

# 龙骨花的组织培养研究

纪春艳, 张洋洋, 王 颖

(牡丹江师范学院 生命科学与技术学院, 黑龙江 牡丹江 157012)

**摘 要:** 在培养条件完全相同的条件下, 对龙骨花进行组织离体培养。结果表明: 带芽眼茎段和茎尖比叶片诱导效果好; 以不同大小带芽眼茎段和茎尖作为外植体诱导愈伤组织及分化芽时,  $0.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$  较  $0.3\text{ cm} \times 0.3\text{ cm}$  大小的外植体效果好; 选取  $0.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$  大小的茎段作为外植体进行组织培养, 进行愈伤组织及芽诱导时用含 6-BA  $1.0\text{ mg/L}$  + NAA  $0.5\text{ mg/L}$  的 MS 培养基效果最佳, 进行生根诱导时以  $1/2\text{MS}$  附加 NAA  $0.2\text{ mg/L}$  效果最佳。

**关键词:** 龙骨花; 茎段; 组织培养

**中图分类号:** S 681.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)24-0152-02

龙骨花(*Euphorbia trigona* H.) 属大戟目大戟科大戟属多肉植物, 别名三角霸王鞭、彩云阁、龙骨柱, 原产于纳米比亚<sup>[1]</sup>。龙骨花生长健壮, 高达  $2\sim 3\text{ m}$ , 植株呈灌木状, 分枝多而密, 嫩肉质, 叶长  $2\sim 4\text{ cm}$ 。龙骨花具有美丽的斑纹, 株型丰满, 观赏效果好。该花被誉为“有机绿色食品”, 把花制成干品, 用于煲汤食用, 具有健胃降脂功效。花性微寒味甘, 具有清热润肺、止咳的功效。可适用于治肺结核、支气管炎、颈淋巴结核、胰腺炎等。该花有“万能砧木”之称, 用龙骨花做砧木可与虎刺梅、蟹爪兰嫁接, 奇花异木, 多姿多彩<sup>[2]</sup>。龙骨花四季长青, 同时又具有净化室内空气, 美化生活环境的作用, 近年来越来越为人们所喜爱<sup>[3]</sup>。龙骨花常规多采用扦插方法进行营养繁殖, 繁殖指数低, 周期较长<sup>[4]</sup>, 而利用植物组织培养技术建立龙骨花无性系, 将会达到扩繁的目的。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

龙骨花采自牡丹江师范学院生命科学与技术学院植物学实验室。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 无菌外植体材料的获得** 取生长健壮的龙骨花带芽茎段、茎尖和叶片, 在流水下冲洗  $15\sim 30\text{ min}$  后晾干, 在无菌室的超净工作台上用  $75\%$  酒精浸泡  $15\text{ s}$ , 无菌水冲洗 3 次, 每次  $1\sim 2\text{ min}$ 。然后用  $0.1\%$   $\text{HgCl}_2$  浸没材料, 轻轻震荡  $6\text{ min}$ , 无菌水冲洗 3 次, 每次  $1\sim 2\text{ min}$ 。无菌条件下, 用灭菌的吸水纸吸干材料表面的水分, 然后将外植体分别切成  $0.3\text{ cm}^2$  和  $0.5\text{ cm}^2$  的小块,

作为外植体材料, 接种于培养基上<sup>[5]</sup>。

**1.2.2 愈伤组织及芽的诱导培养** 分别将不同大小的外植体接种于 1~8 号培养基中。每瓶培养基接种 4 个外植体材料, 每个浓度重复 10 次。诱导培养基以 MS 为基本培养基, 蔗糖  $30\text{ g/L}$ , 琼脂  $7.5\text{ g/L}$ , 附加不同浓度和不同配比的细胞分裂素 6-BA 和生长素 NAA, pH 为 5.8。接种后置于恒温培养箱中培养, 培养温度为  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ , 光照强度为  $30\sim 40\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。芽苗长至  $1\sim 2\text{ cm}$  左右, 将起始培养长出的芽苗, 从基部切下, 转入新配的培养基中, 进行继代培养, 培养条件同上。

**1.2.3 生根诱导** 取生长旺盛的试管苗进行生根诱导, 培养基以  $1/2\text{MS}$  为基本培养基, 蔗糖  $30\text{ g/L}$ , 琼脂  $10\text{ g/L}$ , 添加少许活性炭及不同浓度的生长素, pH 5.8, 培养条件同上。

**1.2.4 练苗与移栽** 当苗高  $2.5\text{ cm}$  左右, 根健壮时, 打开培养瓶口, 练苗  $2\sim 3\text{ d}$ , 然后取出小植株, 用温水洗净根部琼脂, 移栽到装有富含腐殖质的疏松肥沃土质的花盆中, 温度保持在  $15\sim 20^\circ\text{C}$ , 保湿, 避免阳光直射。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同外植体对愈伤及芽诱导的影响

分别选取带芽茎段、茎尖和叶片作为外植体接种于 1~8 号培养基中进行愈伤组织及芽的诱导。结果表明叶片的诱导率远低于带芽茎段和茎尖。再将带芽茎段切成大小分别为  $0.3\text{ cm}^2$  和  $0.5\text{ cm}^2$  的外植体分别接种于 1~8 号培养基中。结果表明,  $0.3\text{ cm}^2$  的外植体愈伤组织形成情况与分化出芽率均远低于  $0.5\text{ cm}^2$  的外植体。

### 2.2 不同浓度配比的激素对愈伤及芽诱导的影响

大小为  $0.5\text{ cm}^2$  的外植体分别接种于 1~8 号培养基中, 愈伤组织形成与分化出芽个数如表 1 所示。

第一作者简介: 纪春艳(1964), 女, 硕士, 教授, 现主要从事细胞生物学的教学与科研工作。E-mail: sw\_xjcy@126.com。

基金项目: 黑龙江省教育厅科技基金面上资助项目(11551516)。

收稿日期: 2010-10-14



图1 外植体膨大形成愈伤组织

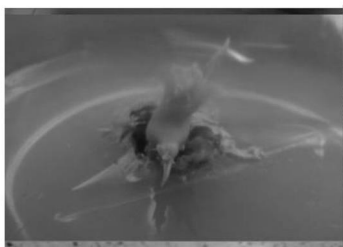


图2 愈伤组织形成丛芽



图3 激素加少量活性炭诱导的生根情况

表1 不同浓度配比的激素对愈伤组织及芽的诱导效果比较

培养基号	激素 / mg · L <sup>-1</sup>	接种外植体的个数	愈伤或分化出芽的外植体个数
1	6-BA 0.5+NAA 0.1	20	10(愈伤)
2	6-BA 1.0+NAA 0.1	20	20(愈伤)
3	6-BA 1.0+NAA 0.3	20	12(愈伤)
4	6-BA 1.0+NAA 0.5	20	20(愈伤且出芽)
5	6-BA 1.2+NAA 0.1	20	9(愈伤)
6	6-BA 1.5+NAA 0.1	20	7(愈伤)
7	6-BA 2.0+NAA 0.1	20	18(愈伤且出芽)
8	6-BA 3.0+NAA 0.1	20	10(愈伤)

注 培养天数为25 d 光照为12 h/d 培养温度为(25±1)℃, 下同。

由表1可看出,不同浓度激素对愈伤及芽的诱导培养有很大的影响。在4号培养基中培养的外植体经过20 d 培养后外植体膨大形成愈伤组织(图1),此后16 d 分化形成绿色芽点并长出小芽,20 d 后生成芽丛(图2);2号培养基中外植体愈伤组织形成状况与4号相似但出芽率低;7号培养基中90%的外植体长势同4号,另有10%没有形成愈伤组织;1、3、5、6、8号培养基中的外植体长势远差于2、4、7号培养基中外植体。

结果表明,2、4、7号培养基均适合愈伤及芽的诱导,其中以4号6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L的培养基效果最好。

### 2.3 不同浓度的生长素对根诱导的影响

当芽长至1~2 cm 后进行继代培养,发育成小苗,将小苗移至生根培养基中进行生根培养。由表2可看出,培养20 d 后,不同浓度的生长素对根的诱导情况。2号培养基中小苗开始生根,5 d 后根长可达到1 cm。

表2 不同浓度的生长素对根的诱导效果比较

培养基号	激素 / mg · L <sup>-1</sup>	无根苗个数	生根个数
1	NAA 0.1	20	3
2	NAA 0.2	20	20
3	NAA 0.3	20	5
4	NAA 0.4	20	2

1、3、4号培养基中小苗生根率均不足30%。

结果表明,生根诱导时以1/2 MS+NAA 0.2 mg/L+活性炭(少量)为诱导激素效果最佳(图3)。

### 3 结论与讨论

在培养条件完全相同的条件下,通过选择龙骨花的不同外植体对其进行组织离体培养。结果表明,带芽茎段和茎尖的诱导率高于叶片;0.3 cm<sup>2</sup>的茎段基本上无芽的发生,而0.5 cm<sup>2</sup>的茎段接种后,在不同激素不同浓度的配比下,均能有芽的发生,其中愈伤组织及芽诱导时以MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L为培养基进行培养效果最佳,生根诱导时以1/2MS+NAA 0.2 mg/L+活性炭(少量)为培养基进行培养效果最佳。

#### 参考文献

- [1] 程广有. 名优花卉组织培养技术[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2001: 7.
- [2] 张彦妮. 影响植物组织培养成功的因素[J]. 北方园艺, 2006(3): 132-133.
- [3] 杨琳, 徐莺, 陈放. 霸王鞭的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2006(12): 1125.
- [4] 薛艳霞, 张慧英, 张耀华. 大花蕙兰的快速繁殖[J]. 北方园艺, 2007(4): 218-219.
- [5] 许红梅. 植物组织培养中的污染及防止措施[J]. 北方园艺, 2006(6): 148-149.

## Study on Tissue Culture of *Euphorbia trigona* H.

Ji Chun-yan, ZHANG Yang-yang, WANG Ying

(Institute of Life Science and Technology, Mudanjiang Teachers College, Mudanjiang, Heilongjiang 157012)

**Abstract:** In the same culture conditions to study on the tissue culture *in vitro* of *Euphorbia trigona* H.. The results showed that of eye with stem segment and shoot tip induced effect better than the leaf, using different sizes shoot tip and bud eye with stem segment as the explants was induced callus and differentiation bud, the 0.5 cm × 0.5 cm than 0.3 cm × 0.3 cm size explants good effect, using 0.5 cm × 0.5 cm size of stem segment as explants, the optimal medium for callus and shoot induction was 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L, the optimal medium for take root was 1/2 MS added NAA 0.2 mg/L.

**Key words:** *Euphorbia trigona* H.; caulis segment; tissue culture