

中国水仙的离体培养及植株再生^{*}

王 俐¹, 杨 德¹, 龙春林²

(1. 云南农业大学园林园艺学院, 云南 昆明 650201;
2. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204)

摘要: 将中国水仙鳞茎接种于不同浓度的 MS 培养基上, 实验结果表明 MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 对小鳞茎的分化效果最好; 带鳞茎盘的鳞茎片最容易分化; 最佳的生根培养基为 1/2 MS + NAA 0.1 mg/L + IBA 0.03 mg/L + AC 0.3 %。该实验为中国水仙的繁殖生产提供一定的技术参考。

关键词: 中国水仙; 离体培养; 植株再生

中图分类号: S 682.21.035.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 390X(2004)05 - 0616 - 03

Tissue Culture of the *Narcissus tazetta* var. *Chinesis*

WANG Li¹, YANG De¹, LONG Chun-Lin²

(1. College of Horticulture and Landscape, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: The bulb of *Narcissus tazetta* L. var. *chinesis* Roem were cultured in MS medium supplemented with different combination. The result showed as follows: The optimal culture media was MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L for induction and differentiation of adventitious bulb. Bulb with tray gave the highest differentiation rate, 1/2 MS + NAA 0.1 mg/L + IBA 0.03 mg/L + AC 0.3 % was the best media for differentiation of roots.

Key words: *Narcissus tazetta* L. var. *Chinesis*; tissue culture; regeneration

中国水仙 (*Narcissus tazetta* L. var. *Chinesis* Roem) 又被称为: 春云、金盘玉盏等。是石蒜科水仙属的多年生草本植物, 具球状鳞茎, 原产地中国漳州地区^[1]。为我国传统十大名花之一, 花素雅清香, 人们喜欢用它作“岁朝清供”的年花。水仙花耐寒性强, 在早春开花, 在温暖地带可散植在草地、树坛、景物边缘或花坛。我国栽培的漳州水仙, 因球大、花多等优点而闻名世界, 销售遍及全国并畅销国际市场。此外, 水仙有药用价值, 其花还可提取香精, 为高级香精的原料^[2]。由于水仙分球繁殖率较低且易产生退化, 为此, 我们探寻出能够加速其

繁殖的组织培养的方法, 为水仙的繁殖生产提供一定的技术参考, 中国水仙的组织培养技术尚未见报道。

1 材料与方法

1.1 材料

中国水仙鳞茎

1.2 方法

将水仙鳞茎除去干缩的鳞茎皮及根, 在流水下冲洗干净, 放入 75 % 酒精中消毒 30 s, 再放入 0.1 % 升汞中消毒 6 min, 最后用无菌水冲洗 4~5 次。将消毒好的鳞茎切为上部的鳞茎片、中部的鳞茎片及

* 收稿日期: 2004 - 02 - 25

基金项目: 国家自然科学基金(30170102); 云南省自然科学基金(2001 C0058 & 2001 PY017); 云南省教育厅、国家科技部基础工作专项重点项目(2001DEA10009)。

作者简介: 王俐(1971 -), 女, 重庆市人, 讲师, 主要从事花卉基因工程研究。

带鳞茎盘的鳞茎片 3 部分,每部分切成 1.0 cm × 1.5 cm 大小的块体,分别接种于 2 种激素组合的培养基上进行小鳞茎的诱导和分化(每瓶 2 块外植体)。培养基附加蔗糖 3.0 %,琼脂 0.7 %,pH 5.6 ,培养温度为(18 ±1) °C,每天光照 16 h,光照强度 1 500 lx. 然后将诱导分化的芽体进行继代培养,在蔗糖、琼脂浓度不变的情况下进行观察,在不同的激素浓度培养基中对比芽的分化及生长效果。

2 结果与分析

2.1 鳞茎的诱导及分化

在 MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L , MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 这 2 种激素组合的培养基上进行芽的诱导分化。外植体接种 5 d

后,开始膨大,在培养基 MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 上的外植体 10 d 后变绿,12 d 基部有白色愈伤组织长出,20 d 后带鳞茎盘的鳞茎片长出小鳞茎,25 d 后中部的鳞茎片长出小鳞茎,40 d 后上部的鳞茎片长出小鳞茎。在培养基 MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 上的外植体 13 d 后变绿,15 d 基部有白色愈伤组织长出,25 d 后带鳞茎盘的鳞茎片长出小鳞茎,30 d 后中部的鳞茎片长出小鳞茎,50 d 后上部的鳞茎片长出小鳞茎。从接种后第 50 d 的观察结果看(表 1),不同部位的鳞茎片分化小鳞茎的能力为:带鳞茎盘的鳞茎片 > 中部的鳞茎片 > 上部的鳞茎片。培养基 MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 诱导小鳞茎效果最好,形成的鳞茎数也最多,且生长旺盛。

表 1 不同培养基对小鳞茎分化的影响

Tab. 1 Impact of hormones on proliferation of bulb of *Warcissus*

激素组合/(mg L ⁻¹)	鳞茎部位	接种块数	总鳞茎数	平均每块的芽数
MS + 6 - BA 3.0 + NAA 0.01	上部鳞茎片	12	8	0.6
	中部鳞茎片	12	16	1.3
	带鳞茎盘的鳞茎片	12	36	3.0
MS + 6 - BA 2.0 + NAA 0.01	上部鳞茎片	12	6	0.5
	中部鳞茎片	12	10	0.8
	带鳞茎盘的鳞茎片	12	20	1.7

2.2 鳞茎芽的培养

把分化后的鳞茎纵向切割,接种到 MS + 6 - BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 培养基上培养(每瓶 1 个鳞茎),30 d 后小鳞茎长粗,转绿,并长出鳞茎芽,生长旺盛。鳞茎直径平均 0.5 cm,鳞芽平均高 4.2 cm.

2.3 根的诱导

继代培养出的鳞茎芽高 4.0 cm 左右,将其分别转接于 1/2 MS + IBA 0.1 mg/L + AC 0.3 %,1/2

MS + NAA 0.1 mg/L + AC 0.3 %,1/2 MS + NAA 0.1 mg/L + IBA 0.03 mg/L + AC 0.3 % 这 3 种激素组合的培养基上进行诱导生根。转接后第 15 d 的统计结果(表 2):在 3 种培养基中植株均能生根,单独采用 NAA 比单独使用 IBA 效果好,NAA 于 IBA 配合使用效果最佳,1/2 MS + NAA 0.1 mg/L + IBA 0.03 mg/L + AC 0.3 %培养基根诱导率达 90 %,且根系生活力强,易栽培。

表 2 激素对生根的影响

Tab. 2 Impact of hormones on rooting of *Narcissus*

激素组合/(mg L ⁻¹)	接种苗数	生根苗数	生根率/ %	平均根数	平均根长/ cm	平均苗高/ cm
1/2 MS + IBA 0.1 + AC 0.3 %	10	7	70	4	1.04	5
1/2 MS + NAA 0.1 + AC 0.3 %	10	8	80	6	2.45	7
1/2 MS + NAA 0.1 + IBA 0.03 + AC 0.3 %	10	9	90	10	3.36	9

2.4 炼苗与移栽

将已生根的再生植株先打开瓶盖练苗 5 d 左

右,洗去培养基,移栽于经过消毒的砂质土中,保持温度在 25 °C 以下,湿度在 85 % 以上,并盖遮荫网,

成活率可达 94 %.

3 讨论

不同部位组织产生小鳞茎的能力差异很大,通常以具有鳞茎盘的鳞茎片产生小鳞茎最快、最多。随培养时间延长,小鳞茎逐渐形成,并不断增加。水仙最适宜的气温条件是平均温度在 18 ℃,在 pH 值为 5.6 的沙质土中生长良好^[3],根据其生长习性,来调节培养条件,使水仙快速繁殖,并解决水仙

种苗退化,带病毒多的现象。

[参 考 文 献]

- [1] 陈俊愉,程绪. 中国花经[M]. 上海:上海出版社,1990.
- [2] 高世良. 百种花卉养·赏·用[M]. 北京:北京科学技术出版社,1998.
- [3] 黄祖传,李玉梅,彭平妹. 南美水仙的快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,1990,(1):54.

(上接第612 页)

3 讨论

富硒烟叶还可以通过富硒土壤上种植烟草获得,但我国仅有湖北恩施和陕西紫阳两个富硒区,地域受限未用。土壤加硒烟草植株吸收效果不佳^[17]。

综上所述,叶面喷施硒微肥是一种经济有效的提高烟叶硒含量的方法,并且在田间也容易做到,若与其它叶面肥混合施用,不需增加劳动力,还可以提高烟叶的产量,使烟叶中硒的含量平均达到 3.6 μg/g 以上,达到了出口富硒烟叶的标准,为生产富硒香烟提供了广阔前途。喷施硒微肥应在烟叶成熟期效果最好。

[参 考 文 献]

- [1] 吴永尧,彭振坤,罗泽民. 硒的多重生物学功能与人和动物的健康[J]. 湖南农业大学学报,1997,23(3):294 - 299.
- [2] 吴永尧,彭振坤,周大寨,等. 高硒区栽培的大豆含硒蛋白的初步研究[J]. 微量元素与健康研究,2002,19(1):41 - 42.
- [3] 陈红平,刘雨田. 硒的营养与免疫[J]. 饲料博览,2001,(6):33 - 34.
- [4] 梁明振,梁贤威,黎宗强,等. 微量元素锌、铬、硒与动物繁殖性能[J]. 广西农业生物科学,2001,20(4):295 - 300.
- [5] 谢忠忱,王海宏. 动物硒蛋白种类及其生化功能的研究进展[J]. 中国实验动物学杂志,2002,12(3):190 - 193.

- [6] 蒋彬,李志刚,叶正钱,等. 硒从土壤向食物链的迁移[J]. 土壤通报,2002,33(2):149 - 152.
- [7] 张艳铃,潘根兴,胡秋辉,等. 江苏省几种低硒土壤中硒的形态分布及生物有效性[J]. 植物营养与肥料学报,2002,8(3):355 - 359.
- [8] 刘军鸽,刘鹏,葛旦之,等. 淹水土壤有效态 Se 提取剂的比较研究[J]. 湖南农业大学学报,2000,26(1):5 - 8.
- [9] 王强,徐辉碧. 微量元素硒的毒性[J]. 生命的化学,1994,14(2):34 - 35.
- [10] 周冀衡. 烟草生理与生物化学[M]. 合肥:中国科学技术出版社,1996.
- [11] 马友华,丁瑞兴,张继榛,等. 硒和硫相互作用对烟草硫吸收与积累的影响[J]. 土壤通报,2000,31(5):232 - 235.
- [12] 徐辉碧. 选择性降低卷烟焦油中苯并(a)芘的研究[J]. 烟草科技,1985,(4):24 - 26.
- [13] BOGDEN A. Research on the relation between Se content in tobacco and lung cancer[J]. J. of Agric. and Food Sci, 1984,32(1):64 - 67.
- [14] 赵成义,任景华. 紫阳富硒区土壤中的硒[J]. 土壤学报,1993,30(3):53 - 54.
- [15] 翟建国,徐伯兴,龚书椿. 氢化物发生——无色散原子荧光光度法测定土壤有效态 Se 和总 Se [J]. 土壤通报,1998,29(1):47 - 封3.
- [16] 夏炳乐,李敏莉. Se - KIO₃ 体系催化极谱测定烟草中微量硒[J]. 烟草科技,1996,(2):28,44.
- [17] 袁玲,黄建国,陈西凯. 烟草施用亚硒酸钠的研究[J]. 烟草科技,1994,(6):33 - 35.