

## 瓦苇属蓝镜玉露的离体培养与快速繁殖

邢海<sup>1</sup>, 闻秀娟<sup>1</sup>, 杨萌<sup>1</sup>, 智永祺<sup>1</sup>, 孙叶芳<sup>1\*</sup>, 宋锦<sup>2</sup>

(1. 绍兴市农业科学研究所, 浙江绍兴 312000; 2. 绍兴市越城区东湖镇人民政府, 浙江绍兴 312000)

**摘要** [目的]研究蓝镜玉露的离体培养与快速繁殖。[方法]蓝镜玉露花蕾接种于不同培养基后,研究不同生长调节剂及其配比对其愈伤组织诱导、分化、增殖及植株再生的影响。[结果]适宜的外植体培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+TDZ 0.3 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L,外植体脱分化速度快,愈伤组织质量好;适宜的分化培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+TDZ 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L;适宜的增殖培养基为MS+6-BA 0.4 mg/L+TDZ 0.3 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L,增殖系数达5.0。对增殖后的组培苗无需生根处理直接炼苗,炼苗生根成活率高达95%以上。[结论]通过蓝镜玉露的花蕾再生及组培快繁可为工厂化生产提供理论依据。

**关键词** 瓦苇属;蓝镜玉露;多肉;组织培养

中图分类号 S682.23 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)31-0042-03

**In Vitro Culture and Rapid Propagation of Blue Mirror Jade Dew (*Haworthia*)**

XING Hai, WEN Xiu-juan, YANG Meng et al (Shaoxing Academy of Agricultural Sciences, Shaoxing, Zhejiang 312000)

**Abstract** [Objective] To study the *in vitro* culture and rapid propagation of Blue Mirror Jade Dew. [Method] After the flower buds of Blue Mirror Jade Dew was inoculated onto different culture mediums, we researched the effects of different growth regulators and their mixtures on callus induction, differentiation, proliferation and plant regeneration. [Result] The suitable explant culture medium was MS+6-BA 1.0 mg/L+TDZ 0.3 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 7 g/L, and the explants dedifferentiated quickly and the callus quality was good under these conditions. The suitable differentiation medium was MS+6-BA 1 mg/L+TDZ 0.5 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 7 g/L. The suitable proliferation medium was MS+6-BA 0.4 mg/L+TDZ 0.3 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 7 g/L, and the proliferation coefficient was 5.0 under these conditions. After the propagation of the tissue culture seedlings, no rooting treatment was needed, and the survival rate of the seedlings was as high as 95%. [Conclusion] The study of flower bud regeneration and tissue rapid propagation of Blue Mirror Jade Dew can provide a theoretical basis for large-scale production.

**Key words** Haworthia; Blue Mirror Jade Dew; Succulent; Tissue culture

蓝镜玉露为百合科瓦苇属中软叶类多肉植物,原产非洲。其株型紧凑、矮壮,三角窗圆顶,有顶毛,叶片两侧有侧毛,叶片背部有两条背毛,皮色油亮,晒后呈现出深邃而内敛的蓝光,糯窗,这是该品种的典型特征,故名“蓝镜玉露”。由于多肉植物具有较高的观赏价值,因此蓝镜玉露已成为园艺植物爱好者喜爱栽培的植物类型,但由于瓦苇属植物具有自交不亲和性<sup>[1-2]</sup>,因此大多采用分株、叶插等方法繁殖<sup>[3-4]</sup>,但这些繁殖方法容易损害母本,且繁殖系数小<sup>[5]</sup>、繁殖速度慢,因此无法满足市场需求,价格居高不下<sup>[6]</sup>。离体组培繁殖是快速繁殖的最有效方法,目前国内外对瓦苇离体组织培养已有报道,如蓝镜玉露同属的康平寿<sup>[7]</sup>、克里克特寿<sup>[8]</sup>、西山寿<sup>[9]</sup>、美吉寿<sup>[10]</sup>和白银寿<sup>[11]</sup>、冰灯玉露、黑肌玉露<sup>[6]</sup>、姬杂玉露<sup>[12]</sup>等。目前,对蓝镜玉露的组织培养鲜见报道。鉴于此,笔者以瓦苇属蓝镜玉露的花萼及幼嫩花蕾为外植体,研究了不同生长调节剂及其配比对蓝镜玉露愈伤组织诱导、分化、增殖及植株再生的影响,为多肉植物蓝镜玉露的离体快繁提供参考。

**1 材料与方法**

**1.1 供试材料** 供试蓝镜玉露由绍兴市猫咪爪园艺场提供,选择幼嫩花蕾为外植体。

**1.2 试验方法**

**1.2.1 初代培养。**外植体灭菌时间的筛选:将蓝镜玉露去

除闭合花蕾的外苞片,再将花蕾连同花柄逐个切下。外植体经流水冲洗 20 min 以上,用洗洁精浸泡 30 min 后用自来水冲洗干净,超净台上用 75% 乙醇冲洗 30 s,无菌水冲洗 3~5 次,用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 溶液进行灭菌处理 6 min,并不停的搅拌使消毒更彻底,最后用无菌水清洗 5~6 次。将表面灭菌的材料浸泡在无菌水中待用。并将花柄切除 2~4 mm,接种到诱导培养基上。

**1.2.2 培养基。**以 MS 培养基作为基本培养基,根据试验阶段不同,分别添加不同浓度和配比的 TDZ、6-BA、KT 及 NAA。附加 3.0% 的蔗糖和 0.7% 的琼脂,灭菌前 pH 调整为 5.8。

**1.2.3 培养条件。**材料接种于不同培养基后,以 (25±2)℃ 为培养温度,光照强度约为 1 500~2 000 lx,光照时间为 12 h/d。

**1.2.4 不同植物生长调节剂处理对外植体诱导的影响。**将蓝镜玉露外植体接种于不同诱导培养基中(①MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;②MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;③MS+6-BA 1.0 mg/L+TDZ 0.3 mg/L),每瓶接 2 个花蕾,每个处理接种 30 个花器官,重复 3 次。30 d 后统计愈伤组织形成率,并观察其生长情况。

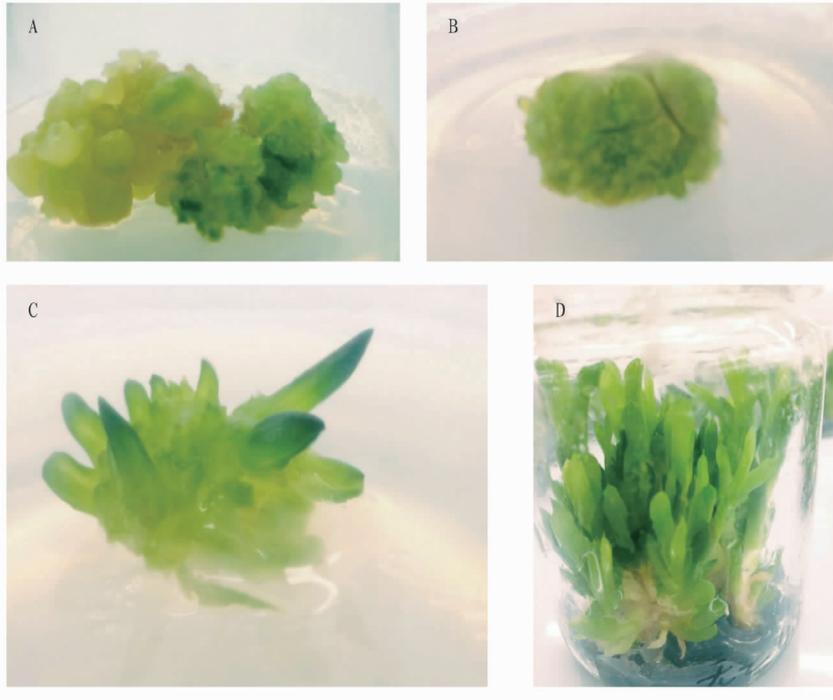
**1.2.5 6-BA 和 TDZ 不同浓度组合对不定芽分化的影响。**6-BA/TDZ 按 1:0、1:1、2:1 比例;TDZ/6-BA 按 1:0、1:1、2:1 比例分别添加到基本培养基中,观察不同生长调节剂浓度组合对蓝镜玉露不定芽分化的影响。每个处理接种 20 团愈伤组织,重复 3 次,20 d 后统计不定芽分化情况。

**1.2.6 不同 6-BA 浓度对蓝镜玉露不定芽增殖的影响。**6-

**基金项目** 绍兴市科技计划项目(2017B70017)。**作者简介** 邢海(1981—),男,浙江嵊州人,农艺师,从事园艺、农业推广方面的研究。\*通讯作者,高级农艺师,硕士,从事土壤生物化学、植物组织培养研究。**收稿日期** 2018-08-14; **修回日期** 2018-09-14

BA 浓度分别设定为 0、0.2、0.4、0.6、0.8 mg/L, TDZ 浓度为 0.3 mg/L。每瓶接种蓝镜玉露不定芽 3 个, 每个处理 20 个

芽, 重复 3 次。20 d 后观察芽的增殖率。



注: A, B: 愈伤组织; C: 不定芽分化; D: 丛生芽增殖

Note: A. B. Callus; C. Adventitious bud differentiation; D. Clustered shoots multiplication

图 1 蓝镜玉露的离体培养及快速繁殖过程

Fig. 1 *In vitro* culture and rapid propagation of Blue Mirror Jade Dew

## 2 结果与分析

**2.1 不同植物生长调节剂处理对外植体诱导的影响** 外植体接种 15 d 后开始膨大, 30 d 后在边缘产生较多淡绿色的瘤状组织, 并逐渐发展成为瘤状突起的愈伤组织。40 d 时, 大部分形成愈伤组织(图 1A、B)。由表 1 结果可知, 不同的植物生长调节剂均能诱导形成愈伤组织, 但不同植物生长调节剂启动速度和质量存在较大差异。其中处理③形成愈伤组织能力最强, 达到 93.3%, 说明花蕾外植体在该培养基上细胞分裂旺盛(图 1B)。其次为处理②, 而处理①诱导率偏低, 说明该培养基不适宜作为外植体培养基。因此, 处理③ MS+6-BA 1.0 mg/L+TDZ 0.3 mg/L 为最适的外植体培养基。

表 1 不同植物生长调节剂处理对外植体诱导的影响

Table 1 Effects of different plant growth regulators on the induction of explants

处理编号 Treatment code	接种数 Inoculation number 个	愈伤组织诱导 Callus induction %	诱导情况 Induction situation
①	30	43.3 c	启动较慢, 膨大后愈伤组织少, 颗粒小
②	30	76.7 b	愈伤组织诱导速度较快, 成团块状, 大质地较疏松, 分化速度较慢
③	30	93.3 a	愈伤组织诱导速度快, 成团块状, 质地紧密, 易分化出芽

注: 同列不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著

Note: Different small letters indicated significant differences between the different treatments at 0.05 level

**2.2 6-BA 和 TDZ 不同浓度组合对不定芽分化的影响** 将在愈伤组织诱导培养基上培养了 40 d 的愈伤组织转接到 5 种不同的分化培养基上: ① MS+6-BA 1.0 mg/L, ② MS+6-BA 1.0 mg/L+TDZ 0.5 mg/L, ③ MS+6-BA 1.0 mg/L+TDZ 1.0 mg/L, ④ MS+TDZ 1.0 mg/L, ⑤ MS+6-BA 0.5 mg/L+TDZ 1.0 mg/L。培养 10 d 左右开始出现绿色芽点, 芽点不断生长, 逐渐长成不定芽(图 1C), 培养 30 d 后统计芽的分化率。由表 2 可知, 愈伤组织在不同培养基上均能诱导出不定芽, 但不同生长调节剂浓度对其分化的影响存在较大差异。其中处理②分化率最高, 而处理④分化率最低, 即当 6-BA 为 0 时, 分化率最低。由此可见, 6-BA 在不定芽分化过程中起决定性作用。比较处理①、②、③可知, 当不添加 TDZ 时, 分化率偏低; 当 TDZ 过高时, 玻璃化较严重, 所以适当的 TDZ 浓度可以增加分化率。比较处理②和⑤可知, 6-BA 浓度高于 TDZ 时, 分化率提高, 当 TDZ 比 6-BA 浓度低时, 分化率下降。综上所述, MS+6-BA 1.0 mg/L+TDZ 0.5 mg/L 为不定芽分化最适培养基。

**2.3 不同 6-BA 浓度对蓝镜玉露增殖生长的影响** 将分化的不定芽分别转接到添加有不同浓度 6-BA 及相同浓度 TDZ 的 MS 培养基上进行增殖: ① MS+TDZ 0.3 mg/L+NAA 0.1 mg/L; ② MS+6-BA 0.2 mg/L+TDZ 0.3 mg/L+NAA 0.1 mg/L; ③ MS+6-BA 0.4 mg/L+TDZ 0.4 mg/L+NAA 0.1 mg/L; ④ MS+6-BA 0.6 mg/L+TDZ 0.4 mg/L+NAA

0.1 mg/L;⑤MS+6-BA 0.8 mg/L+TDZ 0.4 mg/L+NAA 0.1 mg/L。培养45 d后,统计增殖幼苗的增殖系数及生长情况。

表2 不同6-BA和TDZ浓度组合对不定芽分化的影响

Table 2 Effects of different combinations of 6-BA and TDZ on adventitious bud differentiation

处理编号 Treatment code	6-BA和TDZ组合 Combination of 6-BA and TDZ		愈伤组织数 Callus number 块	分化率 Differentiation rate %	芽生长状况 Bud growth status
	6-BA	TDZ			
①	1.0	0.0	20	35 b	芽生长速度缓慢,出芽数较少
②	1.0	0.5	20	75 a	芽生长迅速,出芽健康
③	1.0	1.0	20	70 a	芽生长迅速,有玻璃化现象
④	0.0	1.0	20	20 c	芽生长速度缓慢,出芽数较少,有玻璃化现象
⑤	0.5	1.0	20	40 b	芽生长速度缓慢,出芽数较少,且有玻璃化

注:同列不同小写字母表示不同处理间在0.05水平差异显著

Note: Different small letters indicated significant differences between the different treatments at 0.05 level

由表3可知,处理③的增殖系数最高,达到5.0,但有较轻微的玻璃化现象;而处理①和②均无玻璃化现象,但其增殖系数较处理③低。此外,当6-BA浓度继续增加到0.6和0.8 mg/L时,玻璃化程度越来越严重,分化出的丛生芽叶片细长、透明,且增殖系数也有所下降。综合考虑,当6-BA浓度为0.4 mg/L时,增殖效果较好(图1D)。

表3 不同6-BA浓度对蓝镜玉露增殖生长的影响

Table 3 Effect of different 6-BA concentration on growth and proliferation of Blue Mirror Jade Dew

处理编号 Treatment code	6-BA浓度 6-BA concentration mg/L	接种数 Inoculation number 个	增殖系数 Multiplication coefficient	芽增殖情况 Bud multiplication situation
①	0.0	20	1.96 e	增殖速度慢,无玻璃化
②	0.2	20	2.98 d	增殖速度较慢,无玻璃化
③	0.4	20	5.00 a	增殖速度快,有轻微玻璃化
④	0.6	20	4.10 b	增殖速度快,玻璃化程度较重
⑤	0.8	20	3.60 c	增殖速度快,玻璃化程度严重

注:同列不同小写字母表示不同处理间在0.05水平差异显著

Note: Different small letters indicated significant differences between the different treatments at 0.05 level

**2.4 炼苗移栽** 将增殖后株高2~3 cm的蓝镜玉露组培苗取出,洗净其基部的培养基,风干3~4 d后移栽至混合基质中(泥炭:椰糠:蛭石=5:3:2),15 d后即可生根。遮阴条件下生根成活率可达到70%,30 d后生根生活率可达95%。

### 3 结论与讨论

在瓦苇属蓝镜玉露组培快繁过程中,对于一些稀有、名贵的多肉品种,外植体通常选择再生能力较强的花蕾,这样既不影响母本植株的生长,又容易获得无菌的外植体材料。在蓝镜玉露的外植体诱导培养阶段,细胞分裂素6-BA浓度为1.0 mg/L,TDZ浓度为0.3 mg/L时有利于外植体的诱导,愈伤诱导率达93.3%。在愈伤组织分化阶段,2种生长调节剂6-BA和TDZ与低浓度NAA配合使用更有利于愈伤组织生长和丛生芽的分化,当6-BA 1.0 mg/L、TDZ 0.5 mg/L、NAA 0.01 mg/L时,愈伤组织分化率达75%。在蓝镜玉露的增殖培养阶段,MS+6-BA 0.4 mg/L+TDZ 0.4 mg/L+NAA

0.1 mg/L更利于蓝镜玉露的增殖,增殖系数达到5。

在玉露组培快繁过程中,愈伤组织和丛生芽的玻璃化现象比较严重<sup>[13-14]</sup>。该研究中,各个阶段均出现了不同程度的玻璃化现象,主要原因是6-BA和TDZ浓度过高。当6-BA浓度达到0.6 mg/L时,叶片透明、细长、玻璃化现象较严重。而在低浓度6-BA条件下,尽管玻璃化程度较轻或无玻璃化现象,增殖速率也随之下下降,因此该试验中6-BA浓度为0.4 mg/L时较为适宜。当TDZ浓度大于0.5 mg/L时,随着浓度的增加,玻璃化现象变得越严重,因此TDZ浓度在0.3~0.5 mg/L时较适宜。

蓝镜玉露作为一种新型的室内景观花卉,具有较高的观赏价值和市场前景<sup>[15]</sup>。该试验以蓝镜玉露花蕾为外植体,对其离体培养及快速繁殖技术进行了研究,建立了蓝镜玉露优质组培苗工厂化生产程序,同时省去组培苗生根阶段,直接炼苗生根,在保证生根成活率的同时,大大缩短了繁苗进程,为蓝镜玉露组培苗规模化生产提供了参考依据。

### 参考文献

- [1] 陆文佳. 浅谈多肉软叶十二的杂交繁殖[J]. 花卉, 2016(6): 34-35.
- [2] 夏时云, 孙涛, 李德森. 杂交寿的无菌播种、筛选、快速繁殖与离体种质保存[J]. 华北农学报, 2004, 19(4): 114.
- [3] 黄献胜. 趣味的多肉花卉世界——百合科十二卷属[J]. 花木盆景(花卉园艺), 2002(1): 63.
- [4] 谢维荪. 南非多肉植物掠影[J]. 中国花卉盆景, 2004(8): 2-3.
- [5] ROGERS S M D. Optimization of plant regeneration and rooting from leaf explants of five rare Haworthia[J]. Scientia horticulturae, 1993, 56(2): 157-161.
- [6] 郭生虎, 朱永兴, 关雅静. 百合科十二卷属玉露的组培快繁关键技术研究[J]. 中国农学通报, 2016, 32(34): 85-89.
- [7] 孙涛, 金蕊, 李德森. 康平寿的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3): 232.
- [8] 左志宇, 李建希, 安晓云, 等. 克里克特寿的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(2): 311-312.
- [9] 宋晓涛, 沈萌, 左志宇, 等. 十二卷属植物西山寿的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(5): 883-884.
- [10] 王泉, 左志宇, 宋晓涛, 等. 百合科多肉植物美吉寿的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(1): 123-124.
- [11] 王紫珊, 王广东, 王雁. 多肉植物白银寿‘奇迹’的离体培养与快速繁殖[J]. 基因组学与应用生物学, 2014, 33(6): 1329-1335.
- [12] 马赞留, 戴云新, 蔡江海, 等. 两种常用多肉植物高效组培快繁技术研究[J]. 现代园艺, 2016(10): 12-13.
- [13] 谷瑞升, 蒋湘宁, 郭仲琛. 植物离体培养中器官发生调控机制的研究进展[J]. 植物学通报, 1999, 16(3): 238-244.
- [14] 朱天华, 陆锦明, 孙清, 等. 十二卷类植物的离体培养技术研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2012, 30(3): 45-48.
- [15] 闵勇. 多肉植物产业现状及未来发展的思考[J]. 园林, 2016(4): 38-41.