

## 一品红叶片愈伤组织诱导及腋芽的增殖

梁红艳, 孙朝阳, 仲惟, 王永志 (三门峡职业技术学院生化工程系, 河南三门峡472000)

**摘要** 以一品红叶片和腋芽为外植体进行了愈伤组织诱导和腋芽增殖的研究, 结果表明, 叶片愈伤组织诱导的最佳培养基为MS + KT 1.0 ng/L + NAA 1.0 ng/L + 2,4-D 0.5 ng/L; 腋芽增殖的较佳培养基为MS + TDZ 0.5 ng/L + KT 0 ng/L + NAA 0 ng/L; 试管苗生根的最佳培养基为MS + NAA 1.0 ng/L + IBA 0.5 ng/L。

**关键词** 一品红; 愈伤组织; 腋芽; 增殖

中图分类号 Q943.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)03-00969-02

**Callus Induction and Propagation of Buds of *Euphorbia pulcherrima* Wild Leaf**

LIANG Hong-yan et al (Biochemical Engineering Department, Sannanxia Polytechnic, Sannanxia, Henan 472000)

**Abstract** The leaf slice and bud being taken as explants, the callus induction and buds propagation were researched. The result was as follows: the most suitable medium for callus induction was MS + KT 1.0 ng/L + NAA 1.0 ng/L + 2,4-D 0.5 ng/L; the better medium for buds propagation was MS + TDZ 0.5 ng/L + KT 0 ng/L + NAA 0 ng/L and the best rooting medium was MS + NAA 1.0 ng/L + IBA 0.5 ng/L.

**Key words** *Euphorbia pulcherrima* Willd.; Callus; Bud

一品红(*Euphorbia pulcherrima* Willd)为大戟科大戟属常绿灌木,因其花期长,苞片色彩鲜艳、喜庆,是一种市场需求量较大的盆栽花卉<sup>[1-2]</sup>。由于一品红雌花比雄花开得早,花期又在冬季,故多不结实。同时,由于一品红茎内有乳汁,常规扦插繁殖存活率较低。笔者以一品红叶片和腋芽为外植体进行愈伤组织诱导和腋芽的增殖,以期提供原生质体培养时材料来源的制备技术以及一品红快繁方法。

**1 材料与方**

**1.1 试验材料** 健壮矮生一品红盆栽苗,市购。

**1.2 试验方**

**1.2.1 外植体的消毒。** 腋芽消毒。剪取长度约1 cm的一品红盆栽苗腋芽,洗去切口分泌出的白色乳汁,自来水冲洗数分钟后,无菌条件下消毒,先用70%乙醇浸泡30 s,无菌水冲洗1次,再用0.1%升汞浸泡7~8 min,无菌水冲洗3~5次。叶片消毒。剪取一品红盆栽苗上部的苞片和新长出的叶片,洗去白色乳汁,自来水冲洗,无菌条件下先用0.1%升汞浸泡7~8 min,无菌水冲洗一次后,70%乙醇分别消毒0.5、1.2和3 min,7 d后统计外植体的污染情况。培养温度(25±2)℃,光照强度2 000 lx,光照时间12 h/d。

**1.2.2 叶片愈伤组织的诱导。** 消毒后的叶片剪成大小约为0.5 cm×0.5 cm见方小块,接种于愈伤组织诱导培养基上,培养基采用三因素(KT、NAA、2,4-D)三水平(1.0、2.0和3.0 ng/L;0.1、0.5和1.0 ng/L;0.05和1.0 ng/L)的L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计,30 d后统计结果。

**1.2.3 腋芽的启动培养和增殖培养。** 将消毒后的腋芽接种于MS+6-BA 0.5 ng/L+NAA 0.1 ng/L培养基中进行启动培养,后转接至增殖培养基中培养,增殖培养基采用三因素(TDZ、KT、NAA)三水平(0.5、1.0、2.0 ng/L;0.01、0.05 ng/L;0.01和0.5 ng/L)的L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验,40 d后统计增殖情况。

**1.2.4 试管苗的生根培养。** 对增殖后的腋芽进行生根培养,生根培养基采用两因素(NAA、IBA)三水平(0.05和1.0 ng/L;0.05和1.0 ng/L)的正交试验设计。

**1.2.5 试管苗的驯化、移栽。** 将生根的一品红试管苗置于室温下,生长几天后,打开封口膜,往培养基中注入少量蒸馏水,当试管苗叶色变得深绿,根系颜色由白色转变为黄褐色时,即可移栽。移栽时,用镊子小心地将试管苗取出,洗去根部培养基,晾干表面水分后移栽到蛭石、珍珠岩、泥炭土为1:1:2,并用1%高锰酸钾溶液消毒的基质中。移栽初期加强光照、湿度及温度的管理,注意遮光,保持相对湿度70%~80%,温度25℃左右,直至长出新叶。

**2 结果与分析**

**2.1 乙醇消毒时间对叶片的影响** 由表1可见,随着乙醇消毒时间的延长,死亡数逐渐增多,而消毒1 min的死亡数低,污染率为0。因此,一品红叶片适宜的消毒方法为:0.1%升汞消毒7~8 min,无菌水冲洗之后,70%乙醇消毒1 min,无菌水冲洗3~5次。

表1 70%乙醇消毒时间对叶片的影响

消毒时间 min Sterile time	总叶片数 Total leaves	污染数 No. of contamination	污染率 % contamin rate	死亡数 No. of death
0.5	10	2	20.0	0
1	20	0	0	1
2	17	3	17.6	3
3	19	3	15.8	4

**2.2 培养基对愈伤组织诱导的影响** 一品红叶片在生长初期,表面出现皱缩,从伤口部位长出黄绿色愈伤组织(图1)。

由表2可见,2号培养基中愈伤组织的诱导率最高,达到42.9%,并且长出的愈伤组织颜色浓绿,生长速度快,细胞分裂能力旺盛(图2),故2号培养基为最佳培养基,而4~9号培养基中只有少数叶片长出愈伤组织。

表2 不同培养基对叶片愈伤组织诱导率的影响

序号 No.	接种叶片数 No. of leaves inoculated	出愈叶片数 No. of leaves formed callus	诱导率 % Callus induction rate
1	14	0	0
2	14	6	42.9
3	16	5	31.2

基金项目 三门峡职业技术学院科研项目(SZY-2006-019)。

作者简介 梁红艳(1978-),女,山西忻州人,硕士,讲师,从事生物技术方面的研究。

收稿日期 2007-07-21

**2.3 培养基对腋芽增殖的影响** 腋芽经启动培养后转接至增殖培养基(图3),在增殖培养基中生长约40 d后,对增殖和生长情况进行统计。

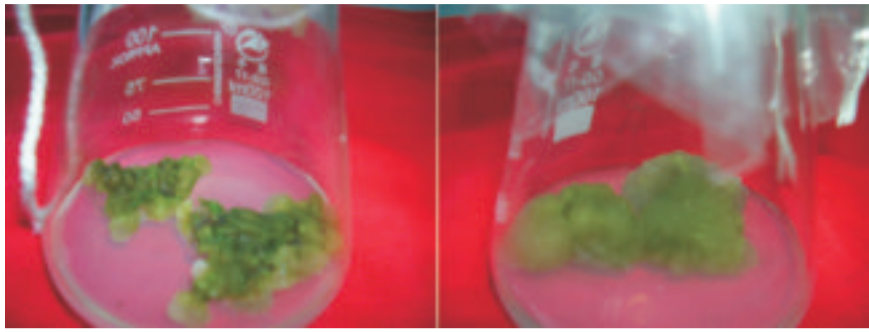


图1 叶片伤口部位愈伤组织 图2 2号培养基的愈伤组织

Fig.1 Callus on wound sites of leaves Fig.2 Callus on medium 2

由表3可见,一品红腋芽增殖系数最高的为1号培养基,按照增殖计算公式  $Y = m(x)^n$ ,母株数  $m$  计为1,年继代次数  $n$  计为11,污染率计为80%,移栽成活率计为80%,则可在一年之后获得上百万株幼苗。运用 SPSS for windows 11.0 统计分析软件进行极差分析和方差比较,结果表明,腋芽增殖的较佳培养基为 MS + TDZ 0.5 ng/L + KT 0 ng/L + NAA 0 ng/L, NAA 的极差值最大,说明 NAA 对结果影响最大,TDZ 次之,而 KT 对结果影响最小,各因素水平间差异不显著。

**2.4 培养基对试管苗生根的影响** 试管苗在生根培养基上生长30 d后,经过观察,只有 MS + NAA 1.0 ng/L + IBA 0.5 ng/L 培养基中的试管苗长出长度约3 cm 的粗壮根系(图4)。

表3 腋芽的增殖和生长情况

Table 3 The axillary shoot proliferation and growth status

序号 No.	培养基 ng/L Media	增殖后数量 Number after proliferated	增殖系数 Proliferation rate	生长情况 Growth status
	MS + TDZ 0.5 + KT 0 + NAA 0	8	4	基部膨大,长出绿色侧芽,较小 Basal portion expanded, with small and green lateral buds
	MS + TDZ 0.5 + KT 0.1 + NAA 0.1	2	1	无增殖,基部有褐色愈伤 No proliferation, with brown callus on basal portion
	MS + TDZ 0.5 + KT 0.5 + NAA 0.5	2	1	基部有红色愈伤,生长缓慢 With red callus on basal portion, grew slowly
	MS + TDZ 1.0 + KT 0 + NAA 0.1	2	1	无增殖,基部有红色愈伤 No proliferation, with red callus on basal portion
	MS + TDZ 1.0 + KT 0.1 + NAA 0.5	4	2	长出几个绿色侧芽,较小 Several small and green lateral buds
	MS + TDZ 1.0 + KT 0.5 + NAA 0	5	2.5	长出不定芽,基部有褐色愈伤 Adventitious buds, with brown callus on basal portion
	MS + TDZ 2.0 + KT 0 + NAA 0.5	2	1	无增殖,基部大量红色愈伤 No proliferation, with a great deal of red callus on basal portion
	MS + TDZ 2.0 + KT 0.1 + NAA 0	4	2	莲座状,叶片体型较大 Rosette, large leaf
	MS + TDZ 2.0 + KT 0.5 + NAA 0.1	2	1	无增殖,基部有红色愈伤 No proliferation, with red callus on basal portion



图3 腋芽启动培养的生长状况

Fig. 3 The growth status of axillary shoot emergence



图4 一品红生根试管苗

Fig.4 The rooting plantlet of *Euphorbia pulcherrima* Wild

培养基为 MS + TDZ 0.5 ng/L + KT 0 ng/L + NAA 0 ng/L; 试管苗生根的最佳培养基为 MS + NAA 1.0 ng/L + IBA 0.5 ng/L。

关于植物生长调节剂 TDZ, 由于其具有极强的细胞分裂素活性, 因而表现出明显地促进腋芽增殖和不定芽分化的效应<sup>[3-5]</sup>, 在一定浓度范围内, TDZ 浓度越高, 增殖速度越快。该试验中, 增殖率最高时 TDZ 的浓度却是最低的, 因此, 笔者认为 TDZ 对植物增殖的适宜浓度应在 0.5 ng/L 以下。

试验还发现, TDZ 虽然对植物的增殖效果显著, 但试管苗往往体型较小, 随着 TDZ 浓度的增大, 部分试管苗甚至表现出明显地簇生效应, 呈莲座状, 因此, 在提高试管苗增殖速率的同时, 还应兼顾试管苗的品质, 以提高其移栽成活率。

#### 参考文献

- [1] 惠康. 盆花产业要发展业内人士支三招[J]. 中国热带农业, 2005(4): 8.
- [2] 谯德惠. 走联合之路共同面对市场——从国际花展看盆花产业发展[J]. 中国花卉园艺, 2005(9): 12.
- [3] 卢永恩, 李汉霞, 叶志彪. 激素 TDZ 对促进白菜下胚轴不定芽再生的效应分析[J]. 华中农业大学学报, 2003(6): 591 - 594.
- [4] 秦玲, 李明, 韩礼星. 不同细胞分裂素对 2001 富士苹果离体叶片再生的影响[J]. 果树学报, 2002, 19(4): 215 - 218.
- [5] 林荣双, 王庆华, 梁丽琨. TDZ 诱导花生幼叶的不定芽和体细胞胚发生的组织学观察[J]. 植物研究, 2003(2): 169 - 172.

### 3 讨论

研究表明, 一品红叶片愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS + KT 1.0 ng/L + NAA 1.0 ng/L + 2,4-D 0.5 ng/L; 腋芽增殖的较佳