50-53.
- [3] 卢思聪, 李海燕. 长寿花(娇生伽蓝菜)的快速繁殖法 [J]. 中国花卉盆景, 1986 (6): 6-7.
- [4] 陈利萍, 汪炳良, 陈竹君. 长寿花叶片愈伤组织的诱导和植株再生 [J]. 植物生理学通讯, 1999, 35 (6): 471.
- [5] 吴丽芳, 屈云慧, 杨春梅. 长寿花的组培快繁 [J]. 云南农业科技, 2001 (4): 21.
- [6] 陈振光. 园艺植物离体培养学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [7] 黄学林, 李筱菊. 高等植物组织离体培养的形态建成及调控 [M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [8] 卜学贤, 陈维伦. 试管植物的玻璃化现象 [J]. 植物生理学通讯. 1987, 23 (5): 13-18.

(责任编辑: 林树文)

厦门市集美区全方位拓展龙眼销售渠道

随着种植结构的调整,目前集美区的龙眼种植面积约在1333 hm²以上,总产量超过5000 t,创历年新高。

龙眼作为集美区主栽水果,近几年,区政府从财政拨出专款,扶持龙眼种植大户进行高接换种,并从海南、台湾等地引进优良龙眼单株和接穗,示范推广凤梨穗、松风本、八一早和洪村早等名优良种,先后创建双岭千亩优质龙眼生产基地和坂头万亩优质龙眼生产基地等。特别是2008年以来,经科学指导和精心管理,优质龙眼获得丰产且呈现果大味美、色泽好等特点,有的提前试销即被消费者看好。

龙眼生产销售状况直接关系到广大果农的切身利益,不仅受果农关注,同时也被政府所重视。集美区一方面成立龙眼销售认定组织,选派区、镇农业干部深入果园和龙

眼交易市场,帮助果农牵线搭桥;另一方面组织辖区专业销售人员和70多家营销大户组成专门的促销队伍,帮助果农联系客户。同时区农业、电力、工商、交通,以及农产品检疫、信息服务等各部门密切配合,共同创造一个良好、宽松的销售环境。

此外,集美区及时公布辖区主要龙眼种植大户与收购商(包括鲜销户、制作罐头或焙干户)名单及联系方式,还在所属的灌口、后溪等片区设立6个大型、综合的龙眼焙干加工基地,扶持果品加工企业并帮助完善设备设施,充分调动加工企业生产积极性。全方位、多渠道的龙眼销售格局,力保龙眼增产,果品增效,农民增收。

(厦门市集美区吴会明 供稿)