

Haworthia Tissue Cultivate and Experimental Research

Senfu Xu, Yitao Chen

Taizhou Vocational College of Science & Technology, Taizhou Zhejiang
Email: xdneyx@163.com

Received: May 7th, 2017; accepted: May 28th, 2017; published: May 31st, 2017

Abstract

The technique of tissue culture was studied in this paper. The results show that MS + 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA + 0.4 mg·L⁻¹ NAA is best induced effect. Induction rate could reach 97%. MS + 2.0 mg·L⁻¹ IAA + 2.5 mg·L⁻¹ 6-BA + 0.25 mg·L⁻¹ NAA is induced proliferation of the best effect. Proliferation rate can be up to 3.6 times. 1/2MS + 0.01 mg·L⁻¹ IAA + 0.05 mg·L⁻¹ NAA is the best to take root and plants grow strong. The seeding matrix is the best in the soil of turf:perlite:vermiculite (1:1:1), smelting plants 23°C - 28°C temperature, air relative humidity of 80% - 90% is helpful to improve the survival rate of seedlings.

Keywords

Meaty Plant, Tissue Culture, Proliferation, Domesticated

截形十二卷组培快繁试验

徐森富, 陈依桃

台州科技职业学院, 浙江 台州
Email: xdneyx@163.com

收稿日期: 2017年5月7日; 录用日期: 2017年5月28日; 发布日期: 2017年5月31日

摘要

以玉扇多肉为接种外植体, 对其组织培养技术进行了初步的研究。结果表明: MS + 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA + 0.4 mg·L⁻¹ NAA诱导效果最好, 诱导率可达97%; MS + 2.0 mg·L⁻¹ IAA + 2.5 mg·L⁻¹ 6-BA + 0.25 mg·L⁻¹ NAA增殖效果最好, 培养40 d后增殖率可达3.6倍; 1/2MS + 0.01 mg·L⁻¹ IAA + 0.05 mg·L⁻¹ NAA生根效果最

好, 且植株长势健壮。炼苗基质以草炭土:珍珠岩:蛭石(1:1:1)为最好; 炼苗温度23°C~28°C, 空气相对湿度80%~90%有利于提高炼苗成活率。

关键词

多肉, 组织培养, 增殖, 驯化

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

多肉植物也可称为多浆或多汁植物, 为园艺植物中一个具有特殊形态植物类群的通称, 原产于海滨、高山、沙漠等干燥的环境。它们的特点是根、茎、叶等植物器官特化成可以储存水分的器官, 其植株外观多玲珑可爱, 肥厚多汁, 造型特异, 仪态万千, 极具观赏价值。其中不少多肉植物有着与一般植物不同的特殊的代谢形式, 它们多在晚上较凉爽潮湿时打开气孔吸收 CO₂, 经过羧化反应固定大量 CO₂ 贮存于苹果酸内, 白天气温高时气孔关闭不吸收 CO₂, 而是将前一晚上形成的苹果酸氧化放出 CO₂, 供植物光合作用[1] [2]。因而栽培这类多肉植物迎合了现代人们崇尚健康, 追求美的理念, 吸引了不少人的关注和兴趣, 越来越多的爱好者喜欢收藏莳养, 是近年来非常流行的一类观赏植物[3] [4]。

一些珍贵的多肉植物品种, 特别是一些自然变异的珍贵品种或由于种源少, 或由于常规的繁殖率低, 有的品种还不易开花结实, 这使得它们的扩大繁殖和市场推广受到限制, 市场上价格居高不下。十二卷属玉扇肉质叶排成两列呈扇形, 叶片直立, 稍向内弯, 顶部略凹陷。表面粗糙, 绿色至暗绿褐色, 有小疣状突起, 新叶的截面部分透明, 呈灰白色。习性强健, 根系比较粗壮。有些品种叶片截面上还有灰白色透明状花纹[5] [6]。其园艺品种玉扇锦叶子上有黄色或粉红色斑纹, 更为美丽。有很强的观赏价值, 深受园艺爱好者的喜欢, 市场价格普遍较高, 由于玉扇多肉植物的自然繁殖周期比较长, 需要较大的时间成本, 同时自然繁殖的数量较低, 很难形成规模效应, 因此多肉植物组培快繁的研究具有较好的现实意义与生产应用前景[7]。

2. 材料与方法

2.1. 材料来源

玉扇多肉来自台州市黄岩一冉花果专业合作社。

2.2. 材料的处理

先将采集的拟进行组培快繁的多肉植物组织晾干备用[8]。

2.2.1. 预处理

用肥皂水和软毛刷将多肉组织表面清洗干净, 然后用自来水冲洗 10 min, 剪好备用。

2.2.2. 乙醇消毒

在无菌操作台上将剪好的多肉组织移入无菌杯, 倒入 70% 的乙醇浸没组织, 轻摇 1 分钟后倒出乙醇, 用无菌水冲洗一次。

2.2.3. 氯化汞消毒

用 0.1% 氯化汞浸没多肉组织, 轻摇 6~8 秒钟后倒出氯化汞。

2.2.4. 无菌水清洗

消毒材料中注入适当的无菌水, 晃动 5 次后将水倒掉, 用消毒纸吸干多肉组织。

2.3. 培养及配置

以 MS 为基础培养基(含蔗糖 3%, 琼脂 0.7%, pH 为 5.8), 并添加各种浓度组合的激素, 制好后分别倒入 150 mL 玻璃瓶灭菌。

3. 愈伤组织诱导培养基实验研究

3.1. 不定芽诱导

将玉扇多肉外植体切下接入诱导培养基中培养。愈伤组织诱导处理经表面灭菌的多肉组织接种于添加不同激素及组合的各种培养基上(见表 1), 每瓶 1 个玉扇多肉植物外植体, 每个处理 10 瓶, 重复 3 次 [9]。

3.2. 培养条件

pH 值 5.8, 琼脂 $6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 培养温度 $22^{\circ}\text{C}\sim 25^{\circ}\text{C}$, 光照 $1800\sim 2000 \text{ lx}$, 光照周期 $12 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

将无菌带芽嫩茎接种到 MS 并附加 IBA 和 6-BA 不同浓度组合的培养基上进行培养 45 天。实验结果表明(见表 2), 以 $\text{MS} + 6\text{-BA} 1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{NAA} 0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 这一组合的培养基为最适, 接种 5 d 后, 腋芽开始萌发, 25 d 后长至 $2\sim 2.5 \text{ cm}$ 。将其切下进行继代培养。

4. 增殖分化培养基实验研究

初代培养获得的数量有限, 需经多次继代繁殖以获取大量多肉植物。以初代培养获得的健壮组织接种在分化培养基上进行繁殖, 培养周期 4~5 周, 主要对出芽数量及生长情况进行对比观察 [10], 在 6-BA、IAA 与 NAA 不同浓度配比 10 个组合中见表 3, 芽分化及生长情况见表 4。

从表 4 可以看出, 芽的增殖与 IAA 和 NAA 的浓度有很大的关系, 随着 IAA、NAA 浓度的递增, 芽的增殖效果也逐渐明显, 其中以 A8 增殖倍数最高, 平均达到 3.6 倍。但结合生长情况看, 以 IAA 浓度为 $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时效果最佳, 此时芽生长健壮, 增殖也达到 3.5~3.6 倍。

Table 1. Combination of different hormones

表 1. 不同激素配比的培养基组合

编号	培养基	编号	培养基
I-1	MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L	IV-1	MS + KT 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L
I-2	MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.4 mg/L	IV-2	MS + KT 2.0 mg/L + NAA 0.4 mg/L
I-3	MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.6 mg/L	IV-3	MS + KT 2.0 mg/L + NAA 0.6 mg/L
II-1	MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L	V-1	MS + KT 4.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L
II-2	MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.4 mg/L	V-2	MS + KT 4.0 mg/L + NAA 0.4 mg/L
II-3	MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.6 mg/L	V-3	MS + KT 4.0 mg/L + NAA 0.6 mg/L
III-1	MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L		
III-2	MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.4 mg/L		
III-3	MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.6 mg/L		

Table 2. Different culture medium on the germ induced effects**表 2.** 不同培养基对幼芽诱导影响汇总表

处理	接种数	出芽数	出芽率%
I-1	30	22	73
I-2	30	23	77
I-3	30	24	80
II-1	30	28	93
II-2	30	29	97
II-3	30	28	93
III-1	30	27	90
III-2	30	22	73
III-3	30	24	80
IV-1	30	27	90
IV-2	30	23	77
IV-3	30	25	83
V-1	30	19	63
V-2	30	22	73
V-3	30	21	70

Table 3. Combination of culture medium for proliferation and differentiation**表 3.** 增殖分化所用培养基配方组合

编号	基本培养基	激素水平/(mg·L ⁻¹)		
		6-BA	IAA	NAA
A1	MS	2	0	0.05
A2	MS	2	0.5	0.10
A3	MS	2	1.0	0.10
A4	MS	2	1.0	0.20
A5	MS	2	1.5	0.15
A6	MS	2	1.5	0.30
A7	MS	2	2.0	0.20
A8	MS	2	2.0	0.40
A9	MS	2	2.5	0.25
A10	MS	2	2.5	0.50

通过对多肉植物组织培养研究, 结果表明, 最佳增殖分化培养基为 MS + 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ + IAA 2.5 mg·L⁻¹ + NAA 0.25 mg·L⁻¹ 诱导增殖的效果最好, 芽生长健壮, 增殖达到 3.6 倍。

5. 生根培养基实验研究

将最佳继代培养增殖后生长健壮、整齐一致的试管苗接种到 1/2MS 上并配以 2 种激素的不同浓度 5 个处理进行生根培养。接种 5 d 后从下切口处发出白色根原基, 30 d 后嫩根长至 2.5~4 cm。其间记录原接种苗数、根的条数、长度和生根试管苗数为综合考虑生长量。

由表 5、表 6 可知, 1/2MS + IAA 0.01 mg·L⁻¹ + NAA 0.05 mg·L⁻¹ 为最适生根培养基, 生根率达 90% 以上, 且发根早、根生长快, 其中 IAA 对生根作用明显。各处理对发根数量影响不大, 多数在 3~5 条之间, 个别达到 8 条。

6. 移栽基质实验研究

试管苗由于是在无菌、适宜光照和温度及培养基人工环境条件下进行生长, 因此在形态方面、生理方面等都与自然条件生长的多肉苗有着较大差异。因此须通过炼苗, 通过控水温、增减肥、增减光等措施, 使他们逐步适应外界环境条件, 从而使形态、组织、生理上发生相应的变化, 使之更适合于自然环

Table 4. Different hormones affect seedling differentiation

表 4. 不同激素水平对幼苗分化的影响

编号	接种芽数	增殖倍数/倍	幼芽生长情况
A1	30	1.2	弱小
A2	30	1.7	一般
A3	30	2.1	一般
A4	30	2.5	健壮
A5	30	2.3	健壮
A6	30	2.2	健壮
A7	30	3.4	一般
A8	30	4.2	一般
A9	30	3.6	健壮
A10	30	3.5	健壮

Table 5. Combination of culture medium for rooting

表 5. 生根所用培养基配方组合

编号	基本培养基	激素水平/(mg·L ⁻¹)	
		IAA	NAA
B1	1/2MS	0.005	0.05
B2	1/2MS	0.01	0.05
B3	1/2MS	0.015	0.1
B4	1/2MS	0.02	0.1
B5	1/2MS	0	0.1

Table 6. The influence of different culture medium to take root

表 6. 不同培养基对生根的影响

处理	接种数	生根数	生根率%
B1	30	25	83
B2	30	28	93
B3	30	26	87
B4	30	24	80
B5	30	19	63

境,这样才能保证试管苗顺利移栽成功[11]。移栽前可将培养物不开口移到自然光照下锻炼 2~3 天,让试管苗接受强光的照射,使其长得壮实起来,然后再开口练苗 1~2 天,经受较低湿度的处理,以适应将来自然湿度的条件。

适合于栽种试管苗的基质要具备一定透气性、保湿性和相应的肥力,并且容易灭菌处理,不利于杂菌滋生的特点,一般可选用珍珠岩、蛭石等。为了增加粘着力和肥力可配合草炭土使用。经过多次试验,结果表明,基质配比草炭土:珍珠岩:蛭石为 1:1:1 比例成活率最高(见表 7)。

移栽程序为将多肉植物组培苗从培养瓶中取出,首先用自来水洗净组培苗基部的培养基;其次组培苗杀菌:将组培苗在 500 mg/L 的 50%多菌灵可湿性粉剂溶液中蘸一下;再次组培苗晾干:然后在放置通风阴凉处,晾干至组培苗表面稍有皱缩;然后组培苗移栽:将组培苗种植到栽培基质中,盖膜保持湿度 90%以上,并在早晚各通风 1 小时;7~10 天后即可按照常规的组培苗移栽方法进行管理。

当多肉小苗长出发达根系,移入大棚打开瓶口 3 天,洗净根系上的培养基,移入 72 穴育苗盘,基质配比为草炭土:珍珠岩:蛭石(1:1:1)。将育苗盘置于遮荫棚培养,15 天后移入 10 cm × 10 cm 营养钵中。

7. 讨论与结论

在外殖体处理时外界环境容易出现过湿的情况以及在外殖体处理过程容易造成污染破坏幼苗的生长,在继代培养过程中会出现腋芽长度不齐从而影响生长。在接种过程中由于没有严格遵守相关规程,污染情况也较为严重。

在 MS 培养基的基础上对影响多肉组织培养生长因素进行了试验,结果表明在不同光照时长原球茎生长影响较大,随着光照时间的延长,原球茎生长量也随着增长,当光照时间不足时原球茎出现白化现象,甚至死亡[12]。当光照时间达到 12 h 以上时,原球茎的生长较为旺盛,因此在实际应用时可以采用 12 h 光照时长。同时试验了不同温度对生长的影响,结果表明温度越低生长速度越慢,培养适宜温度为 21°C~23°C。另外还试验了 PH 值对生长的影响,生长最佳 PH 为 5.6~6.6。

在生根培养实验中,瓶苗不经生根培养基培养也能长出根系,从最适生根培养基中可以比较,配制生根培养基所需营养元素仅为初代、继代培养的一半,而且激素的用量也很少,IAA 为 0.01 mg·L⁻¹,NAA 为 0.05 mg·L⁻¹,说明试管苗通过自身叶片合成和吸收的营养物质基本可以满足生根的需要。

移栽是组培快速繁殖工序的最后一步,也是最重要的一步。研究表明,只要前面几个工序做得好,培养出了优质的壮苗,根系生长良好,多肉植物组培苗的移栽是很容易成活的。具体做法是,取出瓶苗,用自来水洗净根系附着的培养基,自然晾干水分后,假植于专门的基质中,稍遮荫,并注意通风。通过试验比较,以草炭土:珍珠岩:蛭石(1:1:1)相混的基质最适宜组培苗的过渡栽培。移栽的季节全年均可进行,但以春秋二季更为适宜,因夏季大多多肉植物有短时间的休眠期。夏季因高温多湿,若水分管理不周,肉质植物体很容易腐烂而死亡。

Table 7. Effects of different substrates on transplanting survival

表 7. 不同基质对移栽成活的影响

处理	成活率(%)	新抽叶数(片)	叶宽(cm)
蛭石	70	3.54	0.41
珍珠岩	60	3.67	0.52
草炭土 + 蛭石	90	3.80	0.61
草炭土 + 珍珠岩	85	3.51	0.62
草炭土 + 蛭石 + 珍珠岩	97	3.95	0.65

移栽苗的水肥管理, 当第一次栽下苗床后必须浇水, 以后掌握不干不浇的原则, 因为肉质植物多数叶片肥厚, 体内贮水多, 相对耐干不耐湿。施肥则掌握薄肥勤施的原则。

在组织培养快繁过程中, 细胞分裂素 BA 和生长素 NAA 均可促进原球茎的诱导和增殖, 培养基中激素种类和浓度对增殖有很大影响。对进行组培快繁研究结果表明: MS + 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA + 0.4 mg·L⁻¹ NAA 诱导效果最好; MS + 2.0 mg·L⁻¹ IAA + 2.5 mg·L⁻¹ 6-BA + 0.25 mg·L⁻¹ NAA 诱导增殖的效果最好; 1/2MS + 0.01 mg·L⁻¹ IAA + 0.05 mg·L⁻¹ NAA 生根效果最好。炼苗基质以草炭土 + 珍珠岩 + 蛭石为 1:1:1 佳; 炼苗温度 23°C~28°C, 空气相对湿度 80%~90% 有利于提高炼苗成活率。

参考文献 (References)

- [1] 胡莹冰, 沈守云. 多肉植物的景观应用及发展趋势[J]. 广东农业科学, 2013, 42(12): 46-48.
- [2] 王新悦. 聚焦多肉嘉年华——2015 上海国际多肉展举办[J]. 中国花卉园艺, 2015(20): 16-17.
- [3] 施大尉. 当下多肉植物流行现象原因初探[J]. 农技服务, 2014(11): 17-18.
- [4] 徐一璐. 多肉植物冬季养护技巧[J]. 中国农业信息, 2016(7): 145.
- [5] 程星星. 多肉植物的未来发展及应用[J]. 科技展望, 2015(26): 88.
- [6] 姚岚, 朱继高. 多肉植物的市场应用调查分析——基于第十七届中国国际花卉园艺展览会的调查[J]. 中国园艺文摘, 2015(9): 142-144.
- [7] 曹春英. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [8] 刘计权. 应用组织培养对覆盆子快速繁殖的研究[J]. 中南药学, 2006, 4(6): 426-428.
- [9] 郭军战, 费昭雪, 成密红. 红掌不同外植体愈伤组织诱导与不定芽分化的研究[J]. 西北林学院学报, 2006, 21(3): 72-74.
- [10] 潘彬荣, 等. 掌叶覆盆子的组织培养技术[J]. 浙江农业科学, 2010, 1(3): 508-510.
- [11] 刘健. 果桑的组织培养体系建立及其 RAPD 分析[D]: [硕士学位论文]. 泰安: 山东农业大学, 2006.
- [12] 杨小兵, 王增利, 等. 光强对悬浮培养下铁皮石斛原球茎生长的影响[J]. 河南农业科学, 2014, 43(1): 116-119.

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org