

LFS 和 CPPU 在罗汉果组培中生物效应的对比研究

刘晓燕, 许鸿源, 陈亮, 何冰, 余乃明, 蓝桃菊

(广西大学农学院, 南宁 530005)

摘要:为给罗汉果组培技术的改进提供实验证据,以罗汉果单芽茎段作外植体,以 MS 为基本培养基,分别添加 LFS 和 CPPU 等生长调节剂。结果:(1)在原始外植体培养中,LFS 单独使用能诱导腋芽迅速萌发生长,多数可发生不定根,愈伤组织则很少。CPPU 单独使用,只能诱导愈伤组织迅速发生与大量增殖,不能使腋芽萌发成苗。(2)在继代增殖培养中,LFS 促进腋芽萌发生长和不定根发生的活性均能被 NAA 增强。CPPU 复配 NAA 后,亦可诱导腋芽萌发,并促进叶片迅速长大,然而在形成大量愈伤组织的同时,严重抑制茎的伸长与不定根的发生。

关键词: 罗汉果; 组织培养; LFS; CPPU

中图分类号: S339.4⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-4705(2007)09-0015-03

Contrast Study of Bioeffects Between LFS and CPPU on the Tissue Culture of *Siraitia Grosvenori* (Swingle) C. Jeffrey in Vitro

LIU Xiao-yan, XU Hong-yuan, CHEN Liang, HE Bing, YU Nai-ming, LAN Tao-ju

(Agricultural college of Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: In order to improve the tissue culture technology of *Siraitia grosvenorii* (Swingle), stem cutting with single nod was used as explants, MS as basal medium and supplied with LFS or CPPU respectively. Results: (1) On the primary culture LFS 0.2 (mg/L, as same as fallows) could induce the axillary bud of explants germinating and growing quickly, most of them could rooting, meanwhile the callus formation was controlled obviously during 25 d cultured. But CPPU 0.02 could only induce a lout of callus formation, no bud germinated. (2) On the secondary culture for proliferation the bioactive of LFS to induce axillary bud germinating and plantlet rooting was enhanced by cooperation with NAA 0.1. At the same time on the help of NAA, CPPU also induced the axillary bud germinating and improved leaves growing bigger, however stem elongation and adventitious roots are strongly inhibited at the same time large numbers of callus are formde.

Key words: *Siraitia grosvenori* (Swingle); tissue culture; LFS; CPPU

罗汉果 [*Siraitia grosvenori* (Swingle) C. Jeffrey], 原产我国广西桂林地区,是广西传统的特产优质中药

材之一。由于罗汉果在医疗、保健方面有很高的应用价值和广泛的开发前景^[1,2],市场需求不断扩大,因此其种植不仅在广西北部地区,而且在湖南、贵州、广东、江西、福建等省的一些地区也都在积极发展。但是,罗汉果最重要的种源组培苗的生产技术还远未成熟^[3]。特别是对植物细胞分裂素(CTK)的选用,几乎无一例外地都是 N⁶-BA(N⁶-苄基腺嘌呤)^[4],而 BA 对于罗汉果的组培又不同于对其他植物的组培,几乎不可避免

收稿日期:2007-05-29

基金项目:广西科技厅科学基金(0640009);广西教育厅专利专项基金(C160009)和植物学硕士点重点建设基金(D1008);广西大学科研基金(X0610760)资助。

作者简介:刘晓燕(1982-),女,广西南宁人;在读硕士研究生,研究方向:植物学。

通讯作者:许鸿源, E-mail: xuhy08@126.com.

[4] 洪法水,王旭明,马成仓. PEG 预处理提高玉米种子活力和萌发代谢的效应[J]. 安徽农业科学,1995,23(2):111-113.

[5] 陈凯. 春育桉木苗的方法[J]. 四川林业科技,1994,11(3):76-78.

[6] 黄文昌. 桉木的育苗技术[J]. 重庆林业科技,1990,(23):63.

[7] 陈强,李红兵,周洪昌,等. 川滇桉木育苗试验结果分析[J]. 云南林业科技,1999,(4):40-43.

[8] 吕梅,方炎明,高捍东. PEG 处理对两种桉木种子发芽的影响[J]. 林业科技开发,2006,20(3):33-35.

[9] 刘国凡,邓廷秀. 土壤条件与桉木结瘤固氮的关系[J]. 土壤学报,1985,22(3):251-256.

[10] 王军辉,顾万春,夏良放,等. 桉木种源(家系)苗期根瘤固氮能力的遗传变异[J]. 南京林业大学学报,2004,28(4):68-72.

地会伴生大量愈伤组织,直接威胁罗汉果组培苗的遗传稳定性。为此,对目前最常用的几种CTK分别作了对比研究。许鸿源^[3]曾报道了3种嘌呤类CTK,即LFS(灵发素,lingfasu, N⁹-狭霉菌基腺嘌呤,代号PGR-08^[5]), N⁶-BA和KT(激动素, N⁶-糠基腺嘌呤)在罗汉果单节茎段培养中不同的生物效应。本试验研究了另一种脲类细胞分裂素CPPU(N-2-氯-4-吡啶基, N'-苯基脲, 4-PU-30)在罗汉果单节茎段培养中与LFS生物效应的对比结果。

1 材料

供试材料为种植在广西大学农学院教学科研基地, 60目尼龙防虫网室内的2年生植株, 无病毒的青皮果植株的二级侧蔓。

LFS为实验室制备的重结晶品, 纯度≥98%。CPPU和NAA(萘乙酸)购自南宁市医药站化剂公司, 进口分装。

2 方法

2.1 原始外植体的处理

将上述侧蔓采回实验室用自来水冲洗30 min以上。剪除顶芽和叶片, 保留部分叶柄, 将+3~+6节再剪成带腋芽的单节茎段作原始外植体。在超净工作台上用75%乙醇消毒1 min, 0.1%升汞消毒5 min, 无菌水洗涤6遍, 备用。

2.2 培养基

以下各组培养基均添加蔗糖3%, 琼脂粉4.5 g/L, 调pH至6.0。

2.2.1 原始外植体启动培养基

两个处理组: ①MS + LFS 0.2 (mg/L, 下同); ②MS + CPPU 0.02。每组每批接种15瓶, 每瓶接1个单节茎段。共试验4批。

2.2.2 继代外植体增殖培养基

两个处理组: ③MS + NAA 0.1 + LFS 0.2; ④MS + NAA 0.1 + CPPU 0.02。因为CPPU作为CTK, 其生物活性一般相当于N⁶-BA的10倍, 故在本试验中的用量降低一个数量级。

继代外植体是取自①MS + LFS 0.2组再生植株的单节茎段。每组每批接种15瓶, 每瓶接种5~6个单节茎段。共试验4批。

2.3 培养条件

培养温度: 昼/夜 29/22/(±2)°C, 光照 1 500 lx, 11 h。

表1 LFS和CPPU对原始外植体培养结果的影响

培养基	外植体数(个)	外植体平均萌芽数(个)	平均萌芽率(%)	愈伤组织平均大小	株均苗高(cm)	株均根数(条)
①MS + LFS 0.2	15	14.3	95.3	+	4.0	2.7
②MS + CPPU 0.02	15	0	0	5+	/	0

注: 表内数据为4批试验的平均结果。培养时间25 d。

2.4 观察记录

培养3天后, 去掉污染瓶, 每组选择5瓶作记录对象。逐日观察愈伤组织及新器官发生与生长的状况, 25 d终止试验。萌芽率取4批结果的平均值。愈伤组织团块的相对大小以+, 2+, 3+, 4+, 5+分级表示。苗高与根数的计量遵照常规。同时配合拍照记录。

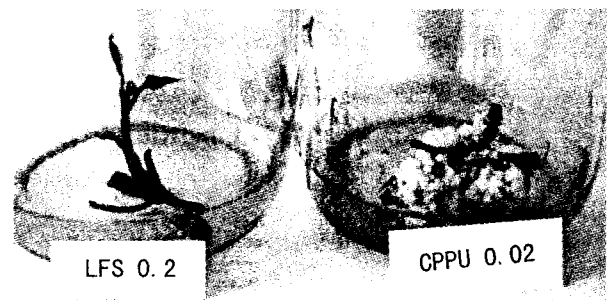


图1 LFS和CPPU对原始外植体培养的影响



图2 LFS和CPPU对继代苗地上部的影响



图3 LFS和CPPU对继代苗根系发生的影响

3 结果与讨论

3.1 LFS和CPPU对原始外植体培养结果的影响

由表1和图1可见, 原始外植体在25 d的培养期间, LFS能优先促进腋芽萌发并迅速生长, 萌芽率高达

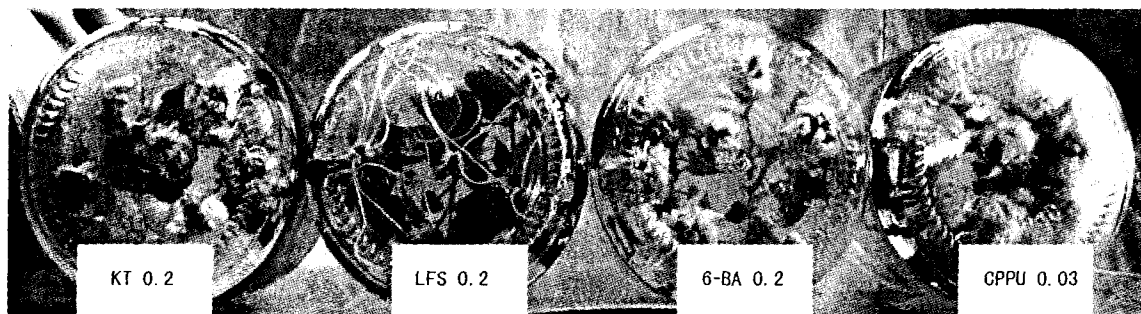


图4 KT, LFS, BA 和 CPPU 对继代苗愈伤组织和不定根的影响(培养 25 d)

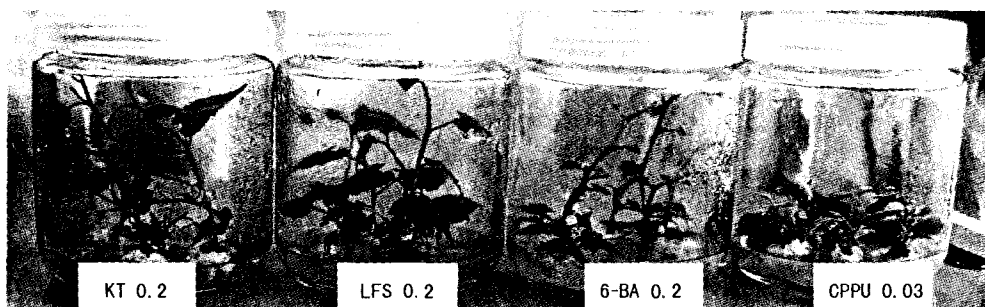


图5 KT, LFS, BA 和 CPPU 对继代苗地上形态的影响(培养 25 d)

90%以上,愈伤组织却很少。CPPU 则极显著地促进愈伤组织的发生与增殖,几乎完全把腋芽包埋起来,导致腋芽的萌发受到抑制,甚至枯死,无一能正常萌发。对比本组试验与许鸿源^[3]的结果,进一步证明,在罗汉果原始外植体启动中,LFS 确有优势作用,同时也表明,CPPU 的启动效果不如 N⁶-BA 和 KT(萌芽率可达 20%~30%)。

3.2 LFS 和 CPPU 对继代培养结果的影响

为避免 CPPU 在继代培养中重复出现在原始外植体培养中无法得到再生苗的结果,所以在继代培养时,培养基中都复配了常用量的 NAA。结果发现,LFS 复配 NAA 后,无论是对腋芽的萌发及茎叶的生长,还是对不定根的发生,都表现出增效作用,使苗高和根数都比单用 LFS^[3]有所增加(图 2、3)。CPPU 复配 NAA 后,虽然仍有大量愈伤组织发生,但外植体腋芽可以萌发成苗,叶片能正常展开。同时比较图 2 和图 5 可见,对茎伸长生长的抑制也有所减弱。众所周知,NAA 是诱导不定根发生最有效的生长调节剂之一,但是和 CPPU 复配后,却不能诱导不定根的发生(图 3)。由此可见,CPPU 对单节茎段不定根发生的抑制作用很强。这与 N⁶-BA 和 KT 的效应^[3]相似。

4 小结

4.1 研究表明,LFS 单独使用即能诱导腋芽萌发成苗,同时在促进不定根发生与生长的同时,又明显延缓愈伤组织的发生与生长。在罗汉果的组培中,与目

前几种常用 CTK(如 BA、KT、CPPU 等)相比,LFS 表现更好(图 4、5)。本实验还进一步表明,LFS 如与生长素配合使用,会取得更好的效果,而且用一种培养基,④MS + NAA 0.1 + LFS 0.2,即可完成罗汉果组培中的“启动”、“继代增殖”和“生根”3 个环节。LFS 在罗汉果组培中的这些特殊效应值得重视。

4.2 在本实验中,CPPU 单独使用难以使罗汉果外植体腋芽萌发成苗,和生长素 NAA 配合使用后,虽然能诱导腋芽萌发,却只能促进叶片长大和愈伤组织的生长,同时仍然显著抑制茎的伸长和不定根的发生,难以建成完整的再生植株。因此,要想把 CPPU 用于罗汉果组培苗的生产,还必须做进一步的研究,特别是如何与其它调节剂合理地配合使用。

参考文献:

- [1]李峰编著.罗汉果栽培与开发利用[M].北京:中国林业出版社,2004.
- [2]钟仕强编著.七种中草药高效益栽培[M].北京:金盾出版社,2001.
- [3]许鸿源,周凤珏,何冰,等. LFS, N⁶-BA 和 KT 在罗汉果组织培养中不同的生物效应[J]. 种子,2006,25(8):4-6.
- [4]付长亮,马小军,白隆华,等. 罗汉果组织培养研究进展[J]. 中国中药杂志,2005,30(5):325-328.
- [5]许鸿源,许鸿章,杨美纯,等. PGR-08 理化性质及生物活性的研究[J]. 广西植物,2003,23(5):461-463.