

宫廷牡丹的组织培养

敖晓凤¹,董衍奎²,孙颖达²

(1. 黑龙江林业职业技术学院,牡丹江 157011; 2. 牡丹江师范学院)

摘要:采用 MS 培养基,对宫廷牡丹进行组织培养和快速繁殖技术的探讨,研究分析外植体叶片的分化率,从中找出适合于该品系的诱导和分化培养基。

关键词:宫廷牡丹;组织培养;培养基

宫廷牡丹是秋海棠的一个园艺变种,属秋海棠科,秋海棠属多年生草本植物。本属种类繁多,加之园艺杂交种和变种,琳琅满目。据美国园艺学家拉森 1980 年统计全世界有 1000 种以上。秋海棠多数种类兼具观叶和观花的艺术效果。用来点缀厅、堂、廊、架成布置庭院均极相宜。其中以观花为主的则有号称秋海棠之冠的球根海棠。所谓球根,乃是肉质块茎,这是园艺杂交种,其花大,色艳观赏价值很高。花大如茶花,直径可达 20cm,兼有月季、茶花、牡丹等特色,故各地有不同雅号,宫廷牡丹由此得名^[1]。

1 材料与方法

1.1 植物名称:宫廷牡丹

1.2 材料类别:叶片

1.3 培植条件

1.3.1 诱导愈伤组织与不定芽培养基(mg/L)

A1:MS+6-BA1+NAA 0.1

A2:MS+6-BA2+NAA 0.1

A3:MS+6-BA3+NAA 0.1

A4:MS+6-BA4+NAA 0.1

B1:MS+6-BA1+NAA 0.2

B2:MS+6-BA2+NAA 0.2

B3:MS+6-BA3+NAA 0.2

B4:MS+6-BA4+NAA 0.2

1.3.2 生根培养基

C1:1/2MS+NAA 0.1

C2:1/2MS+NAA 0.2

上述培养基加入蔗糖 30g/L,琼脂条 10g/L,pH5.8。光照强度 1500~2000 lx。光照时数 14h/d,培养温度 25±2℃^[2~3]。

1.4 生长与分化情况

1.4.1 无菌材料的获得:将宫廷牡丹的幼嫩叶片先用自来水冲洗干净,用 75%酒精中浸泡 30s,置于 0.2%氯化汞溶液中消毒 5min,取出后用无菌水反复冲洗 5 次,并用消毒滤纸吸取表面水分。将叶片切成 0.5cm×0.5cm 的小块,分别接种到 1.3.1 的 A1、A2、A3、A4、B1、B2、B3、B4 中,将培养瓶放入培养室中暗培养 7d,再给予光照培养。

1.4.2 丛生芽的诱导与增殖培养:接种一周后,叶片周围开始膨大,逐渐形成愈伤组织,3 周后逐渐从愈伤组织上出现淡绿的小突起。4 周后小突起连成片,此时再转接与 1.3.1 的全部培养基中进行增殖培养。过两周之后,芽原基分化许多大小不一、密集成丛的不定芽,丛生芽再经过两周的培养长成 2cm 高。

1.4.3 生根培养:将长到 2cm 高的幼苗切下,转接到 1.3.2 生根培养基中,3 周后在幼苗基部长出 3~5 条不定根,当不定根长到 2~3cm 长时,把培养瓶盖打开,进行室内环境适应性炼苗。

1.4.4 移栽:将培养瓶打开瓶盖,通风炼苗 3~4d,取出幼苗用清水洗去培养基附着物,移栽于江沙或腐殖土中。移栽后上覆塑料薄膜,温度保持 18~20℃,湿度保持土壤湿度的 60%。弱光下使其适应 1~2 周,便可逐渐茁壮生长,90%以上苗可成活。

2 结果与分析

2.1 芽的分化与增殖

在无菌条件下完成接种,经过一周暗培养后,外植体周围开始膨大出现愈伤组织。在此过程中观察到,外植体接触到培养基表面成活率较高,外植体插入培养基越深外植体容易发生褐变,成活率较低。经过 5 周的培养后其结果如表 1。

表 1 宫廷牡丹培养 5 周后情况

培养基名称	愈伤组织块	丛生芽生长情况
A1	小	生长缓慢
A2	紧密	叶片肥厚、浓绿、苗壮
A3	紧密	叶片肥厚、浓绿、苗壮
A4	大、疏松	矮小、苗弱
B1	小	生长缓慢
B2	紧密	叶片肥厚、浓绿、苗壮
B3	紧密	叶片肥厚、浓绿、苗壮
B4	大、疏松	矮小、苗壮

由表 1 可以看出 A4、B4 培养基上的外植体周围形成大量疏松的愈伤组织,且形成的苗弱小,说明此类培养基不适合宫廷牡丹的芽诱导。A1、B1 培养基上丛生芽生长缓慢,A2、A3、B2、B3 四种培养基生长情况良

中国林蛙血糖及组织谷-丙转氨酶的研究

朴忠万, 金建丽, 杨春文, 金志民

(牡丹江师范学院生物系, 黑龙江 牡丹江 157012)

摘要:采用 GOD-PAP 方法及分光光度计法分别对中国林蛙血糖及组织谷-丙转氨酶进行了测定; 中国林蛙的血糖含量为 43.02mg/dl; 林蛙心脏、肝脏、肾脏三种组织中谷-丙转氨酶(GPT)的活性单位分别为: 2.667mg/g(组织鲜重)、28.28mg/g(组织鲜重)、12.81mg/g(组织鲜重)。

关键词:林蛙; 血糖; 谷-丙转氨酶

中国林蛙(*Rana chensinensis*)属两栖纲(Amphibia), 无尾目(Anura), 蛙科(Ranidea), 蛙属(*Rana*)。是我国东北特产珍贵的野生动物。是食、药两用的珍贵蛙种。目前国内对林蛙的研究很多, 如《动物学杂志》“中国林蛙蝌蚪对碳酸盐碱度适应性”(杨富亿, 2004); 《水利渔业》“长白山区中国林蛙养殖技术”(杨富亿等 1999); 《浙江医学》“谷-丙转氨酶测定标准化的探讨”(周文竹, 1988)等。但对林蛙的血糖和谷-丙转氨酶的研究未见报道。本研究为林蛙的深入研究提供基础生理生化指标依据。

1 材料与方法

1.1 药品及测试样品

血糖试剂盒: 北京中生生物工程技术有限公司生产。

酶试剂: 葡萄糖氧化酶(GOD) > 13u/ml, 过氧化物酶(POD) > 0.9u/ml。

磷酸缓冲液: 磷酸盐 11mmol/L, 酚 100mmol/L, 4-氨基安替比林 0.771mmol/L。

使用时将 90ml 磷酸缓冲液与 10ml 酶试剂混匀即可, 此混匀的溶液为工作液。每一试剂盒装两瓶磷酸

缓冲液和两瓶酶制剂。

测谷-丙转氨酶试剂: 缓 pH = 7.4 磷酸盐冲液; 1mol NaOH; 标准丙酮酸贮存液; 标准丙酮酸应用液; GPT 基质液; 2,4-二硝基苯肼溶液等。

以上所用药品均为国产分析纯。

血清制备: 自林蛙颈部血管取血, 静止 30min 后, 在高速冷冻离心机内以 4℃, 4000r/min 离心 15min, 取血清, 4℃贮存待测。

组织匀浆制备: 将林蛙心脏、肝脏、肾脏取出各取出 0.5g, 剪碎放入研钵中, 研钵放在加冰的冰水中, 防止研磨过程中酶失活, 加磷酸盐缓冲液 1ml 研磨均匀, 再加 9ml 磷酸缓冲液, 以 2000r/min 离心 10min, 吸取上清液 1ml 与 14ml 磷酸盐缓冲液混匀, 制成谷丙转氨酶待测液。

1.2 仪器

722N 分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司。高速冷冻离心机, 美国贝克曼公司生产; 恒温水浴锅, H. H. S 21.6; 微量移液枪 L-100, L-10。

1.3 方法

好。由此可见宫廷牡丹在 6-BA 2~3mg/L、NAA 0.1~0.2mg/L 条件下, 有利于诱导与增殖。

根据表 1 的结果, 选择 A2 A3 B2 B3 四种培养基进行分化率的测定, 经过四周培养后测定其分化率见表 2。

表 2 宫廷牡丹分化率测定

培养基	愈伤组织数量	出芽率(%)	分化率(%)
A2	51	49	96
A3	48	39	81
B2	50	47	94
B3	47	40	85
总数	196	175	356
平均数	49	43.75	89

2.2 根的诱导情况

在无菌条件下将无根苗接种与 C1、C2 培养基上, 经过 3 周后长出辐射状白色不定根, 在 2 种培养基中生根情况均良好, 每株生根 3~4 条。3 周后伸长至 2~3cm, 生根率 100%, 由此可见 1/2MS+NAA0.1~

0.2mg/L 适合宫廷牡丹的生根培养。

3 意义与进展

宫廷牡丹是一种十分美丽的温室盆栽花卉, 多年生球根, 品种繁多、硕大鲜艳的花朵, 形似牡丹美丽诱人, 有的叶片清新雅致, 艳丽迷人、有的叶形与色彩奇特, 有的全年繁华不断。秋海棠多数种类兼具观叶和观花的艺术效果, 用来点缀厅、堂、廊、架成布置庭院均极适宜。利用组织培养的方法快速繁殖宫廷牡丹, 在短时期内获得大量种苗, 成本低, 产量高, 对增加经济效益和社会效益都具有非常重要的意义。

参考文献

- 1 赵玉芳, 刘满光. 球根海棠的快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(3): 233.
- 2 李景秀, 崔开云, 孔繁才. 展翅秋海棠的叶片培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(6): 439.
- 3 沈瑞娟, 白金娟. 球茎海棠的叶片培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(6): 54.