

2.7 光照及培养方式对原球茎增殖的影响 在每天12 h的光照培养条件下,原球茎增殖速度快,长势好,色绿,表面有许多白色的根毛;全黑暗条件下原球茎增殖较少,色白,多分化成芽。

2.8 根状茎诱导成苗及生根培养 增殖的根状茎顶端及侧端分化出芽;芽生长过程中,也同步分化生

表3 不同基质对组培苗生长的影响

基质	栽种株数	成活率(%)	生长情况
全蛭石	30	96.67	叶色绿;根1-5条,并长出新的根尖
蛭石+珍珠岩(1:1)	30	96.67	叶色绿,但较多叶尖萎蔫;根1-5条,并长出新根尖
蛭石+腐殖土(1:1)	29	93.10	叶色绿;根1-5条,较多根变黑死亡,少数根尖发出新根
蛭石+苔藓(2:1)	30	93.33	叶色绿,部分叶尖萎蔫;根1-5条,部分根生长
蛭石+腐殖土(1:1)	30	93.33	叶色绿,部分叶尖萎蔫;根1-5条,多数根尖变黑死亡,少数长新根
蛭石+苔藓(2:1)	30	96.67	叶色绿,部分叶尖萎蔫;根1-5条,部分根尖伸长
蛭石+腐殖土+苔藓(1:1:1)	29	86.21	叶色绿,部分叶尖萎蔫;根1-5条,多数根变黑死亡,极少数生长

长。培养约30 d后,芽长成1.0 cm左右高的小苗,基部陆续长出辐射状小根,且长有白色根毛,生根率达100%。待组培苗根长到1.0~2.0 cm时可炼苗处理。

2.9 基质种类对组培苗生长的影响 组培苗在不同混合基质中的生长情况见表3。在全蛭石基质中,苗生长得最好,叶色绿,并长出新根,成活率达96.67%;而蛭石+腐殖土+苔藓,根生长差,死亡较多,成活率仅为86.12%。

3 讨论

杜鹃兰假鳞茎和种子均能诱导获得原球茎,但假鳞茎易采集易诱导。原球茎的增殖是杜鹃兰快速增殖的关键。在B₅培养基上增殖速度快,原球茎又粗又长,且色绿;不加激素的培养基对原球茎的增殖生长较好,色绿,对保持原球茎继代扩繁的遗传稳定性具有重要意义;添加适宜浓度活性炭,能明显促进增殖生长,且长势良好。

由原球茎增殖的完整再生植株,可直接炼苗移栽。移栽采用全蛭石基质较好。

(2006-12-19 收稿)

2007-04-02 修回)

杂交景天组织培养和植株再生

赵银萍,胡洁,张九东

(西安文理学院生命科学系,陕西西安710065)

摘要 以杂交景天子叶、胚轴为外植体,接种在附加不同激素组合的MS培养基形成的愈伤组织有红、绿两种类型。子叶在MS+6-BA 1 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L和MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.5 mg/L培养基上的愈伤组织诱导率高达80%~82%。愈伤组织用MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L可诱导产生丛生不定芽,壮苗生根培养基为1/2 MS。组培苗移栽成活率达80%。

关键词 杂交景天;组织培养;快速繁殖

中图分类号:R282.2 **文献标识码**:A **文章编号**:1001-4454(2007)09-1059-03

Tissue Culture and Regeneration of *Sedum hybridum*

ZHAO Yin-ping, HU Jie, ZHANG Jiu-dong

(Department of Life Science, Xi'an College of Arts and Sciences, Xi'an 710065, China)

Abstract The cotyledons and hypocotyl of *Sedum hybridum* were used as explant to induce callus on MS media supplemented with different concentration of hormone. There were formed two kind of calluses, one was red while other was green. The cotyledon was the ideal explant for the callus induction, its induction rate could be reached 80%~82% either on MS medium with 6-BA 1 mg/L and 2,4-D 0.5 mg/L or with 6-BA 1 mg/L and NAA 0.5 mg/L. Numerous adventitious buds could formed from calluses on the MS medium

基金项目:陕西省科学技术计划[2004K18-G12(8)];陕西省教育厅自然科学专项课题(06JK199)

作者简介:赵银萍(1963-),女,副教授,硕士,主要从事植物生理及植物组织培养研究,E-mail:yinping019@163.com,Tel:029-81209922。

with 6-BA 2 mg/L and NAA 0.5 mg/L. The medium for the root growth was 1/2 MS. The tube seedling which can be successfully transplanted at 80% survival.

Key words *Sedum hybridum* L.; Tissue culture; Rapid propagation

景天科杂交景天 *Sedum hybridum* L. 可作为镇静、促进伤口愈合和消炎制剂的原料^[1]。

本实验通过组织培养快速繁殖方法,保护日趋减少的野生资源。

1 材料与方法

杂交景天种子采自新疆天山,海拔 2700 m。将萌发 20 天的幼苗用 75% 酒精漂洗 5 ~ 10 s,再用 0.6% H_2O_2 处理 2 ~ 3 min,无菌水冲洗 4 ~ 5 次,无菌滤纸吸干,以子叶、胚轴做外植体。

愈伤组织诱导培养基:(1) MS + ZT 2mg/L + NAA 0.25 mg/L + 2,4-D 1mg/L;(2) MS + 6-BA 1 mg/L + 2,4-D 0.5 mg/L;(3) MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L;(4) MS + ZT 3 mg/L。

不定芽分化增殖培养基:MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.5 mg/L。

生根培养基:分化出的丛生苗长至 3.0 ~ 4.0 cm 时转入 1/2 MS 培养基促使生根。

所有培养基均加蔗糖 30 g/L,琼脂粉 5.6 g/L, pH 6.0。培养温度 25℃ ± 2℃,光照 2000 ~ 3000 Lx,14 h/d。

2 结果与讨论

2.1 愈伤组织诱导 培养 10 d 后,子叶边缘及胚轴开始肿大,并出现许多小突起的愈伤组织(图 1)。愈伤组织生长迅速,根据色泽、质地,可分为二种类型:第一类,开始透明状后转为紫红色、质地疏松的愈伤组织;第二类,开始为黄绿色后转为绿色致密愈伤组织。在 BA 浓度不变的情况下,附加 0.5 mg/L 2,4-D 产生红色疏松愈伤组织,而添加 NAA 则诱导出绿色致密愈伤组织,并分化出芽。不同外植体的愈伤组织诱导率(表 1),以子叶较高。愈伤组织需每 28 d ~ 30 d 继代一次。如不及时继代培养,逐渐褐化死亡。

表 1 不同外植体和不同激素组合与愈伤组织诱导

激素 (mg/L)	外植体 类型	外植 体数	形成愈 伤组 织数	诱导率 (%)	愈伤组织形态		
					颜色	质地	生长势
NAA 0.25 + ZT 2 + 2,4-D 1	子叶	45	30	66.7	紫红色	疏松	+++
	胚轴	45	27	60	紫红色	疏松	+++
BA 1 + 2,4-D 0.5	子叶	55	45	82	紫红色	疏松	++++
	胚轴	45	27	60	紫红色	疏松	+++
BA 1 + NAA 0.5	子叶	55	44	80	绿色	致密	++++
	胚轴	48	24	50	绿色	致密	++
ZT 3	子叶	48	9	18.7	绿色	致密	+
	胚轴	45	0	0	-	-	-

2.2 不定芽的分化和试管苗生根 将两种愈伤组织转入 MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.5 mg/L 培养基培养,10 d 后即有芽点产生大量丛生芽(图 2)。不定芽分化率达 100%。待不定芽长至 2 ~ 3 cm 长时,将健壮芽苗切下放入 1/2 MS 基本培养基中诱导生根(图 3)。如果两种愈伤组织在愈伤组织诱导培养基上连续继代培养,亦可分别分化出毛状根和绿色芽。

2.3 练苗移栽 将培养瓶放入光强 2000 ~ 3000 Lx 每天光照 12 ~ 14 h、温度 20 ~ 25℃,待不定根长到 2 ~ 3 cm 长时,开盖练苗,同时加适量水保湿。3 ~ 5 d 后,用 1:1200 菌立灭消毒根系 30 s,栽入中性营养土中,移栽成活率 80% 以上。

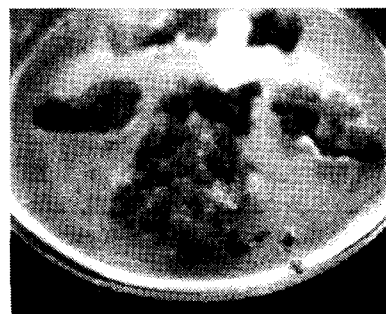


图 1 继代培养红色愈伤组织

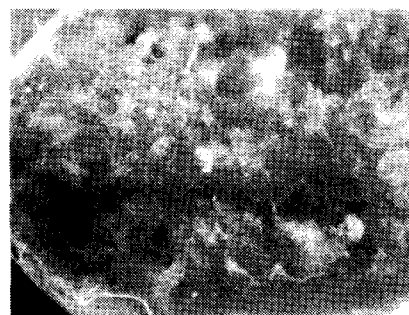


图 2 绿色愈伤分化出的丛生芽



图 3 无菌苗生根

3 讨论

在愈伤组织诱导及培养中,一般需要外源生长

调节剂。本研究采用低浓度 NAA + 6-BA 和 2,4-D + 6-BA 的配合使用具有相似的愈伤组织诱导效果,但低浓度 NAA 和 6-BA 配比更有利于不定芽的分化,说明在杂交景天培养中 NAA 比 2,4-D 更有效。罗林会等^[2]在附加 0.03 mg/L NAA 和 0.1 mg/L 6-BA 的 MS 培养基上可诱导费菜 *Sedum aizoon* 发生不定芽增殖及生根。而本研究的杂交景天在 1/2 MS 培养基上无需附加任何激素,试管苗就能生根,且生根率达 100%。

另外,笔者利用 HPLC 检测出杂交景天绿色愈伤中有红景天甙,含量为干重的 0.28% ~ 0.29%。红景天甙及其前体甙元酪醇是有生理功能的有效单

体,具有养心安神、滋阴补肾的功能,还可用于延缓机体衰老。本项研究有望为杂交景天开发利用提供前景。

致谢:中国科学院研究生院生物系郑宏春教授鉴定并惠赠实验材料。

参 考 文 献

- [1] 孙萍,李艳,杨秀菊,等. 景天总黄酮的微波提取及含量测定. 数理医药学杂志,2003,16(3):272-273.
- [2] 罗林会,邱宁宏,王勤,等. 费菜的离体快速繁殖. 特种经济动植物,2003,6(10):24.

(2007-02-13 收稿)

灵芝深层发酵菌丝体多糖含量测定

于浩翰,谢 林,肖深根,刘东波,夏志兰*

(湖南农业大学园艺园林学院,湖南长沙 410128)

摘要 本文以 8 个灵芝菌株为研究对象,比较不同菌株菌丝体液体发酵产物、子实体多糖等指标。结果表明:8 个菌株深层发酵产物,由于生物学特性不同而有差别,各菌株菌丝体生物量与次生代谢产物多糖之间,相关性较小;甜芝菌丝体生物量最大但自溶速度最快,灵芝 5760 最慢,血芝次生代谢产物多糖最高;各菌株菌丝体多糖含量均高于子实体;以超声波破壁处理后,再以热水浸提法提取,多糖得率可明显地提高。

关键词 灵芝;液体发酵;多糖;提取工艺;成分测定

中图分类号: R282.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-4454(2007)09-1061-03

灵芝为多孔菌科灵芝属的总称。世界上已知约有 120 种,各地均有分布,以热带及亚热带地区较多。国内有 90 多种,常用有的赤芝、黄芝、紫芝、黑芝、血芝、青芝等,多分布于云、贵、冀、吉、苏、浙、闽等省。灵芝种类多,品种、产地、生长阶段及培养方式的不同均可能引起有效成分和产量差异^[1]。大量实验证明,灵芝深层发酵产物具有抗肿瘤、减肥、抗衰老、护肝、抗病毒、提高免疫力和防治慢性支气管炎的作用。由于天然子实体生产周期长,受气候影响大,产量及质量不稳定且子实体木质化程度高,多糖提取利用率较低^[2]。本项工作对几种灵芝菌株多糖提取工艺以及灵芝多糖等有效成分进行比较研究。

1 材料与方法

1.1 供试灵芝 灵芝 *Ganoderma lucidum* 5760、红芝、血芝、灵芝 G8、灵芝 G9 及紫芝 *G. sinense*、黑芝 *G. atrum*、甜芝 *G. sp.* 等由湖南农业大学食用菌研究

所提供。

1.2 培养基 液体菌种培养基与深层发酵培养基配方^[3]:麦麸粉 5%,黄豆饼粉 3%, KH_2PO_4 0.01%, MgSO_4 0.09%。

将菌株的斜面菌种接到液体菌种培养基,250 ml 三角瓶装液量 80 ml,灭菌前调至 pH 5.5,于 28℃、150 r/min 转速培养 6 d 得液体菌种。按 10% 接种量接到深层发酵培养基,于相同条件下培养 6 d。发酵液经两层纱布过滤,菌丝体经蒸馏水冲洗数次后,于 60℃ 干燥至恒重,电子天平称菌丝体干重。各供试菌株均设三次重复。

1.3 多糖提取 发酵液多糖提取:发酵液于 4000 r/min 离心 10 min,取上清液 1 ml,加 2 倍体积的 95% 乙醇,放入冰箱中醇析 24 h,得乳白色絮状沉淀,乙醇洗涤两次,干燥得灵芝发酵液多糖。

菌丝体或子实体多糖提取^[4]:①热水浸提法,取灵芝菌粉或子实体粉末 0.2 g,加 40 ml 蒸馏水于