

堇叶紫金牛的组织培养与快速繁殖

王刘圣丹, 邱丝丝, 夏国华*, 李根有

浙江农林大学林学基础实验教学中心, 浙江临安 311300

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Ardisia violacea* (T. Suzuki) W. Z. Fang & K. Yao

WANG Liu-Sheng-Dan, QIU Si-Si, XIA Guo-Hua*, LI Gen-You

Basic Experiment Teaching Center of Forestry, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300, China

1 植物名称 堇叶紫金牛 [*Ardisia violacea* (T. Suzuki) W. Z. Fang & K. Yao] (方文哲和姚淦1979), 又名裹堇紫金牛(Huang 1998)、锦花紫金牛(Chen和Pipoly 1996)。

2 材料类别 带腋芽的茎段。

3 培养条件 MS为基本培养基。腋芽启动培养基: (1) MS+BA 0.1 mg·L⁻¹(单位下同)+IBA 0.5, (2) MS+BA 0.5+IBA 0.5, (3) MS+BA 1.0+IBA 0.5; 腋芽增殖诱导培养基: (4) MS+BA 5.0+IBA 0.5, (5) MS+TDZ 0.5+IBA 0.5, (6) MS+TDZ 1.0+IBA 0.5; 壮苗培养基: (7) 1/2MS+BA 0.1+NAA 0.05+1 g·L⁻¹ 蛋白胨; (8) 1/2MS+BA 0.3+NAA 0.05+1 g·L⁻¹ 蛋白胨, (9) 1/2MS+BA 0.5+NAA 0.05+1 g·L⁻¹ 蛋白胨; 生根培养基: (10) MS+IBA 0.25+NAA 0.25, (11) MS+IBA 0.5+NAA 0.5。以上培养基均含 30 g·L⁻¹ 蔗糖和 6.8 g·L⁻¹ 琼脂, pH 5.8。培养温度为(25±2) °C; 光照强度约为 30 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间为 16 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 取材与消毒 取堇叶紫金牛幼嫩茎段, 用洗涤剂漂洗 30 min, 流水冲洗 10 min, 然后在超净工作台上用 70% 酒精浸泡 10 s, 0.1% HgCl₂ 灭菌 6~8 min, 无菌水漂洗 3 次, 用无菌滤纸吸干材料上的水分, 切割成长约 0.5 cm 的带节茎段, 接种在腋芽启动培养基(1)~(3)上。培养 15 d 左右开始生长(图 1), 堇叶紫金牛生长缓慢, 经过 30~40 d 的培养, 腋芽萌发生长至 2~3 cm, 将其剪下进行增殖培养。

4.2 增殖诱导培养 腋芽接种到增殖培养基(4)~(6)中, 培养 20 d 后嫩茎节部明显膨大增粗至原来的 2 倍以上, 腋芽也明显膨大(图 2), 继续培养 15 d, 叶片脱落, 腋芽形成极度缩短的茎, 肉眼可见形成大量芽, 但芽不伸长(图 3)。将膨大茎段转接入培养



图 1 堇叶紫金牛的腋芽启动培养

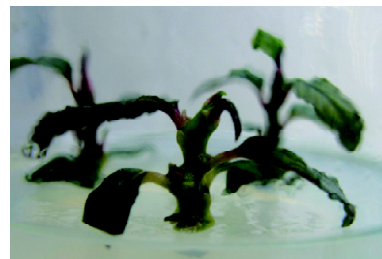


图 2 堇叶紫金牛的茎和芽膨大

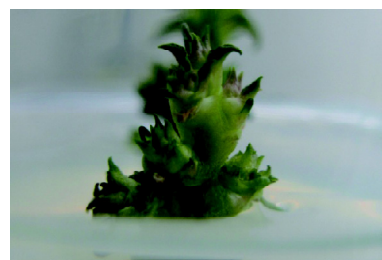


图 3 堇叶紫金牛的腋芽大量发生

收稿 2010-04-29 修定 2010-05-19

资助 浙江农林大学科研发展基金(2008FK53)和浙江省科技厅重大项目(2006C12059-2)。

* 通讯作者(E-mail: zjfc_glxia@126.com; Tel: 0571-63732761)。

基(2)中诱导芽的伸长生长, 经过 20 d 的培养, 腋芽大量发生, 数量达到 6 以上(图 4)。而直接将茎段培养在(1)~(3)上的茎段未见茎节膨大和增殖, 因此莖叶紫金牛通过较高浓度的 BA ($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)或 TDZ ($0.5\sim 1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)诱导潜伏腋芽的发生, 再用较低浓度的 BA ($0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)促进伸长生长的二步法培养具有较好的增殖效果。



图 4 莖叶紫金牛的增殖培养

4.3 壮苗培养 培养基(2)继续培养 15 d, 丛生芽长至 2~3 cm 时, 单个切下转入含有蛋白胨的壮苗培养基(7)~(9)中培养 30~35 d, 苗高 4~5 cm, 具叶 8~12 片。

4.4 生根培养 丛生芽长至 4~5 cm 时, 转入生根培养基(10)、(11)中进行培养, 培养约 25 d 开始出现新根, 继续培养 15 d, 生根率达 95% 以上, 每株苗长出 2~4 条长约 5 cm 的健壮新根(图 5), 苗高约 6 cm, 具叶 5~7 片时即可移栽。



图 5 莖叶紫金牛的生根培养

4.5 炼苗与移栽 苗高约 6 cm 时, 将培养瓶盖打开, 放到全天自然光照, 温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的通风条件下炼苗 7~10 d, 移栽时用镊子将试管苗从培养瓶中取出, 洗净根部培养基, 移栽入已灭过菌的营养土(泥炭: 蛭石=1:1), 移栽后 7~10 d 用塑料薄膜保湿, 保持空气湿度 85% 以上, 每天喷雾 1~2 次, 20 d 左右长出新根, 移栽成活率达 90% 以上。

5 意义与进展 莖叶紫金牛属紫金牛科(Myrsinaceae)紫金牛属, 特产于浙江和台湾, 仅分布在浙江舟山白泉乡(谢文远等 2008)、杭州云栖、台湾北部乌来、桃宜公路巴棱至四棱山区(方云亿 1989)以及台湾巴福越、尖石、北横乡, 已被列为珍稀濒危植物(张若蕙 1994)。该种株型紧凑、叶绿果艳、姿态优美, 具有较高观赏价值, 是一种优良的盆栽植物(图 6), 组织培养技术可以提高繁殖速度, 有较高的潜在应用前景。迄今已有一些紫金牛属植物的组培技术报道, 如朱砂根(黄美娟等 2007)、虎舌红(罗吉凤等 2004)、九节龙和紫金牛(Goo 等 2008), 但莖叶紫金牛的组织培养与快速繁殖尚未见报道。莖叶紫金牛组织培养对维持小种群的生存, 促进种群更新和解濒危提供一条新途径, 同时为开发利用这一珍稀资源提供技术储备。



图 6 莖叶紫金牛的开花结实

参考文献

- 方云亿(1989). 浙江植物志(第五卷). 杭州: 浙江科学技术出版社, 31
- 方文哲, 姚淦(1979). 紫金牛属研究资料. 植物分类学报, 17 (4): 99~100
- 黄美娟, 刘小辉, 邓娅玲, 樊国盛, 黄海泉(2007). 朱砂根的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 43 (6): 1149~1150
- 罗吉凤, 程治英, 龙春林(2004). 虎舌红的组织培养. 植物生理学通讯, 40 (4): 465~466
- 谢文远, 王国民, 张宏伟, 马丹丹, 李根有(2008). 珍稀濒危植物莖叶紫金牛的分布新发现及保护利用. 浙江林业科技, (增刊): 45~47
- 张若蕙(1994). 浙江珍稀濒危植物. 杭州: 浙江科学技术出版社, 315~318
- Chen Jie, Pipoly JJ III (1996). Myrsinaceae. In: Wu ZY, Raven PH (eds). Flora of China. Beijing: Science Press & St. Louis: Missouri Botany Garden Press, 15: 10~29
- Goo DH, Kwon OK, Lee YR, Huh EJ (2008). Micropropagation of *Ardisia pusilla* and *Ardisia japonica* in vitro. Acta Hort (ISHS), 766: 237~242
- Huang TC (1998). Flora of Taiwan (2nd ed). Taipei: National Taiwan University Press, 4: 46