

## 风铃玉的组织培养与快速繁殖

吴正景<sup>1\*</sup>, 黄雪娇<sup>1</sup>, 王柏<sup>1</sup>, 彭涛<sup>2</sup>, 马文瑶<sup>1</sup>

<sup>1</sup>河南科技大学林学院, 河南洛阳471003; <sup>2</sup>卢氏县中药材生产管理办公室, 河南卢氏472200

**摘要:** 以风铃玉叶片为外植体诱导愈伤组织并分化出不定芽发生, 经生根得到再生植株, 建立风铃玉离体再生体系。风铃玉愈伤组织诱导的较好培养基为MS+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>, 诱导率为85.7%; 最佳诱芽培养基是MS+IBA 0.02 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>, 能直接诱导出生长健壮的丛生芽; 最佳生根培养基是1/2MS+IBA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>, 生根率高达83.3%。

**关键词:** 风铃玉; 叶片; 组织培养; 快速繁殖

## Tissue Culture and Rapid Propagation of *Ophthalmophyllum friedrichiae*

WU Zheng-Jing<sup>1\*</sup>, HUANG Xue-Jiao<sup>1</sup>, WANG Bai<sup>1</sup>, PENG Tao<sup>2</sup>, MA Wen-Yao<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Forestry College, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China; <sup>2</sup>Lushi County Management Office of Herbal Medicine, Lushi, Henan 472200, China

**Abstract:** In this paper we studied *in vitro* culture of *Ophthalmophyllum friedrichiae* by using leaf as explants, including callus induction, adventitious shoot differentiation and rooting. The results indicated that MS+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup> was the suitable medium for callus induction, with an induction rate of 85.7%. The best medium for adventitious bud differentiation was MS+IBA 0.02 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>, and the shoots induced were strong. 1/2MS+IBA 0.02 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup> was the optimum medium for rooting, and the rooting rate reached 83.3%.

**Key words:** *Ophthalmophyllum friedrichiae*; leaf; tissue culture; rapid propagation

风铃玉别名弗氏肉锥花, 为番杏科(Aizoaceae)风铃玉属(*Ophthalmophyllum*)多年生肉质草本植物, 植株单生或群生, 单株由对生的极端肉质叶组成近似圆柱体, 株高2~3 cm, 其中下部表皮呈红褐色或白绿色中带有红色。顶端圆凸, 表皮极薄, 较为光滑, 几乎接近透明状。风铃玉植株小巧玲珑, 花朵洁白素雅, 是小型多肉植物中的珍品, 整体透红, 外形饱满、巨大者, 价格不菲。风铃玉种子小, 繁殖较为困难(兑宝峰2003; 张学森2008)。利用组织培养的快速繁殖方式可以获得大量后代, 并可以结合人工诱变技术获得更具观赏价值的新种质。

目前, 有关风铃玉组织培养和快速繁殖的研究尚未见报道。本试验以风铃玉叶片为外植体, 建立风铃玉的组织培养和快速繁殖体系, 以期风铃玉工厂化生产育苗与品种改良提供理论基础和实践依据。

### 材料与方法

#### 1 植物材料

风铃玉(*Ophthalmophyllum friedrichiae*)购于北京市莱太花卉市场。

#### 2 外植体处理

选取健壮无病的风铃玉叶片为外植体, 在超净工作台上, 用70%酒精浸泡30 s, 无菌水冲洗1次, 再用0.1% HgCl<sub>2</sub>消毒10 min, 无菌水冲洗5次, 用无菌滤纸吸干表面水分, 切割成1.0 cm×0.5 cm大小片状, 接种于愈伤组织诱导培养基上。

#### 3 培养基和培养条件

愈伤组织诱导以MS为基本培养基, 设置4种植物生长调节剂组合: 6-BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup> (单位下同)+NAA 0.2、6-BA 0.5+NAA 0.5、NAA 1.0+2,4-D 0.5、NAA 2.0+2,4-D 0.5, 添加蔗糖30 g·L<sup>-1</sup>、琼脂7 g·L<sup>-1</sup>, pH 5.8, 以筛选风铃玉叶片愈伤组织诱导的最佳培养基。每瓶接种3个外植体, 每个处理接种10瓶, 重复3次。

不定芽诱导时, 将生长旺盛的风铃玉叶片愈伤组织切成约4 mm×4 mm大小的块状, 接种于MS基本培养基, 添加NAA 0.02+6-BA (0.2、0.4、0.6)

收稿 2015-09-09 修定 2015-09-25

资助 河南科技大学博士科研基金(09001216)。

\* 通讯作者(E-mail: wzj135@sohu.com; Tel: 0379-64282669)。

或IBA (0.02、0.05)+6-BA (1.0、1.5、2.0)、蔗糖30 g·L<sup>-1</sup>、琼脂7 g·L<sup>-1</sup>, pH 5.8。每个处理接种3个愈伤组织块, 重复6次。30 d后观察生长情况并统计芽苗增殖情况。

生根培养时, 选择继代培养中生长健壮、长势一致的无菌苗, 转接于培养基1/2MS、1/2MS+IBA 0.1或MS+IBA 0.1, 添加蔗糖20 g·L<sup>-1</sup>、琼脂7 g·L<sup>-1</sup>, pH 5.8。每瓶接种5个茎段, 每个处理10瓶, 重复3次。21 d后统计生根率和生根数, 观察芽苗生长情况。

以上培养条件均为: 光照强度18 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 光照时间14 h·d<sup>-1</sup>, 温度为(25±2) °C。

#### 4 数据分析

采用Microsoft Excel 2003和DPS数据分析系统对试验数据进行处理与统计分析。

## 实验结果

### 1 外植体诱导愈伤组织

由表1可以看出, 4种植物生长调节剂组合对风铃玉愈伤组织诱导率最低也达到66.6%, 其中, MS+2,4-D 0.5+6-BA 2.0的诱导率最高, 达到95%。从数据上看, 4种组合对愈伤组织的诱导存在明显差异: 高浓度的NAA和6-BA不利于愈伤组织的诱导; 在2,4-D浓度为0.5 mg·L<sup>-1</sup>不变的情况下, 6-BA浓度升高, 愈伤组织诱导率升高。另外, 从愈伤组织的生长状况来看, NAA和6-BA组合对风铃玉愈伤组织诱导的效果明显优于2,4-D和6-BA组合, 愈伤组织呈现淡黄色颗粒状, 质地松散(图1-C)。高浓度的NAA和6-BA下(处理2)愈伤组织色淡, 长势慢, 不利于其生长。

表1 不同植物生长调节剂对风铃玉愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effects of different plant growth regulators on callus induction of *O. friedrichiae*

处理	浓度/mg·L <sup>-1</sup>			愈伤组织诱导率/%	愈伤组织状况
	NAA	2,4-D	6-BA		
1	0.2	0	0.2	85.7 <sup>b</sup>	部分淡黄色, 部分淡绿色, 颗粒状愈伤组织, 愈伤组织较大, 长势好
2	0.5	0	0.5	71.4 <sup>c</sup>	淡黄色, 块大, 愈伤组织质地较松散, 长势一般
3	0	0.5	1.0	66.6 <sup>c</sup>	淡绿色, 愈伤组织排列较紧密, 块小, 长势一般
4	0	0.5	2.0	95.2 <sup>a</sup>	深绿色, 愈伤组织排列紧密, 块较大, 长势好

小写字母表示0.01水平差异显著性, 表2和表3同此。

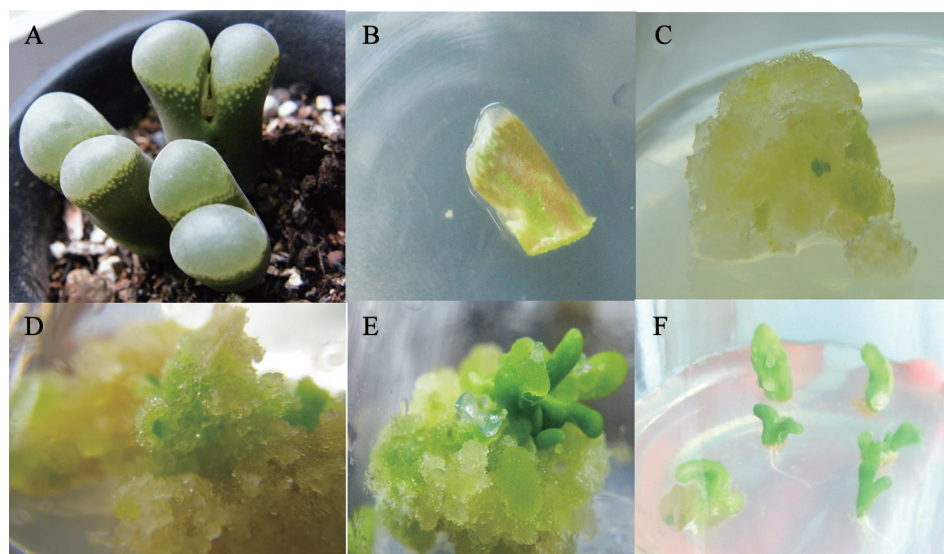


图1 风铃玉的愈伤组织诱导及植株再生

Fig.1 Callus induction and plant regeneration of *O. friedrichiae*

A: 取材用风铃玉母株; B: 外植体接种; C: 愈伤组织; D: 不定芽始发生; E: 不定芽丛生状; F: 不定芽生根。

## 2 不定芽的诱导

在合适的不定芽诱导培养基上接种后1周, 愈伤组织中的绿色小颗粒渐渐变大(图1-D), 再过2~3周, 可以明显看到部分绿色颗粒生长成为叶片(图1-E)。

由表2可以看出: 处理7和8诱导的丛生芽比较多; 处理7的不定芽平均高度最大, 达到1.10 cm; 处理6~8的茎比较粗, 丛生芽比较健壮。综合以上3个指标来看, 培养基MS+IBA 0.02+6-BA 0.2 (处理7)上生长的丛生芽粗壮且比较高, 整体长势较好,

最适合用于风铃玉不定芽的诱导。

## 3 生根培养

从表3可以看出: 培养基为1/2MS时, 加入0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA, 风铃玉不定芽的生根率(83.3%)、平均生根数(2.7条)均比不加IBA时增多; 但培养基为MS时添加0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA, 风铃玉不定芽的生根率、平均生根条数有明显降低。由此可见, 低盐分添加适量IBA对风铃玉不定芽生根诱导具有促进作用。

表2 不同植物生长调节剂对风铃玉不定芽诱导的影响

Table 2 Effects of different plant growth regulators on adventitious bud induction of *O. friedrichiae*

处理	浓度/mg·L <sup>-1</sup>			不定芽数/个	芽平均高度/cm	芽平均茎粗/mm
	NAA	IBA	6-BA			
1	0.02	0	0.2	0	0	0
2	0.02	0	0.4	0	0	0
3	0.02	0	0.6	2	0.60 <sup>c</sup>	2.00 <sup>b</sup>
4	0	0.05	1.0	6	0.81 <sup>b</sup>	1.90 <sup>b</sup>
5	0	0.05	1.5	0	0	0
6	0	0.05	2.0	4	0.72 <sup>b</sup>	2.75 <sup>a</sup>
7	0	0.02	0.2	11	1.10 <sup>a</sup>	2.40 <sup>a</sup>
8	0	0.02	0.5	9	0.76 <sup>b</sup>	2.50 <sup>a</sup>
9	0	0.02	1.0	0	0	0

表3 不同培养基对风铃玉不定芽生根的影响

Table 3 Effects of different media on root induction of *O. friedrichiae*

培养基(浓度/mg·L <sup>-1</sup> )	生根率/%	平均生根数/条	平均根长度/cm
1/2MS	44.4 <sup>c</sup>	1.2 <sup>c</sup>	0.72 <sup>b</sup>
1/2MS+IBA 0.1	83.3 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	0.77 <sup>b</sup>
MS+IBA 0.1	71.4 <sup>b</sup>	1.6 <sup>b</sup>	0.91 <sup>a</sup>

## 讨 论

多肉植物(succulent)也称为多浆或多汁植物, 一般小巧玲珑, 植株肥厚多汁, 造型特异, 形态万千, 近年来逐渐流行, 特别是在出口小盆栽植物上有着相当大的比重(刘与明和张淑娟2012)。部分多肉植物采用特殊的代谢形式, 即景天酸代谢, 它们多在晚上天气较凉爽、潮湿时才打开植株上的气孔, 放出O<sub>2</sub>, 吸收CO<sub>2</sub>, 白天供给植物进行光合作用(李文杰1991)。这类多肉植物有着特殊的耐干旱能力, 可净化空气, 有利于健康, 因而, 栽培这类多肉植物迎合了现代人们崇尚健康和追求美的

理念, 现在越来越多的人喜欢收藏种养。但是很多名优珍稀多肉植物品种自然繁殖率低, 有的很难获得种子, 因此限制了其推广, 使得市场上名品价格居高不下。采用组织培养技术快速繁殖多肉植物是一种行之有效的方法, 可用于保存多肉植物优良的种质资源、繁殖名优珍稀品种、满足出口和园林绿化需要(吴正景等2010a, b)。

风铃玉愈伤组织的诱导主要受植物生长调节剂的影响。本文结果表明, 采用不同浓度和种类的生长素和细胞分裂素组合, 愈伤组织诱导率差异明显, 且愈伤组织的生长状态也各异, 其中MS+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>培养基对风铃玉愈伤组织的诱导较适合。

不定芽的诱导和增殖是植物组织培养再生体系建立成功与否的关键, 而解决幼芽的增殖数量和速率是再生体系中重要的一步(韩创举等2006; 费鹏飞2007)。从本文结果来看, MS+IBA 0.02 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>和MS+IBA 0.02 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>两种培养基配方对不定芽的诱导

效果较好,芽比较多且粗壮,高度也合理,相比而言,后者更为适合,诱导出的不定芽活力较强,接种到生根培养基上后容易生根。

### 参考文献

- 兑宝峰(2003). 多肉植物宝典: 风铃玉·稚儿姿. 园林, (3): 54~55
- 费鹏飞(2007). 楸树组织培养体系的研究[硕士论文]. 合肥: 安徽农业大学
- 韩创举, 杨培华, 樊军锋, 谢斌, 刘永红(2006). 楸树组培技术研究. 西北林学院学报, 21 (1): 80~81
- 李文杰(1991). 景天酸代谢(CAM)和CAM植物. 生命的化学, 11 (1): 30
- 刘与明, 张淑娟(2012). 珍稀多肉植物种质资源组培保存和快速繁殖技术. 园林科技, (1): 8~11
- 吴正景, 王少先, 刘亚楠(2010a). 棒叶落地生根高效再生体系的建立. 植物生理学通讯, 46 (7): 737~738
- 吴正景, 张菊平, 时灿辉, 巩振辉(2010b). 叠氮化钠诱变玉扇愈伤组织的研究. 植物生理学通讯, 46 (12): 1247~1250
- 张学森(2008). 番杏科植物的播种. 中国花卉盆景, (5): 24~26