

红千层的离体培养及快速繁殖

江洪如 余发新 刘腾云

(江西省科学院生物资源研究所, 南昌 330029)

摘 要: 研究了红千层离体快繁的若干影响因素。结果表明: 叶片在 $MS + 6\text{-BA } 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中的愈伤组织诱导率 43%, 并可直接从愈伤组织表面分化出不定芽, 分化率为 69.2%; 腋芽启动培养基为 $MS + 6\text{-BA } 1 \sim 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 萌动率为 77%; 继代和增殖培养基为 $MS + 6\text{-BA } 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 平均增殖系数为 16.7; 生根壮苗培养基为 $1/2MS + \text{NAA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 生根率 96.1%; 试管苗生根培养 30~35 d 移栽, 成活率最高可达 90% 以上。

关键词: 红千层; 组织培养; 快速繁殖; 愈伤组织

中图分类号: S 68 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 03-0541-03

Tissue Culture and High Frequency Propagation of *Callistemon rigidus* R. Br

Jiang Hongru, Yu Faxin, and Liu Tengyun

(Biological Resources Institute, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330029, China)

Abstract: Effects of several factors such as medium, cutting materials and plant growth regulators on invitro culture and rapid propagation of *callistemon rigidus* R. Br were investigated. Using the leaf and axillary bud as explant, a method for high frequency propagation of *callistemon rigidus* R. Br was established. Results showed: (1) MS medium supplemented with $6\text{-BA } 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $\text{NAA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ was aptimized for callus induction of leaf. The crowd of bud on callus was differentiated with the ratio of 69.2%. On MS medium supplemented with $6\text{-BA } 1 \sim 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $\text{NAA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the crowd of bud was started with the ratio of 77%. (2) The explants diffedrentiated a large number of young buds on MS medium containing $6\text{-BA } 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $\text{NAA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. On this medium shoot multiplication occurred at a 16.7-fold rate. (3) The shoots were rooted on the 1/2 strength MS medium supplemented with $\text{NAA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and the rate of rooting was 96.1%. The shoots could be directly rooted in transplantation medium with up to 90% survival.

Key words: *Callistemon rigidus* R.Br; Plant tissue culture; In vitro propagation; Callus

1 目的、材料与方法

红千层 (*Callistemon rigidus* R. Br) 又名红瓶刷、金层树, 是桃金娘科木本植物, 原产澳大利亚, 现已引入我国。红千层叶披针形, 常绿, 花红色, 形状特异呈穗状, 花期 3~7 月, 其花可作插花, 也可修剪成盆景, 极具观赏价值。红千层的离体培养及快速繁殖研究国外尚未见报道, 国内有关报道也仅为采用红千层带腋芽茎段为外植体进行组培^[1], 未见采用叶片为外植体诱导愈伤组织并出芽的报道。作者旨在探索适于红千层离体培养的优化培养基, 为其快速繁殖研究及广泛应用奠定基础。

试验材料由江西宜黄兴华种业基地提供。取红千层母株的幼嫩小枝, 常规消毒灭菌后, 将枝条切成带 1 个腋芽的小段, 叶片切成 0.5 cm 见方的小块, 接种到诱导培养基中。诱导、分化、继代和增殖基本培养基为 MS, 生根基本培养基为 1/2MS, 附加不同浓度的 BA、NAA、BA, 精制白砂糖 4%

收稿日期: 2004-06-08; 修回日期: 2004-09-16

(大红嘴鸭牌, 南昌市神州六味食品厂生产), 琼脂 0.6%, pH 5.8。培养过程中, 光照 11 h/d, 光照强度 1500 ~ 2000 lx。诱导分化、继代增殖材料每瓶接 6 块, 生根每瓶接 10 株, 每组处理 5 瓶, 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对外植体诱导分化的影响

将剪切的叶片分别接入诱导分化培养基上, 不同的植物生长调节剂及浓度对其诱导分化的影响不同 (表 1)。

表 1 不同培养基对红千层叶片诱导的影响

Table 1 Effects of different medium on propagation of leaves

序号 Number	培养基 Media (mg · L ⁻¹)	外植体数 Number of explants	愈伤组织数 Number of callus	诱导率 Induction rate (%)	不定芽数 Number of adventitious bud	分化率 Differentiation rate (%)
1	MS+BA 0.2+NAA 0.5	30	30	100	0	0
2	MS+BA 0.5+NAA 1.0	30	30	100	0	0
3	MS+BA 1.0+NAA 0.5	30	20	66.7	7	35.0
4	MS+BA 1.5+NAA 0.5	30	13	43.3	9	69.2

培养 7 ~ 10 d, 在 1、2 号培养基中的叶片切口处有白色愈伤组织出现, 诱导率 100%, 25 d 时 1 号培养基上的叶片愈伤组织可见不定根发生, 分化率为 30%, 但这两种培养基没有芽的分化。3、4 号培养基有些叶片切口在 10 ~ 13 d 有颗粒状浅黄色愈伤组织发生, 然后在叶片中间表面出现愈伤组织, 诱导率分别为 66.7% 和 43.3%, 60 d 后切口愈伤组织逐渐褐化, 在叶片中部愈伤组织表面可见密密的绿色不定芽丛, 每个芽丛平均有 10 个芽。当 NAA 浓度为 0.5 mg · L⁻¹ 时, 随着 BA 的浓度升高, 愈伤组织诱导率降低, 但不定芽的分化率升高。同时, 在诱导分化试验中, 将 1、2 号培养基中培养 20 d 的愈伤组织转入 BA 0.5、1.0、1.5、2.0 mg · L⁻¹ 和 NAA 0.1、0.25 mg · L⁻¹ 的配比培养基中, 20 ~ 30 d 后, 愈伤组织块四周逐渐褐化, 中间暗绿色。将叶片未褐化部分再继代培养, 仅在 BA 0.5 mg · L⁻¹ 和 NAA 0.25 mg · L⁻¹ 培养基中发现 1 株芽叶, 分化率为 3.3%, 并且不抽茎。可见只有适宜的 BA 和 NAA 浓度能使红千层叶片诱导愈伤组织并分化出不定芽, 分化率为 69.2%。

当茎段接入 4 种培养基 15 ~ 20 d 后, 1 号和 2 号培养基中有 62% 的茎段腋芽启动, 3 号和 4 号培养基中有 77% 的腋芽在启动, 但生长均较缓慢。当将这些萌动的腋芽茎段继代转入 3、4 号培养基中, 50 d 后, 腋芽可分化出丛生芽, 3 号和 4 号的增殖系数分别为 3.0 和 5.0。

2.2 不同培养基对红千层继代增殖的影响

将获得的小芽丛切成小块, 使每块带有 2 个芽, 在不同的培养基中培养。从表 2 可以看出, 不同的培养基对红千层芽的增殖有影响。在 NAA 0.25 mg · L⁻¹ 时, 随 6-BA 浓度增加, 红千层芽的增殖系数增大。试验结果表明, 增殖培养基以 MS+BA 1 mg · L⁻¹ +NAA 0.25 mg · L⁻¹ 最好, 增殖系数高, 苗较健壮 (图版, A); 而 6-BA 为 1.5 mg · L⁻¹ 时, 虽然增殖系数为 17.1, 但芽苗较弱小, 偶有玻璃化苗出现。当 NAA 为 0.5 mg · L⁻¹, 芽苗基部愈伤组织生长较旺, 影响苗的生长。芽苗的增殖系数在继代 3 次以后, 即达到表 2 的水平。繁殖周期以 45 ~ 50 d 较好, 这时大部分芽苗高度达到 2 ~ 3 cm, 便于切割生根。在红千层的增殖培养中, 腋芽由于受到适宜浓度植物生长调节剂的诱导, 可产生早熟的分枝, 形成增殖的丛生体^[2]。试验证明, 这种增殖系数高, 平均增殖系数达到 16.7, 并且培养 1 年仍保持旺盛的繁殖功能。

表 2 不同培养基对芽增殖的影响

Table 2 Effects of different medium on multiplication of shoot

培养基 Media (mg · L ⁻¹)	平均增殖系数 * Plantlet average multiplication coefficient
MS+BA 0.5+NAA 0.25	10.0
MS+BA 1.0+NAA 0.25	16.7
MS+BA 1.5+NAA 0.25	17.1
MS+BA 1.0+NAA 0.5	12.2

* 增殖系数 = 增殖茎苗数 / 原接种芽数。

Multiplication coefficient = Number of multiplication seedlings /
Number of inoculated shoots

2.3 试管苗的生根和移栽

将 2~3 cm 高的不定芽切下, 转入 $1/2\text{MS} + \text{NAA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1/2\text{MS} + \text{BA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的生根培养基中。研究表明, 在 $1/2\text{MS} + \text{NAA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上, 10 d 芽苗开始生根, 生根率约为 20%, 30 d 时, 生根率为 96.1%, 每株有 9~15 条根。根长 1~1.5 cm。在 $1/2\text{MS} + \text{BA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上培养 7 d 就开始出根, 30 d 生根数约 9 条, 生根率 95.5%, 但试管苗的根和茎都相对前者较弱, 苗细长, 叶小。而 NAA 和 BA 浓度在 $0.1 \sim 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 生根率 50%; 若浓度 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 苗基部愈伤组织生长较旺。因此, $1/2\text{MS} + \text{NAA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的生根壮苗效果最好 (图版, B)。

将培养 30~35 d 的长根试管苗取出, 洗净移至配好的基质中, 基质采用 砒糠灰 泥土 河沙 = 2 1 1, 同时加入 1000 倍的多菌灵拌匀。移栽后的小苗注意遮荫、保湿、适当通风, 小苗成活率最高达 90% (图版, C)。

在红千层的组织培养试验中, 采用 4% 的精制白砂糖替代 3% 的蔗糖, 收到了很好的效果, 这也为其它植物进行工厂化生产、降低成本提供了参考依据。

参考文献:

- 1 龚伟, 宫渊波, 胡庭兴, 王米力, 辜云杰. 红千层离体培养和植株再生. 植物生理学通讯, 2004, 40 (1): 66
Gong W, Gong Y B, Hu T X, Wang M L, Gu Y J. Tissue culture and plant regeneration of *Callistemon rigidus* R. Br. Plant Physiology Communications, 2004, 40 (1): 66 (in Chinese)
- 2 李宝健, 曾庆平. 植物生物技术原理与方法. 湖南: 湖南科学技术出版社, 1990. 348
Li B J, Zeng Q P. Principle and method of plant biotechnology. Hunan: Hunan Science and Technology Press, 1990. 348 (in Chinese)



图版说明: A. 继代产生丛芽; B. 组培苗生根; C. 移栽成苗。

Explanation of plates: A. Shoots in continued culture; B. Shoots of rooting; C. Seedlings of transplantation