

不同光照强度对灯盏花无糖组 培苗生长发育的影响*

杨艳琼,王 荔**,陈疏影,杨 凯,黄 平,刘 波

(云南农业大学农学与生物技术学院,云南 昆明 650201)

摘要:以灯盏花组培不定芽为材料,研究探讨了不同光照强度对灯盏花无糖组培苗生长发育的影响。结果表明:在一定光照强度、一定 CO₂ 浓度范围内,光照强度对灯盏花无糖组培苗生根率、干物质含量的积累具有重要的作用,在适宜的培养条件下,光照强度越强,生根率也越高;强光照对灯盏花无糖组培苗干物质含量的积累明显增强。

关键词: 灯盏花; 光照强度; 无糖组培; 生根率; 干物质含量

中图分类号: S 567. 239. 035. 3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 390X(2007)03 - 0323 - 04

Effect of Different Light Intensity on Development of Plantlet in Sugar-free Tissue Culture of *Erigeron breviscapus*

YANG Yan-qiong, WANG Li, CHEN Shu-ying, YANG Kai, HUANG Ping, LIU Bo

(Faculty of Agronomy and Biotechnology, Y A U, Kunming 650201, China)

Abstract: In this research, adventitious bud of *Erigeron breviscapus* were used as materials. And studied the effect of different light intensity on development of plantlet in sugar-free tissue culture of *Erigeron breviscapus*. Results showed that under the conditions of stated light intensity and CO₂ concentration, the light intensity was an important factor for plantlet in sugar-free tissue culture of *Erigeron breviscapus* to root and accumulate dry substance. Under feasible conditions, with the improvement of light intensity, the rooting rate and dry substance content increased obviously.

Key words: *Erigeron breviscapus*; light intensity; sugar-free tissue culture; rooting rate; dry substance content

灯盏花 [*Erigeron breviscapus* (Van.) Hand. Mazz.], 菊科飞蓬属, 又名短葶飞蓬、灯盏细辛等, 始载于《滇南本草》^[1], 全草或花入药, 有活络止痛, 散寒祛风之功效^[2,3]。近年来, 研究发现灯盏花可以治疗心血管疾病、脑梗塞及缺血性脑血管疾病^[4,5], 随着对灯盏花药用效果的深入研究及药材市场对灯盏花需求的扩大, 药农为了追求经济效益, 无度挖掘灯盏花野生资源, 导致灯盏花野生资源逐渐枯竭。针对灯盏花自然繁殖率低, 发芽率低

的情况, 研究开发一种能快速繁殖大量种苗的方法已成为当前研究的热点^[6]。目前, 灯盏花传统组织培养技术的研究在国内虽已见报道^[7-9], 但由于传统组织培养中各种环境影响因子较难控制, 光照强度弱, 且高糖分的存在, 组培苗污染率较高, 大田栽培成活率低, 这严重阻碍了灯盏花组培苗的工厂化生产。

无糖组培快繁技术是日本千叶大学的古在丰树教授^[10,11]20世纪80年代末发明的一种全新的

收稿日期: 2006 - 10 - 25

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30360122) ** 通讯作者 E-mail: Wangli5820840@yahoo.com.cn

作者简介: 杨艳琼(1966 -), 女, 云南昆明人, 高级实验师, 主要从事药用植物组织培养研究。

植物组织培养技术,是微环境控制技术和组织培养技术的有机结合。它以 CO_2 代替糖作为植物体的碳源,利用工程技术手段调节组培微环境的空气、光照、 CO_2 、温度、湿度等影响因子,促进植物光合作用,使植物由异养型转变为自养型,从而促进植物的生长发育。目前,该技术已在非洲菊^[12]、满天星^[13]、彩色马蹄莲^[14]等花卉植物产业化生产中凸显了极大的优势。但目前,该项技术在药用植物方面的应用还未见报道。本研究探讨了在微环境控制条件下,不同光照强度对灯盏花无糖组培苗在生根培养阶段光合生理生长发育的影响,为探索一条适宜灯盏花无糖组培快繁的途径提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

灯盏花有糖组培产生的不定芽

1.2 方法

试验设计:对光照强度设 3 个处理[无糖 1: $39.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;无糖 2: $56.8 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;无糖 3: $71.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$],每个处理一盘,每盘接种 100 个不定芽,以漂浮育苗基质为培养基,加营养液(以 MS 培养基的大量元素、微量元素、铁盐的浓度为准),培养温度 $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照时间 16 h/d, CO_2 浓度 $1000 \sim 1200 \mu\text{L/L}$,均在无糖培养室内的组合式培养箱中培养。同时以有糖组培苗为对照(CK)。

观察记载和干物质含量测定:观察记录不同处理灯盏花不定芽生根的起始时间,培养 15 d 以后,对无糖组培苗长势进行直观评价,统计生根率,测量根长,测定鲜重、干重和干物质含量(3 次重复)。

无糖组培苗生长势直观评价标准:

+++ : 新生叶多,叶片深绿,叶面积大,根多且长;

++ : 有新生叶,叶片淡绿,根少且短;

+ : 不生根,叶片黄绿;

干物质含量测定:个处理随机取样 15 株苗,测定总鲜重 W_1 ;放入烘箱中, 105°C 杀死细胞后,在用 $70 \sim 80^\circ\text{C}$ 下烘干至衡重(5 h),测定总干重 W_2 。

$$\text{干物质含量}(\%) = \frac{\text{总干重 } W_2}{\text{总鲜重 } W_1} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 不同光照强度对灯盏花不定芽生根率的影响

无糖组培苗生长发育状况:灯盏花不定芽无糖培养 7 d 后,其基部有白色的生长点冒出,培养 15 d 后,灯盏花无糖组培处理 3 的小苗,抽出的多片新叶,叶片颜色呈深绿色,叶面积大,叶片厚度明显大于有糖组培苗(CK),根多,且根部有绒毛状须根,种苗健壮;处理 1 中的小苗颜色呈淡绿色,新叶增加少,且叶片颜色较浅,呈现淡绿色;有糖组培苗(CK)的小植株,有新叶抽出,但叶面积较小,叶片颜色呈淡绿色,根少,根部无绒毛状须根(见图 1)。

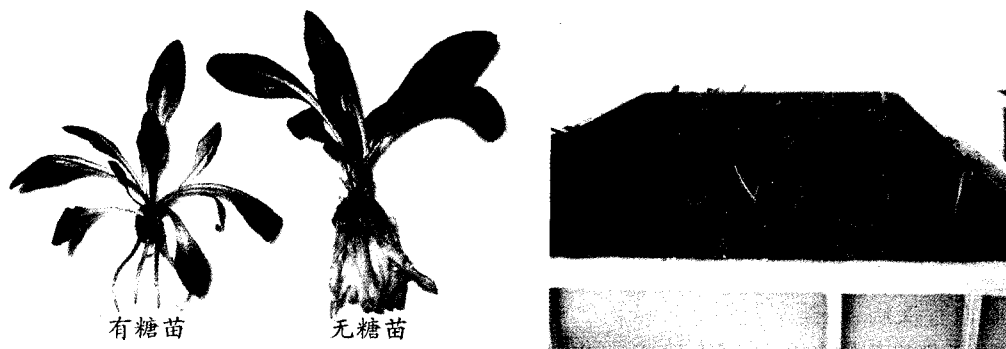


图 1 无糖苗长势

Fig. 1 Growth vigor of plantlet in sugar-free tissue culture of *Erigeron breviscapus*

无糖组培苗生根率从表 1 可以看出:3 个不同光照强度处理的灯盏花无糖组培苗的生根率都高于有糖组培苗(CK);光照强度在一定范围内,无糖

组培苗的生根率与光照强度呈正相关,在光照强度为 $71.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的条件下,生根率最高,为 94.1%,且根多、根壮(见图 1)。

表 1 不同光照强度对灯盏花不定芽生根率的影响

处理 treatment			根系生长 growth of root			2.0 cm ² 以上的 叶片数/片 leavs over 2.0 cm ²	种苗长势评价 evaluati-on of growth
处理号 number of treatments	光照强度/ [μmol · (m ² · s) ⁻¹] light intensity	培养时间/d Number of treatments	根数/根 amount of root	根长/cm length of root	生根率/% rate of rooting		
无糖 1 sugar - free 1	39.2	15	5.1	2.7	65.8	2.7	+ +
无糖 2 sugar - free 2	56.8	15	5.3	2.8	83.6	3.9	+ +
无糖 3 sugar - free 3	71.4	15	6.5	3.2	94.1	4.3	+ + +
有糖(CK) sugar	39.2	15	3.5	2.5	60	3.1	+ +

2.2 不同光照强度对灯盏花无糖组培苗干物质积累的影响

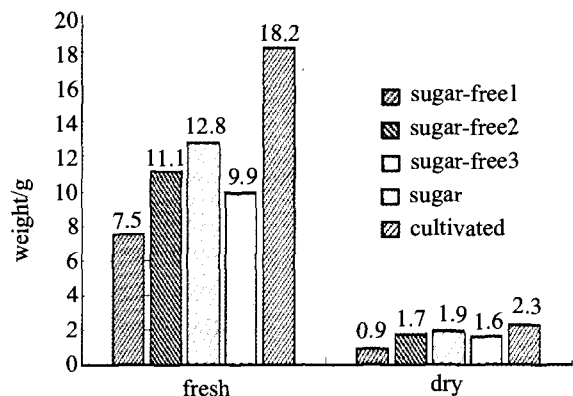


图 2 不同光照强度下培养的灯盏花无糖苗鲜、干重比较
Fig. 2 Comparison of dry weight and fresh weight of plantlet in sugar-free tissue culture of *Erigeron breviscapus* under different intensity

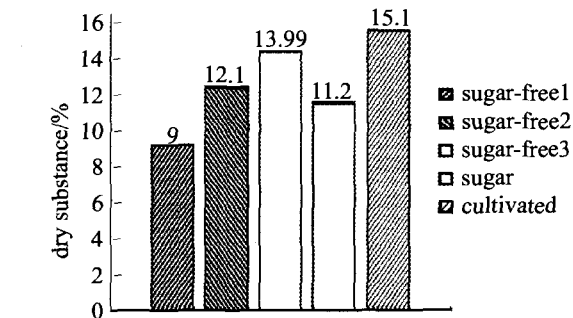


图 3 不同光照强度下培养的灯盏花无糖组培苗干物质含量比较
Fig. 3 Comparison of dry substance of plantlet in sugar-free tissue culture of *Erigeron breviscapus* under different intensity

从图 2 得知,不同处理灯盏花无糖组培苗的鲜

重差异明显,无糖处理组合 2,3 组培苗的总鲜重都高于有糖组培苗(CK),接近栽培苗的水平;从图 3 可以看出,处理组合 2,3 的干物质含量都比有糖组培苗(CK)高,而且,处理 3 的干物质含量接近栽培苗的水平。

3 讨论

3.1 不同光照强度对灯盏花无糖组培苗生根率的影响

光环境是影响组培苗光合作用和生长的内在因素。而光照弱是有糖组培苗光合机构功能失常的原因之一,适度提高光照可使桅子组培苗结构发育更好地趋向于光合自养^[15]。MATYSIAK 等^[16]观察到,150 μmol/(m² · s)光照与 50 μmol/(m² · s)的相比显著提高了玫瑰组培苗的干重。在烟草组培苗生根阶段进行 60 μmol/(m² · s)和 200 μmol/(m² · s)两种光强处理,发现以光合兼养式,同时提高光强培养利于试管苗的移栽及随后的生长^[17]。增加光照对地黄组培苗也有促进生长的作用^[18]。

3.2 不同光照强度对灯盏花无糖组培苗干物质含量的影响

干物质含量是植物利用光能固定无机物、合成有机物的直接表现^[19]。本试验中,不同光照强度下灯盏花无糖组培苗的干物质含量差异明显,在 71.4 μmol/(m² · s)光照强度下的无糖组培苗最高,39.2 μmol/(m² · s)光照强度下的无糖组培苗最低。这表明:强光照对灯盏花无糖组培苗干物质的积累能力明显增强。

[参考文献]

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第4册)[M]. 北京:科学出版社,1985.
- [2] 云南省卫生厅. 云南省药品标准[M]. 昆明:人民卫生出版社,1974:116-118.
- [3] 王雪松,沉旭中,刘买利. 灯盏花素对缺血再灌注脑损伤的脑保护作用研究[J]. 中成药,2002,24(12):947.
- [4] 卢惠生. 不稳定型心绞痛 CD63, CD62P, C- RP 的变化及灯盏花的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 2001, 10(5):415.
- [5] 刘红. 灯盏花注射液抗脑缺血作用的实验研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2001, 18(2):96
- [6] 俞宏渊,陈宗莲. 灯盏细辛的家化栽培[J]. 云南植物研究,2002,(3):115-120.
- [7] 黄平,王荔,杨艳琼,等. 正交设计在灯盏花组织培养中的应用[J]. 云南农业大学学报,2006,21(2):160-163.
- [8] 林春,刘鸿高,苏友波,等. 灯盏花快速繁殖研究简报[J]. 云南农业大学学报,2003,18(3):323-326.
- [9] 杨耀文,钱子刚. 灯盏花组织培养初步研究[J]. 云南中医学院学报,2002,52,(2):12-13.
- [10] KOZAI T, KITAYA Y, KUTOTA C. Collected papers on environmental control in micropropagation [J]. Chaila university press, 1995, (3):591-947.
- [11] KOZAI T, KITAYA Y, KUTOTA C, et al. . Collected papers on environmental control in micropropagation [J]. Chaila university press, 1994, (2):384-568.
- [12] 肖玉兰,张立力,张光怡,等. 非洲菊无糖组织培养技术的应用研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(4):408-10.
- [13] 李宗菊,周应揆,桂明英,等. 满天星无糖组培快繁技术研究[J]. 云南大学学报, 1999, 21(2):134-138.
- [14] 屈云慧,熊丽,张素芳,等. 彩色马蹄莲组织苗无糖生根培养的环境控制[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(2):166-169.
- [15] SERRET MD, TRILLAS MI. Effects of light and sucrose levels on the anatomy, ultrastructure, and photosynthesis of *Gardenia jasminoides* Ellis leaflets cultured in vitro [J]. International Journal of Plant Sciences, 2000, 161(2):281-289.
- [16] MATYSIAK B, KUBIK M, PODWYSZYNSKA M, et al. . Effect of photon flux density on CO₂ fixation and growth of *Rosa hybrida* White Gem' microcuttings [J]. Acta Horticulture, 1997, 418:103-106.
- [17] KADLECEK P, TICHA I, HAISEL D, et al. . Importance of in vitro pretreatment for ex vitro acclimatization and growth [J]. Plant Science, 2001, 161(4):695-701.
- [18] CUI YY, HAHN EJ, KOZAI T, et al. . Number of air exchanges, sucrose concentration, photosynthetic photon flux, and differences in photoperiod and dark period temperatures affect growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets in vitro [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2000, 62(3):219-226.
- [19] 王忠. 植物生理学 [J]. 北京:中国农业出版社, 2002.