

凤梨组织培养研究

刘松涛, 郭军战^{*}, 白睿

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:以星花凤梨的短缩茎、老叶鞘、嫩叶鞘为接种外植体,对凤梨的离体培养技术进行了初步研究。结果表明,不同部位对愈伤组织诱导差异显著,其中老叶鞘诱导率最高,可达到53.3%,为最佳的取材部位。诱导愈伤组织培养基以MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹为最好;MS+BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.25 mg·L⁻¹对不定芽分化效果良好。

关键词:凤梨;愈伤组织;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S68 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-7461(2007)04-0095-03

Studies on the Tissue Culture of *Guzmania lingulata*

LIU Song-tao, GUO Jun-zhan, BAI Rui

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Taking contraction stem, old leaf sheath, tender leaf sheath as inoculating explants, the tissue culture technology of *Guzmania lingulata* was studied. The results showed that: there was a significant difference in rates of callus induction for contraction stem old leaf sheath and tender leaf sheath, old leaf sheath was the best for callus induction with the rate of 53.3%. Medium for callus induction was MS + 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ + NAA 0.2 mg·L⁻¹; the optimum medium for induction was shoot MS + 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ + NAA 0.25 mg·L⁻¹.

Key words: *Guzmania lingulata*; callus; tissue culture; rapid propagation

星花凤梨(*Guzmania lingulata*)属凤梨科果子蔓属植物,植株莲座状,叶片光滑柔软,穗状花序由叶筒中央抽出,色彩多变,姿态各异,是一种室内观叶观花花卉,花期达半年之久,具有很高的观赏价值。从20世纪90年代开始,国外观赏凤梨新品种开始进入我国花卉市场,90年代中后期,我国开始从国外进口观赏凤梨种苗进行栽培技术与花期调节和繁殖技术的研究。近年来,我国规模化生产凤梨的种苗主要靠国外进口,价格昂贵^[1-6]。应用组培技术进行观赏植物繁殖,具有繁殖速度快、不受季节影响等特点,对于优良品种的引进和推广意义重大。本文通过试验完成了星花凤梨的愈伤组织诱导、不定芽分化的过程,为星花凤梨的工厂化生产和规模化种植提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

试验所用凤梨品种星花凤梨采自陕西省苗木繁

育中心。

1.2 方法

1.2.1 取材、消毒与接种 取温室内生长良好具8~10片叶的健壮星花凤梨植株,流水冲洗干净,切去叶片的展开部分,分别以其短缩茎、老叶鞘、嫩叶鞘为外植体。光用流水冲洗30 min,然后在超净工作台上用75%酒精浸泡30 s,再用0.1% HgCl₂浸泡:嫩叶鞘6 min,老叶鞘和短缩茎8 min,最后用无菌水冲洗6~8次。浸入无菌水中。接种时切去材料与药液接触伤口,外植体材料先横切成长约1.5 cm的小段,再纵切成两半,接种时以纵向切口面接触培养基。

1.2.2 愈伤组织诱导 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(表1),每瓶3个外植体,每处理10瓶,3次重复,共计90个外植体。采用SAS统计分析软件对试验结果进行统计分析。

1.2.3 不定芽的诱导 当在初代诱导培养基上诱

收稿日期:2006-09-18 修回日期:2006-11-09

基金项目:陕西省苗木繁育中心项目“林果新品种引种与克隆”(14220304)

作者简介:刘松涛(1981-),男,湖南武冈人,在读硕士,主要从事林木遗传育种研究。

* 通讯作者:郭军战(1963-),男,陕西渭南人,副教授,主要从事林木遗传育种教学与科研。

发的侧芽株高达 2 cm 左右时,将侧芽在超净工作台上切下,在生长点上方约 0.5 cm 处下刀,切除所有叶片的上部,只留下苗茬,再将苗茬转接到增殖培养基上,基本培养基选用 MS,其中添加不同的浓度的 6-BA,NAA 的组合,定期观察统计结果。

1.2.4 培养条件 pH 值 5.8,琼脂 6 g/L,培养温度 25~28℃,光照 1 500~2 000 lx,光照周期 12 h/d。

表 1 不同激素配比的培养基

Table 1 Culture media of various concentration combinations

符号	培养基	符号	培养基
A1	MS + 6-BA0.5 + NAA 0	B1	MS + 6-BA1.0 + NAA 0
A2	MS + 6-BA0.5 + NAA0.2	B2	MS + 6-BA1.0 + NAA0.2
A3	MS + 6-BA0.5 + NAA0.4	B3	MS + 6-BA1.0 + NAA0.4
A4	MS + 6-BA0.5 + NAA0.8	B4	MS + 6-BA1.0 + NAA0.8
C1	MS + 6-BA2.0 + NAA 0	D1	MS + 6-BA4.0 + NAA 0
C2	MS + 6-BA2.0 + NAA0.2	D2	MS + 6-BA4.0 + NAA0.2
C3	MS + 6-BA2.0 + NAA0.4	D3	MS + 6-BA4.0 + NAA0.4
C4	MS + 6-BA2.0 + NAA0.8	D4	MS + 6-BA4.0 + NAA0.8

注:激素浓度均为 mg · L⁻¹

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

2.1.1 不同取材部位对愈伤组织诱导的影响 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。60 d 后,所形成的愈伤组织为淡黄绿色,较疏松。

表 2 不同取材部位和激素配比诱导愈伤组织比较

Table 2 Comparison of inducing callus with various explants and concentration combinations of NAA and 6-BA

培养基	短缩茎		老叶鞘		嫩叶鞘	
	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
B1	12	13.3	13	14.4	1	1.1
B2	20	22.2	29	32.2	5	5.7
B3	23	25.6	22	24.4	8	8.9
B4	19	21.1	11	12.2	5	5.7
C1	24	26.7	33	36.7	8	8.9
C2	32	35.6	48	53.3	9	10.0
C3	25	27.8	34	37.8	12	13.3
C4	19	21.1	22	24.4	5	5.7
D1	10	11.1	17	18.9	2	2.2
D2	11	12.2	21	23.3	3	3.3
D3	13	14.4	12	13.3	7	7.8
D4	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 2 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,表现出老叶鞘最好、短缩茎次之、嫩叶鞘最差。不同部位的多重分析表明,短缩茎和老叶鞘、老叶鞘和嫩叶鞘、短缩茎和嫩叶鞘对愈伤的诱导存在显著差异。不同外植体的诱导差异,因植物种类和部位而不同,造成这种差异的原因可能是因为不同部位所含内源细胞分裂素与生长素的绝对含量和相对比例不同所致^[7-9]。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。综合诱导率和取材的难易程度上来讲,老叶鞘容易大量获得,而短缩茎作为外植体对植株破坏较大。老叶鞘从茎部剥离下来,带有居间分生组织细胞,在高浓度细胞分裂素刺激下,很快形成愈伤组织,如不继代,可直接形成胚状体并分化出丛生芽,如将其切出继代,可大量形成愈伤组织,故用老叶鞘作为外植体效果最好。所以综合来看认为:对于工厂化育苗来讲,老叶鞘为最佳的取材部位。

2.1.2 不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对愈伤组织诱导的影响 从表 2 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。在短缩茎和老叶鞘的愈伤组织诱导中,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 BA 浓度在 2.0 mg · L⁻¹ 时,BA 2.0 mg · L⁻¹ + NAA0.2 mg · L⁻¹ 愈伤组织的诱导率最高(表 2),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 3),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。进一步做多重比较得出:6-BA(2.0 mg · L⁻¹)、NAA(0.2 mg · L⁻¹)为最佳的浓度组合。

2.2 不定芽的形成

当在初代诱导培养基上诱发的侧芽株高达 2 cm 左右时,将侧芽在超净工作台上切下,在生长点上方约 0.5 cm 处下刀,切除所有叶片的上部,只留下苗茬,切下接入诱导不定芽形成及增殖的培养基中,其中添加不同浓度的 6-BA、NAA,30 d 后观察结果(表 4)。结果表明,在 6-BA2.0 + NAA0.25 的组合中,愈伤诱导生长快,易生长出不定芽,且生长良好。

3 小结

星花凤梨不同部位的愈伤组织诱导率存在极显著差异,老叶鞘和短缩茎的愈伤组织诱导率都较好,对于工厂化育苗来讲,老叶鞘为诱导愈伤的最佳取材部位。

表 3 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

Table 3 Variance analysis of callus inducing ratio with various concentration combinations of NAA and 6-BA in culture medium

变异来源	自由度	短缩茎		老叶鞘		嫩叶鞘	
		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。

表 4 6-BA 与 NAA 不同浓度组合培养基中不定芽分化及生长情况

Table 4 Shoot differentiation and growth with various concentration combinations of 6-BA and NAA in culture medium

6-BA /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	开始分化的 时间/d	状态描述
1.0	0.25	55	差、生长慢
1.0	0.50	46	较好、生长较慢、不适宜
2.0	0.25	28	好、生长快、适宜
2.0	0.50	42	差、生长慢

诱导愈伤的培养基为：MS + 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ + NAA 0.2 mg·L⁻¹；诱导不定芽的培养基为：MS + 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ + NAA 0.25 mg·L⁻¹。

参考文献

[1] 洪燕萍,林顺权,林庆良. 凤梨科植物的离体培养(综述)[J]. 亚热带植物科学,2001,30(2):70-74.

[2] 邵爱民,徐晨光,张瑞明,严平. 凤梨科花卉的组织培养和快繁技术研究[J]. 安徽农学通报,2005,11(6):100-104.

[3] 郑淑萍,徐建新,丁峰,顾敏燕. 星花凤梨的组织培养和快速繁殖[J]. 江苏农业科学,2005(3):94-95.

[4] 金文驰. 观赏凤梨的特殊结构与分类鉴定[J]. 生物学通报 2005,40(6):20-21.

[5] 王伟勇. 观赏凤梨引种试验初报[J]. 浙江农业科学,2001(2):83-85.

[6] 何丽烂,庄尔铮,王惠珍. 观赏凤梨组织培养不同外植体的比较试验[J]. 佛山科学技术学院学报,2002,20(1),78-81.

[7] 陈秀玲,庄尔铮,何丽烂,区耀深. 金边凤梨组织培养快速育苗的研究[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版),2001,19(1):62-65.

[8] 王春荣,及华,赵玉芬. 红藻凤梨的离体快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2002,38(1):46.

[9] 洪燕萍,林顺权. 四种观赏凤梨的离体繁殖[J]. 热带亚热带植物学报,2002,10(1):63-68.

[10] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京:高等教育出版社,1986.

[11] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 北京:中国农业大学出版社,1998.

(上接第 72 页)

[7] 丁一汇. 中国西部环境变化的预测[A]. 见:秦大河. 中国西部环境演变评估(第二卷)[C]. 北京:科学出版社,2002. 114-127.

[8] 王霞. 湟水流域水土流失原因及防治对策[J]. 青海水利,2000(3):18-20.

[9] 唐邦兴,周必凡,吴积善,等. 中国泥石流[M]. 北京:商务印书馆,2000. 60-69,113-135.

[10] 刘东生,孙继敏,吴文祥. 中国黄土研究的历史现状和未来[J]. 第四纪研究,2000,21(3):185-207.

[11] 李润杰,王文卿,刘得俊. 西宁周边沟道水土流失综合治理[J]. 水土保持研究,2006,13(4):158.

[12] 孙学冉. 青海森林资源[M]. 西宁:青海人民出版社,1988.