

六倍利的组织快繁技术

孟庆敏,卓丽环

(东北林业大学,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:以六倍利(*Lobelia erinus*)茎节,顶芽,叶片,叶柄、茎为材料,采用MS培养基,加入不同种类和浓度的激素进行培养。通过研究发现培养基MS+6-BA1.5+NAA0.05mg/l产生愈伤组织及分化最好,MS+NAA0.05mg/l生根最好。

关键词:六倍利;组织培养;愈伤组织;分化

六倍利又名山梗菜,为桔梗科,半边莲属,多年生草本植物,需要多做一年栽培。其株高12~20cm,近基部的叶稍大,呈广匙形,茎上部叶较小,呈披针形。花期春季,是良好的园林绿化材料,多用于片植或丛植于林缘草地中,也可作模纹花坛的配置材料;六倍利含有多种药物成分,具有多种疗效,是一种使用广泛的药草。一般用种子繁殖,但使用组培技术可以增加其繁殖系数,扩大其应用范围,并能保证优良品种的性状不发生改变。

1 实验材料与方法

1.1 试验材料

供试材料取自黑龙江省森林植物园花坛的陆地实生苗。

1.2 研究方法

1.2.1 取材与消毒

取实生苗剪成3~5cm的小段,加洗涤剂,浸泡10min左右,其间不停搅拌,然后在自来水下冲洗30min,在超净工作台上用酒精杀菌20s,无菌水冲洗2~3遍,用0.1%的升汞消毒3min,无菌水冲洗4~5次,剪切,顶芽带两片叶,茎节带一片叶,茎段切割为长0.5cm左右,叶片边缘剪切,接种到培养基上。

1.2.2 试验用培养基及培养条件

初始培养基:MS、MS+6-BA1.0mg/l

诱导、分化培养基:MS+6-BA0~1.0+NAA0~0.1mg/l

生根培养基:MS+NAA0~1.0mg/l

以上培养基均附加2%蔗糖,0.8%的琼脂,以1.0mol/l NaOH或HCl调pH至5.7~6.0,在121℃下灭菌15min。培养室一般保持温度为23℃~25℃,光/暗周期16/8h,光强1000~1500lx,湿度60%~70%。

2 结果与分析

2.1 无菌苗的获得

以实生苗顶芽、茎节为最初外植体,接种到初始培养基上。接种后检查污染和褐变情况,发现污染及时清理,发现褐变及时转换新鲜培养基。

从表1可见,MS+6-BA1.0的分化率明显高于MS,而且不同培养基的褐变程度不同,展叶抽枝形成无菌苗的时间也不同。在MS培养基上,顶芽和茎节长势良好,可不用转换培养基,接种3d,侧芽萌动,一周后芽开放,展叶、抽枝,20d即可生成株高3~5cm的完整植株,顶芽和茎节的差异并不明显。在MS+6-BA1.0培养基上有褐变现象,一般在10d左右转一次瓶既可解决。接种后15d后芽开放,展叶、抽枝,30d形成无菌苗,因为茎节的侧芽发育,而且茎上可以生成分化芽,其成苗率比顶芽更适合初始培养。

2.2 不同外植体的诱导和分化

2.2.1 茎节的诱导和分化

取无菌苗的茎节转入诱导、分化培养基,诱导愈伤组织和丛生芽。从表2看出转入诱导、分化培养基35d的观察结果:侧芽展叶抽枝,形成愈伤组织及分化的能力因激素的浓度不同而有差异。

茎节在各培养基上均能出现愈伤组织,6-BA浓度越小出愈率越低,30d左右开始分化,在MS+6-BA1.5+NAA0.05上分化率最高,每平方厘米愈伤组织可产生约20个芽,在芽高约为2~3cm时切下移至生根培养基,继续培养,如不及时继代则分化芽将不继续发育,逐渐枯萎。

表1 不同培养基的培养效果

培养基	接种数/个	感染率 (%)	褐变率 (%)	分化率 (%)	接茎节数/ 个	感染率 (%)	褐变率 (%)	分化率 (%)
MS	顶芽 15	13.3	6.7	46.7	15	6.7	0	60
MS+6-BA1.0	顶芽 15	6.7	0	73.3	15	13.3	0	92.3

收稿日期:2006-04-07;修回日期:2006-04-24

作者简介:孟庆敏(1977-),女,硕士研究生,研究方向:园林植物的组织培养。

2.2.2 顶芽的诱导和分化

从表3可以看出,顶芽在所有培养基上均能产生愈伤组织,但是其形态有显著差异:在培养基MS+6-BA1.5+NAA0.05上一周左右产生愈伤组织,30d左右分化,每平方厘米可分化约15个芽,生根与带叶茎段相同;6-BA浓度低或高都会影响其分化率;NAA的浓度对分化的影响也很明显,它的浓度增加会大大降低六倍利的分化率,由此可以看出激素的浓度对分化的影响非常重要。

2.2.3 叶片、叶柄与茎段的诱导和分化

叶片、叶柄和茎段的培养比顶芽和茎节难分化。从表4可以看出在多种培养基上均产生愈伤组织,叶片与叶柄在MS+6-BA1.0+NAA0.05,MS+6-BA1.5+

NAA0.05上可以分化,但不能发育形成分化芽,而茎段在每种培养基上都能分化,虽然分化率很低,但在MS+6-BA1.5+NAA0.05上可以产生分化芽,每平方厘米约为2个,芽高在2cm左右时无论是否切割下来移瓶均不能继续发育成完整植株,逐渐死亡。

2.3 生根阶段

由表5可以看出六倍利极易生根,在MS培养基上即可生根,但是少且没有分枝,对移栽存在一定困难;在MS+NAA0.05上不但生根最好,而且长势旺盛,适合移栽;在MS+NAA0.1和MS+NAA0.15上,虽然生根好,但是植株生长差,叶黄、茎细,植株弱,不利于移栽与应用。

表2 不同激素比对带叶茎节的影响

激素配比 (mg/l)	接种数	出愈率 (%)	分化率 (%)	生根率 (%)
MS+6-BA0.5+NAA0.05	35	88.6	62.9	100
MS+6-BA1.0+NAA0.05	33	100	93.9	93.3
MS+6-BA1.5+NAA0.05	35	100	100	85.7
MS+6-BA2.0+NAA0.05	36	100	69.4	55.6
MS+6-BA1.0+NAA0.1	33	100	63.6	100

表3 不同激素比对顶芽的影响

激素配比 (mg/l)	接种数	出愈率 (%)	分化率 (%)	生根率 (%)
MS+6-BA0.5+NAA0.05	29	100	51.7	100
MS+6-BA1.0+NAA0.05	31	100	83.9	90.3
MS+6-BA1.5+NAA0.05	35	100	100	82.9
MS+6-BA2.0+NAA0.05	28	100	71.4	75
MS+6-BA1.0+NAA0.1	37	100	54.1	91.9

表4 不同激素比对叶片、叶柄、茎段的影响

激素配比 (mg/l)	接种数 (个)	出愈率 (%)	分化率 (%)	生根率 (%)
MS+6-BA0.5+NAA0.05	叶片 20	55	0	60
	叶柄 30	40	0	30
	茎段 27	81.5	7.4	33.3
MS+6-BA1.0+NAA0.05	叶片 15	93.3	60	46.7
	叶柄 35	85.7	28.6	37.1
	茎段 23	87.0	73.9	43.5
MS+6-BA1.5+NAA0.05	叶片 17	100	82.4	41.2
	叶柄 32	87.5	37.5	28.1
	茎段 28	92.9	85.7	39.3
MS+6-BA2.0+NAA0.05	叶片 14	92.9	0	21.4
	叶柄 29	82.8	0	17.2
	茎段 19	84.2	10.5	26.3
MS+6-BA1.0+NAA0.1	叶片 18	77.7	0	66.7
	叶柄 37	67.6	0	40.5
	茎段 26	61.	7.7	76.9

表5 不同浓度 NAA 的生根诱导

激素配比 (mg/l)	接种数 (个)	生根率 (%)	备注
MS	30	100	长势好,直接产生白色根,较粗壮,但分枝少,均长约为8cm
MS+NAA0.05	35	100	长势好,基部愈伤很少,根粗壮,且有分枝,均长约为11cm
MS+NAA0.1	29	100	长势稍弱,根多且壮,均长约为15cm,但整个植株叶色淡,且茎细
MS+NAA0.15	33	100	长势弱,根多,且分枝,均长约为17cm,但叶色黄绿,茎细易断

2.4 移栽阶段

在根长到 2~3cm 时出瓶,不需要炼苗,由三角瓶中取出后,洗净根部的琼脂,直接移栽于温室中,在散射光下进行培养。培养土为园土:沙为 3:1,移栽一周后观察,共移栽 35 棵,成活 33 棵,且长势良好,成活率达 94.3%。

3 结论与讨论

(1)培养于 MS 培养基的带叶茎段和顶芽虽然能形成完整植株,但一个切段只能形成一个植株,并不能增加其繁殖系数,与种子繁殖的差异不明显,意义不大,不能用于生产中。

(2)培养基 MS+6-BA1.0+NAA0.05 可以产生愈伤组织并能生成分化芽,与添加其他浓度的培养基相比分化率最高,投资相对低廉,是六倍利快繁技术中比较理想的愈伤、分化培养基,可以用于生产。

(3)任何培养基上的分化芽如果不及时从其中移植到 MS 基础培养基中,将不会继续发育,逐渐死亡。所以要得到健壮的分化苗,及时移瓶是关键。

(4)不添加任何激素的 MS 培养基可以作为壮苗培养基。在含有激素的培养基上虽然能够产生愈伤组织和分化芽,但生长在其中的苗往往叶色黄绿、茎较细,

较脆弱,不适合在外界环境中生长,将较弱的小苗移到 MS 培养基上一周左右即茎变粗,叶片绿色转浓,植株变得健壮。

(5)六倍利在 MS+NAA0.05 上生根效果最好,而且植株健壮,叶绿、茎粗,主根粗,而且分枝多,适合移栽。

(6)六倍利的茎、叶片、叶柄均能产生愈伤组织,但是分化率低,而且很难产生完整的分化植株,要应用在生产中还有待于在今后做进一步研究。

参考文献

- [1] 秦梅,等.桔梗茎段的组织培养及植株再生[J].云南农业,2004,(8):8.
- [2] 阮淑明,等.半边莲的离体快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003,(1):39.
- [3] 谭文澄,等.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.
- [4] 唐伟斌,等.桔梗快速繁殖试验体系的建立[J].安徽农业科学,2005,(4):644~645.
- [5] 王连平,等.半边莲(*Lobelia Chinensis* Lour.)离体茎段再生植株的研究[J].海南师范学院学报,1996,(6):110~113.
- [6] 张东方.植物组织培养技术[M].哈尔滨:东北林业大学出版社.
- [11] 张英,郭良栋,刘润进.都江堰地区丛枝菌根真菌多样性与生态研究[J].植物生态学报,2003,27(4):537~544.
- [12] 张勇,曾明,熊丙全,等.丛枝菌根(AM)生物技术在现代农业体系中的生态意义[J].应用生态学报,2003,14(4):613~617.

(上接第 157 页)

- [10] Diaz G., A.Roldan, J.Albaladejo.Soil type as affecting colonization patterns and mycorrhizal effectiveness of six *Glomus* species.Crytogamie Mycologia,1992,13(1):47~56.