

龟甲龙的组织培养与快速繁殖

夏时云¹ 孙涛^{2,*} 李德森³

¹天津农业科学院生物技术中心, 天津 300192; ²天津医科大学基础医学院, 天津 300070; ³南开大学生命科学学院, 天津 300071

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Dioscorea elephantipes*

XIA Shi-Yun¹, SUN Tao^{2,*}, LI De-Sen³

¹The Center of Biotechnology, Tianjin Academy of Agricultural Sciences, Tianjin 300192; ²College of Preclinical Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070; ³College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071

1 植物名称 龟甲龙(*Dioscorea elephantipes*), 南非种。

2 材料类别 冬季块根长出的细茎, 取距茎尖5 cm的茎段。供试植株来源于日本カクタヌ专门家联盟。

3 培养条件 (1)启动培养基 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹(单位下同)+NAA 0.2; (2)分化培养基: MS+6-BA 1.0 +KT 1.0; (3)增殖培养基: MS+KT 0.5+NAA 0.1; (4)复壮与生根培养基: 1/2MS+NAA 0.1+氯化胆碱10。以上培养基均加3%蔗糖、0.7%琼脂, pH 6.0。培养温度(25±2)°C, 光照8 h·d⁻¹, 光照度2 000 lx。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 将截取的材料剪去叶片, 经流水冲洗5 min, 1%新洁尔灭浸洗5 min, 无菌水冲洗3次, 2% NaClO溶液8 min, 无菌水再冲洗4~5次。将消毒的材料置于无菌滤纸上, 剪切成带有叶腋的小段, 即成外植体。

4.2 启动培养 将龟甲龙的外植体接入启动培养基(1), 10 d后从叶腋、伤口等处陆续产生绿色愈伤组织。20 d后叶腋处愈伤生长迅速, 并且最先形成绿色球状小体(GCB); 伤口处愈伤组织仍然单纯增殖, 未见有分化特征。

4.3 分化培养 将叶腋处形成的愈伤组织整个转入分化培养基(2)中, 30 d后GCB开始向芽分化, 从表面可看到很多芽点, 呈浅绿色。继续培养15 d可形成丛生芽, 部分芽开始伸长并有小叶萌出。

4.4 芽的增殖 将上述培养物分割后转入增殖培养基(3)。约20 d后各瓶都形成整瓶丛生芽。此时, 由于激素浓度改变, 叶片退化, 茎大量增殖, 增殖速度非常快, 远远超过带叶子的芽增殖。每20 d为一个继代周期, 将伸长的茎段分割后转入新鲜培养基中继续增殖。在增殖3~4代时会出现不同程度的玻璃化现象, 此时转入空白MS中继代1~2次即可纠正。然后仍转入培养基(3)中增殖。芽增殖倍数3~4倍, 不宜超过6倍, 否则会延长继代周期。此外, 分割的茎段须带有2个以上叶腋, 否则茎段会发生退化性坏死。

4.5 壮苗与生根 在培养基(3)上得到的苗基本上无

叶, 将这样的茎段分割为带有3个叶腋的小段, 转入培养基(4)中。15 d后新叶出现, 并逐渐增多、增大, 30 d左右茎段基部开始膨大, 并于膨大部位的下部有绒毛状根形成, 不见伸长。生根率约80%。茎膨大率在80%以上, 此时须加强光照至3 000 lx, 最佳效果是配合日光照射, 继续培养10 d。每个小苗都有6片以上叶时可移栽, 此时, 下部块茎直径平均0.3 cm左右, 不超过0.5 cm。

4.6 移栽 用蛭石、珍珠岩、泥炭混合(2:1:1)的基质, 经高压灭菌后装入苗钵, 距顶端约5 cm。将开口炼苗1 d的出瓶苗均匀插入基质中, 使小块茎刚好埋入土内, 用家用保鲜膜保湿。用青霉素(80万U·L⁻¹)、链霉素(0.5 g·L⁻¹)、甲硝唑(0.1 g·L⁻¹)、制霉菌素(100 U·L⁻¹)配成的“四抗”溶液浇灌, 逐渐见光。用“四抗”和日光辅助照射可提高小苗成活率到80%以上, 优于常规杀菌剂和单纯日光灯照射的。

5 意义与进展 龟甲龙是薯蓣科薯蓣属的多肉植物, 也是薯蓣科为数很少的多肉植物之一。原产于非洲南部干旱地区, 在墨西哥中部平原还有一种类似种, 称为墨西哥龟甲龙。本文中用的植物材料是非常著名的茎干多肉的多肉植物之一, 作为一个代表种被植物园和科研单位收集研究。其块茎表皮干厚皱裂, 形成类似树皮状“龟甲”, 在休眠期成为典型的拟态植物, 生长期伸出藤蔓状细茎, 并长出心形的叶, 故具有很高的观赏性和收集价值。此外, 其块茎内富含淀粉物质, 可作为淀粉性食物。龟甲龙主要是播种繁殖, 由于是雌雄异体, 需很多年才可以开花, 故严重限制了该物种的繁殖。组织培养法可能是解决此问题的手段。龟甲龙的组织培养和快速繁殖未见报道。

收稿 2003-12-24 修定 2004-05-08

* 通讯作者(E-mail:st820113@sohu.com, Tel:022-24318869)。