

研究简报

莲离体茎尖的培养

何子灿 刘士佳*

(中国科学院武汉植物研究所)

CULTURE OF THE SHOOT TIP EXPLANTS OF LOTUS, *NELUMBO NUCIFERA*

He Zican and Liu Shijia

(Wuhan Institute of Botany, Academia Sinica)

关键词 莲, 茎尖培养

Key words *Nelumbo nucifera*, shoot tip culture

莲 (*Nelumbo nucifera* Gaeartn.) 是我国著名的水生经济植物, 由于其花有较高的观赏价值, 近年来一些育种者热心于观赏莲的新品种选育工作。经几年努力已选育出一批艳丽多彩的花莲新品种。为了保持亲本的优良遗传性状和避免有性繁殖的分离现象, 通常采用分藕繁殖^[1]。但这种无性繁殖方式的繁殖系数很低。本实验探讨了利用组织培养技术进行莲的快速无性繁殖的可能性。

材料和方法

供试材料为本所莲良种育种组选育出来的小型花莲“小碧台”, 分别在 4 月中旬、6 月中旬和 11 月中旬采取其地下茎上的顶芽或侧芽, 流水冲洗 30 分钟后, 先用 70% 酒精浸泡 1 秒钟, 再移入 0.1% $HgCl_2$ 溶液中消毒 6 分钟, 用无菌水冲洗 4—5 次, 然后在无菌条件下剥除外表的二层鳞片, 切取茎尖 1—4 毫米为培养材料, 接种到不同的培养基上。为了探讨如何建立无性繁殖体系进行了继代培养。采取的基本培养基为 MS, 在基本培养基中添加不同浓度的 KT、BA、ZT、2, 4-D、NAA 和 GA₃ 等激素^[2], 还研究了不同 pH 值的培养基对茎尖培养的影响和作用。培养温度为

26±1℃, 日光灯作为光源, 光强度为 1,500lx, 光照时间为 10 小时/天。

结 果

(一) 茎尖的生长和分化 茎尖外植体经培养试验表明(图版 I:1—7): 无论芽在 4 月中旬处于萌动状态还是在 6 月份呈生长状态, 以及在 11 月中旬处于休眠状态, 经培养均可生长和分化, 不同的是处于萌动和生长状态的茎尖外植体, 在培养时要比在休眠芽上取的茎尖培养启动早, 前者培养 3 天左右就可见芽已启动, 后者需要 8 天左右。4 月中旬和 6 月中旬采取的茎尖外植体经培养 8 天左右可见新叶芽从鞘内长出, 随后叶片展开, 35 天左右形成有二叶的无根幼苗, 幼苗上的每个叶柄基部各有一鞘包裹。在常规栽培中莲主根不发育, 仅在茎节部位生成多条不定根^[3], 在茎

* 现在中国科学院水生生物研究所工作。本文曾经胡鸿钧教授修改。参加工作的还有徐立铭同志; 照片由刘茵茵同志印制, 均此一并致谢。

1) 本文缩写 KT, 激动素; ZT, 玉米素; BA, 6-苄基腺嘌呤; NAA, 萘乙酸; GA₃, 赤霉素。

1987 年 1 月 4 日收到。

尖培养条件下形成的试管植株，当长出第三枚叶片时，一般在第一茎节部位便可长出数条不定根，不需再去诱导根的产生。所以当试管苗长大到有多个茎节时便可形成有根、芽和叶的完整小植株。将多茎节试管苗切成数段，每段至少有 3 个茎节转入继代培养，一般一个试管苗可切割成 2—3 段。在茎尖培养试验中还观察到只有很少量的愈伤组织在切口附近产生，半个月后这些愈伤组织开始老化，未能使之再增殖或进而分化形成器官。

试验结果还表明在 pH 值分别为 5.6、6、7、8 或 9 的培养基上，茎尖外植体均可生长分化形成小植株。在培养基的 pH 值为 7 或 8 中培养的茎尖生长较旺盛，pH 值愈高，形成的试管苗愈易老化，所以一般以 pH 6 左右为宜。

以 MS 基本培养基为对照，摸索附加细胞分裂素 KT、ZT 和 BA，以及生长素 NAA 和 2,4-D 对茎尖培养的影响和作用，结果表明，3 种细胞分裂素均可使莲的茎尖外植体生长和分化出新芽，其中以每升培养基附加 1—2 毫克 ZT + 0.3—1 毫克 2,4-D 效果最好，在无细胞分裂素的情况下，一个月左右培养的茎尖就会死亡。

(二) 继代培养 将上面所述试管植株的切断(每个切段具有 3 个以上的茎节)，接种在每升含有 1 毫克 ZT + 0.5 毫克 GA₃ 的 MS 培养基上，pH 值为 5.8 左右，大部分切段可再生长分化形成具有根、茎和芽的完整小植株，且有一小部分可在每一个芽鞘内直接诱发出具 3—4 个芽的丛生芽簇。一个月后从生芽长大形成从生苗。切下从生苗分别再转移到同样的培养基上继续培养，形成多株完整的小植株，这样的小植株仍可以再经切割成小段继续培养，继代培养一年后，仍有生长和分化的能力。

讨 论

1. 莲的形态结构独特，它没有形成层和导管，只有散生的维管束和管胞^[3]，它的芽结构也特殊^[1, 2]，有十分发达的鳞片形成一层套一层的情况，对茎尖起着很重要的保护作用。由于它的根茎部位有 5—7 个大气道贯通^[4]，在从污泥中取材时很容易造成严重污染，也为材料的消毒造成不便，组织培养往往因消毒不彻底或消毒过分而失败。为此我们认为莲以茎尖作为外植体培养较易避开易污染的不利条件，与根茎其它组织器官相比较，是较合适的培养材料。

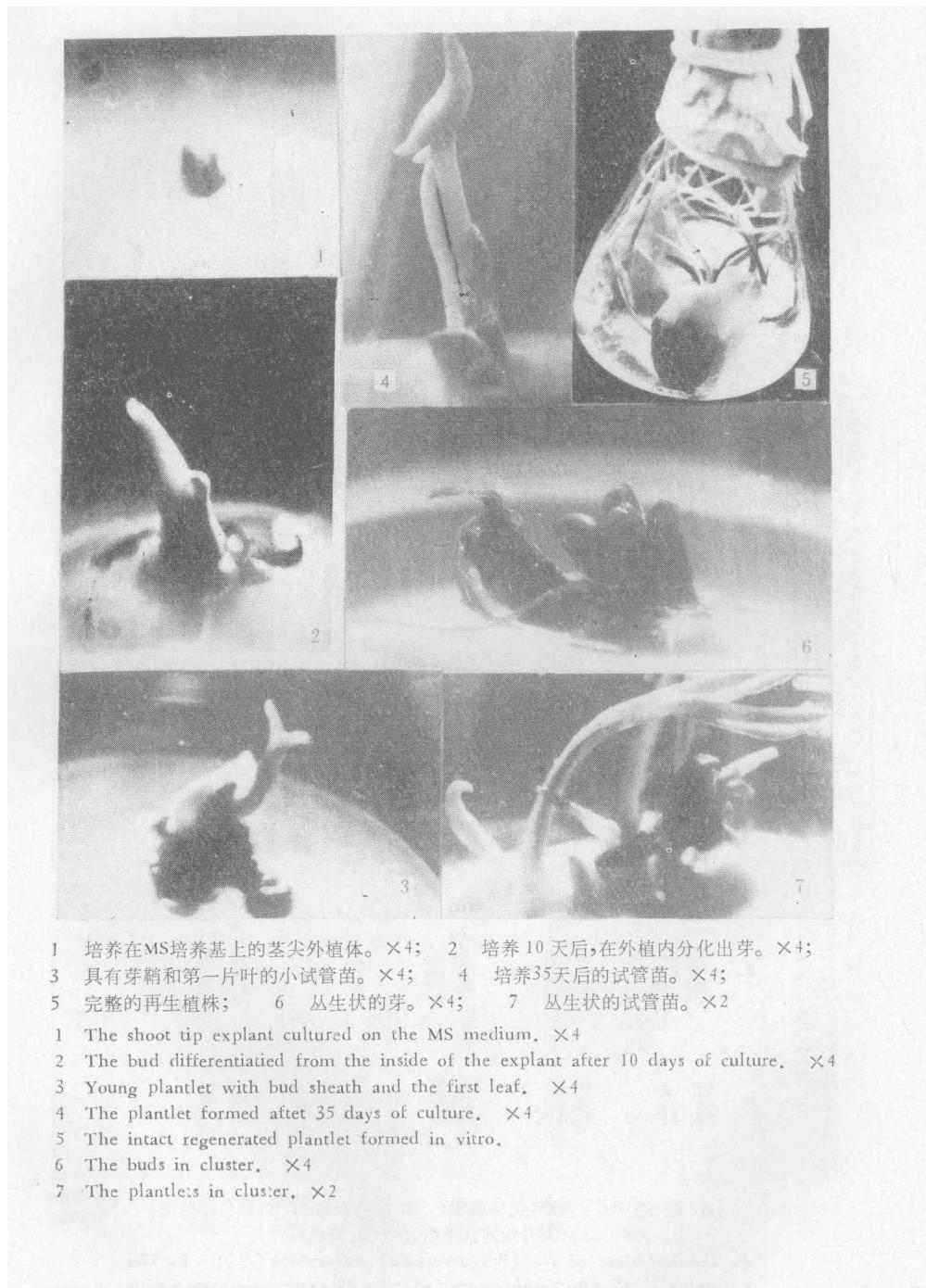
2. 莲的茎尖外植体在继代培养过程中，在茎节部位直接形成丛生芽，依 Hicks^[5] 的观点可划归为直接的器官发生方式。正如我国学者吴鑑等认为，不定芽的形成是利用组织培养技术进行快速无性繁殖的先决条件^[3]。莲的离体茎尖在继代培养时形成的丛生芽簇，再经过培养生长形成一簇丛生苗，再经过切割分离培养，一代一代继续下去，可以成倍的提高无性繁殖系数，从而也表明良种莲利用植物组织培养技术来进行快速无性繁殖是有可能的。

3. 莲离体茎尖的培养需要添加一定量的外源激素，本试验表明以每升培养基附加 1—2 毫克 + 0.3—1 毫克 2,4-D 为好。继代培养以每升培养基附加 1 毫克 ZT + 0.5 毫克 GA₃ 为好。茎尖的培养虽对培养基酸碱度要求不严，但高 pH 值易使试管苗老化，所以一般以 pH 6 左右为宜。

关于莲的组织培养，国内外有过研究^[6, 7]。但用莲茎尖外植体培养诱导根茎叶等器官的形成至今未见报道。本试验仅是利用莲茎尖外植体培养，探求诱导根、茎和芽，使之形成再生植株的可能性及其条件，是企图建立稳定的无性繁殖体系的一种尝试。还存在着许多尚待继续深入的研究问题，如怎样提高丛生芽的诱导率的问题等，但这项研究为利用组织培养技术来进行良种莲的快速繁育与推广提供了依据。

参 考 文 献

- [1] 王希庆，1956。莲的营养体形态及芽的结构的初步研究。植物学报，5(4): 425—438。
- [2] 严素珍，1986。莲胚和胚乳的发育。植物学报，28(4): 355—359。
- [3] 吴鑑、韩碧父，1983。花生 (*Arachis hypogaea* L.) 胚芽的离体培养。实验生物学报，16(2): 119—125。
- [4] 陈维培、张四美、严素珍，1980。莲营养器官的结构及其对水生生活的适应。南京师范大学学报，(2): 64—70。
- [5] Hicks, G. S., 1980. Patterns of organ development in plant tissue and problem of organ determination. Bot. Rev., 46: 1—23.
- [6] Liu Tachu (柳大绰), 1948. Cultivation of excised plumules of *Nelumbo speciosum* in vitro. Bot. Bull. Acad. Sin., 2: 207—210.
- [7] Васильева, В. Е. и Т. В. Ватытина, 1981. Культивирование in Vitro(стеклянная трубка) зародышей и семяпочек лотоса, изолированных на разных стадиях развития. Физиология растений, 28(2): 319—327.



1 培养在MS培养基上的茎尖外植体。 $\times 4$; 2 培养10天后,在外植内分化出芽。 $\times 4$;

3 具有芽鞘和第一片叶的小试管苗。 $\times 4$; 4 培养35天后的试管苗。 $\times 4$;

5 完整的再生植株; 6 丛生状的芽。 $\times 4$; 7 丛生状的试管苗。 $\times 2$

1 The shoot tip explant cultured on the MS medium. $\times 4$

2 The bud differentiated from the inside of the explant after 10 days of culture. $\times 4$

3 Young plantlet with bud sheath and the first leaf. $\times 4$

4 The plantlet formed after 35 days of culture. $\times 4$

5 The intact regenerated plantlet formed in vitro.

6 The buds in cluster. $\times 4$

7 The plantlets in cluster. $\times 2$