

朱顶红离体培养快速繁殖体系及胚状体发生

张 松¹ 达克东^{1,2,*} 曹辰兴¹ 姜璐琰¹ 朱瑞芙¹ 吴禄平²

(¹ 山东农业大学园艺学院, 泰安 271018; ² 沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161)

摘 要: 以朱顶红鳞茎基部鳞片为外植体, 在 MS+NAA 1 mg/L + BA 2 mg/L 培养基上愈伤组织的诱导频率最高, 为 93.3%, 愈伤组织上可以直接生芽, 生芽频率为 90.0%。NAA 的诱导效果优于 2,4-D, BA 优于 KT。愈靠近鳞茎基部愈容易诱导产生愈伤组织和不定芽。愈伤组织继代培养 4 次后有胚状体产生。诱导产生的不定芽和胚状体在 MS0 培养基上可以 100% 生根。生根后的再生植株移栽到蛭石中, 浇 MS 无机盐营养液, 成活率达 98% 以上。不生根直接将不定芽移栽到消毒蛭石中, 成活率为 85% 以上。

关键词: 朱顶红; 鳞茎; 离体培养; 形态发生; 胚状体

中图分类号: S 68 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2002) 03-0285-03

1 目的、材料与方法

朱顶红 (*Amaryllis vittata*) 为鳞茎自然分株繁殖, 繁殖系数小。利用组织培养技术可以将植物进行试管微繁^[1,2]。本试验旨在研究影响朱顶红离体快繁的各种因素, 使其达到工厂化、快速、周年育苗的目的。试材为山东农业大学园艺学院优选的大红色朱顶红。鳞茎先用 70% 酒精浸泡 5 min, 转入 0.1% 升汞溶液中消毒 10 min, 然后用无菌水冲洗 3 遍, 切成 1 cm² 大小、厚约 0.5 cm 的小块置于附加不同激素的 MS 培养基上。培养基中蔗糖 30 g/L、琼脂 7 g/L, pH 5.8。每个处理接种 30~40 个鳞茎切段。所有材料均在光照培养箱内培养, 光照时间 16 h/d, 光照强度 3 000 lx, 温度 (25 ± 1) °C。培养 40 d 后调查愈伤组织及不定芽等的分化情况。

2 结果与分析

2.1 不同激素对比对组织培养形态发生的影响

由表 1 可见, 愈伤组织容易产生, 在供试 10 个处理中愈伤组织诱导频率均在 50% 以上, 从总体上来看 NAA 比 2,4-D 的诱导效果好, BA 优于 KT。当生长素和细胞分裂素浓度相当时有利于根的产生, 在处理 3 和处理 8 中都有根的再生, 处理 9 也有少量根产生。在不定芽的诱导上, 处理 1 的诱导频率最高, 达到 90.0%, 其次为处理 7, 芽诱导频率为 52.5%, BA 在 2~4 mg/L 的浓度范围内都有不定芽的产生, 比 KT 的诱导效果好, NAA 和 KT 组合虽然也能诱导出芽, 但是诱导频率较低, 但有利于根的诱导, 当 NAA 为 2 mg/L、BA 为 4 mg/L 时芽的诱导频率仅为 36.7%。2,4-D 对芽的诱导效果不如 NAA。所以, 在朱顶红鳞茎的组织培养中, 生长素类用 NAA, 细胞分裂素类用 BA, 利于愈伤组织和不定芽的分化, 其中以 MS+NAA 1 mg/L + BA 2 mg/L 愈伤组织的诱导频率最高, 达 93.3%, 在愈伤组织上可以直接生芽 (图版, 1~3), 产生频率为 90.0%。

2.2 鳞茎不同部位对组织培养形态发生的影响

将鳞茎按照图 1 所示切割成 4 部分, 分别接种于 MS+NAA 1 mg/L + BA 2 mg/L 培养基上。40 d 后调查愈伤组织、不定芽和根的分化情况 (表 2), 可以看出鳞茎基部取材容易诱导出愈伤组织和不定芽, 诱导频率分别为 93.5% 和 90.3%。外植体越靠顶部越不利于脱分化和再分化。叶鞘管内的幼

收稿日期: 2001-06-01; 修回日期: 2001-07-18

*通讯作者, 现工作单位: 沈阳农业大学博士后流动站, E-mail: kdda@sdaa.edu.cn。

叶上只能诱导出少量愈伤组织,无不定芽的产生。

2.3 继代培养诱导胚状体发生

将 MS + NAA 1 mg/L + BA 2 mg/L 上获得的愈伤组织在同种培养基上每 40 d 继代培养 1 次,4 次后愈伤组织上有胚状体发生(图版,4),胚状体能够用解剖针剥离下来(图版,5),在此培养基上胚状体可以发育成熟(图版,6),但需要转入 MS0 培养基上才能生根。

表 1 不同激素配比对形态发生的影响

Table 1 Effects of hormone combination on morphogenesis

处 理 Treatment	激 素 浓 度 Hormone concentration (mg/L)				诱 导 频 率 Induction rate (%)		
	NAA	2,4-D	BA	KT	愈伤组织 Callus	不定芽 Shoot	根 Root
1	1	0	2	0	93.3	90.0	0
2	1	0	4	0	83.3	40.0	0
3	2	0	2	0	77.1	25.7	37.1
4	2	0	4	0	63.3	20.0	0
5	0	0.5	2	0	62.5	32.5	0
6	0	1	4	0	65.0	20.0	0
7	0	2	4	0	70.0	52.5	0
8	1	0	0	1	53.3	0	36.7
9	1	0	0	2	70.0	13.3	16.7
10	2	0	0	4	80.0	36.7	0

注:外植体为靠近鳞茎基部的鳞片切段。

Note: Explants were basal segments of bulbs.

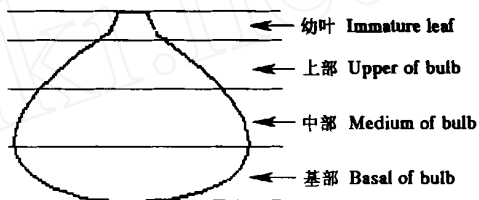


图 1 鳞茎的切割方法

Fig. 1 Cutting method of bulb

表 2 鳞茎不同部位形态发生的影响

Table 2 Effect of different parts of bulbs on morphogenesis

不 同 部 位 Parts of bulb	诱 导 频 率 Induction rate (%)			
	愈伤组织 Callus	不定芽 Shoot	根 Root	
幼叶 Immature leaf	36.7	0	0	
上部 Upper	46.67	26.7	0	
中部 Medium	63.3	53.3	0	
基部 Basal	93.5	90.3	9.7	

2.4 再生芽的诱导生根和移栽技术

再生出的芽长到高 3~4 cm、2~3 片叶时要及时从基部切下,转入 MS0 培养基上诱导生根,生根率可达 100%。愈伤组织则继代培养。当根数达到 2~4 条、根长 3~4 cm 时,可以驯化移栽。先将三角瓶揭开瓶口在培养室内放置 2~3 d,然后用镊子取出植株,洗掉根部附着的培养基,栽于蛭石上,用 MS 矿质盐为营养液隔天喷洒,保持基质湿润,10 d 后小植株成活,成活率可达 98% 以上。成活后转入土壤进行正常的栽培管理。

为了缩短培养时间,加快培养室的运转速度,将达到生根标准的再生芽在超净工作台上直接从基部切下,无需诱导生根直接栽植于消毒蛭石上,置于温室中培养,隔天喷洒 MS 矿质盐营养液,保持温度在 20~30 之间,20 d 后地下部有新根产生,地上部新叶萌发,成活率可达 85% 以上,节省了诱导生根的时间。

参考文献:

- 1 中国花卉协会. 花卉快速繁殖. 上海: 上海科技出版社, 1989. 97
- 2 王纪芳, 贾春兰. 朱顶红组培株生长习性的观察. 中国农业科学, 1989, 22 (1): 53~56

Rapid Micropropagation System Via in Vitro Culture in *Amaryllis vittata* and Its Embryogenesis

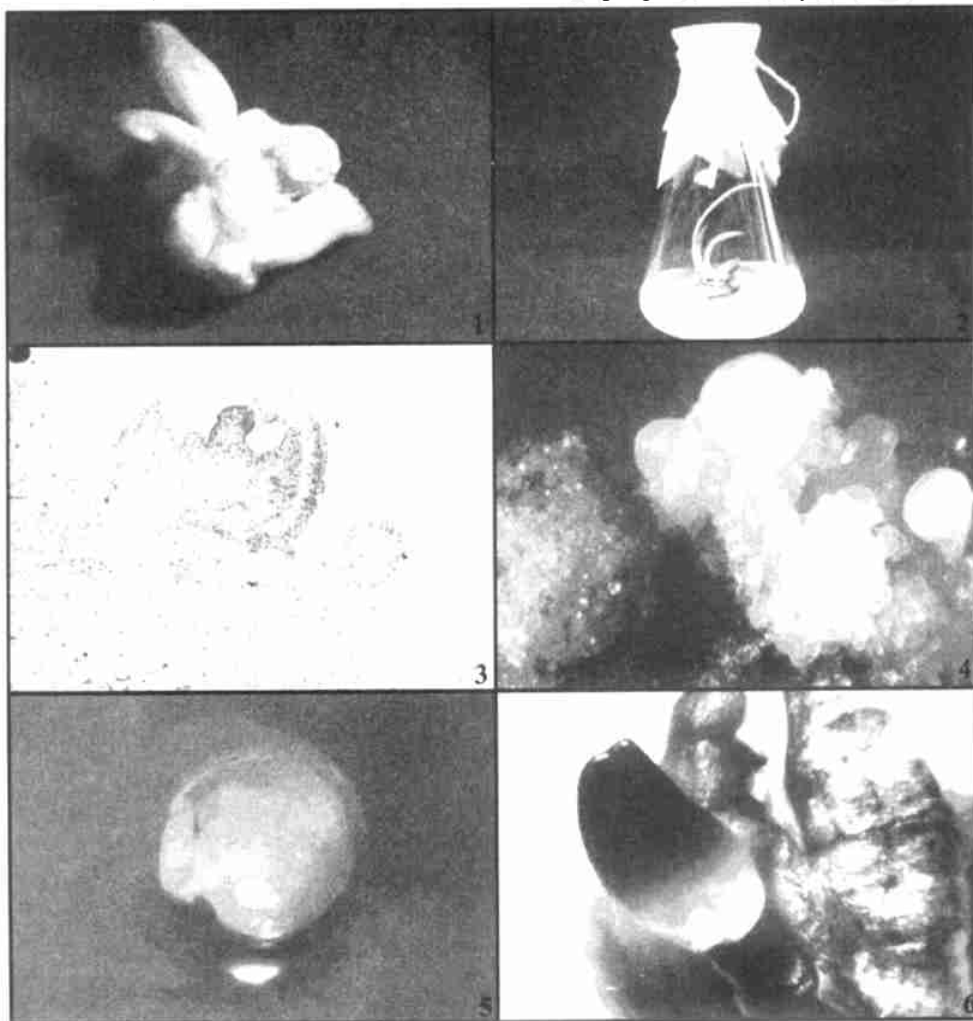
Zhang Song¹, Da Kedong^{1,2}, Cao Chenxing¹, Jiang Luyan¹, Zhu Ruifu¹, and Wu Luping²

(¹ College of Horticulture, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China; ² College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: Effective plant regeneration was obtained on MS medium supplemented with NAA 1 mg/L and BA 2 mg/L, using leaves of basal bulb as explants in *Amaryllis vittata*. The highest callus induction rate was 93.3 %

and shoot induction rate was 90.0 %. The effect of NAA on morphogenesis was better than 2,4-D, and that of BA was better than KT. Embryoid was induced after 4 times of subculture of callus. The regenerated shoots and embryoids were rooted on MS medium with no hormones. Plantlets with roots were then transplanted into vermiculite sprayed with MS mineral elements once every two days with the survival rate of more than 98 %, or the regenerated shoots with no roots were planted in sterile vermiculite whose survival rate reached more than 85 % in order to save culture time.

Key words: *Amaryllis vittata*; Bulb; In vitro culture; Morphogenesis; Embryoid



图版说明 1. 愈伤组织及不定芽; 2. 芽的生长; 3. 不定芽的分化 (70 ×); 4. 愈伤组织上的胚状体发生; 5. 剥离下来的球形胚; 6. 子叶形胚。

Explanation of plates 1. Callus and shoots; 2. Shoot growth; 3. Shoot differentiation (70 ×); 4. Embryogenesis from callus; 5. Globular embryoid; 6. Cotyledonary embryoid.

新书推荐

《中国果树病虫原色图谱》(第二版)

全书介绍果树病虫害近千种, 较原图谱(第一版)增加图片和病虫数量均超过 50 %, 含彩版 114 页, 彩色生态照片 1152 幅, 文字 120 万字, 包括落叶果树病虫害 305 种, 害虫 338 种; 常绿果树和亚热带、热带果树病害 195 种, 害虫 160 种, 成为中国果树病虫识别与防治大全。定价: 101.00 元(含邮费)

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。