

甜叶菊茎尖组培苗生根及移栽的研究

董振红¹,王贵民¹,王彦超¹,郝再彬²

(1.东北农业大学生命科学学院,哈尔滨 150030;2.桂林工学院 桂林 541004)

摘 要:采用甜叶菊的幼嫩茎尖为外植体,MS 为基本培养基。在添加 6-BA 1.0mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 6g/L 的诱导培养基上,进行丛生芽的诱导培养,如果不感染病菌,诱导出芽率可达 100%。继代增殖培养基采用 MS+6-BA 0.5mg/L+NAA 0.05mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 6g/L,继代培养 30d 后,丛生芽数可增殖 14~15 倍。在 1/4MS+IBA 0.1mg/L+NAA 0.1mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 6g/L+活性炭 1g/L 的生根培养基上诱导生根,效果最好,生根率达 100%。组培苗出瓶前先敞口炼苗 2d,生根苗移栽后成活率可达 95%以上。

关键词:甜叶菊;组织培养;生根;移栽

中图分类号:S566.9;Q81

文献标识码:A

甜叶菊(*Stevia rebaudiana* Bertoni)又名甜菊、甜草,素有“巴拉圭甜茶”之称^[1],属菊科,甜菊属,宿根性、须根型、多年生、短日照、草本植物,株高 1m 左右。原产于南美巴拉圭东北部与巴西接壤的阿曼拜山脉^[2]。甜叶菊糖苷是甜叶菊的主要化学成分之一,其甜度约为蔗糖的 300~400 倍,热量却仅为蔗糖的 1/300,且无毒副作用,是一类新型天然甜味剂。目前,甜叶菊糖苷已经被用于食品、药品,以及用于肥胖症、高血压、胃酸多伴有溃疡病患者的治疗,小儿龋齿的预防等^[3]。因此,近年来甜叶菊已被广泛地应用于医药与饮食业,深受人们青睐,发展甜叶菊生产具有可观的经济效益和社会价值。但因甜叶菊具种子小(每 500g 种子约 130~150 万粒),极易丧失活力,发芽率低(仅为 30%~40%),实地育苗要求技术性强,成活率低,遗传性状不稳定,种子带菌又会导致苗期及后期发生病害等缺点^[4],使甜叶菊生产受到一定限制。采用组织培养的方法成批培养无菌苗既可以克服以上缺点又对保持优良原性状,提高繁殖系数,加速优良品系的推广具有重要意义。虽然以茎尖为外植体进行甜叶菊组织培养已有报道^[5-9],但是移栽成活率都较低;本试验目的是在总结前人实验经验的基础上,通过改进生根培养基及移栽前后的细节来间接提高移栽成活率。

本试验在诱导生根过程中,采用了添加不同生长素类物质的生根培养基,其中以添加 IBA 0.1mg/L+NAA 0.1mg/L 的培养基,诱导出的根系更为粗壮。出瓶前先敞口炼苗 2d 后,再将根浸在含 1/8MS+IBA 0.05mg/L+NAA 0.05mg/L+蔗糖 15g/L 的培养液中敞口培养 2d,使苗逐步适应从无菌到有菌的环境,从而提高了移栽的成活率。因该方法培养周期短,60d 即可移栽,因此应用此法快速繁殖具有一定的实用价值。

1 材料与方法

1.1 供试材料

甜叶菊(*Stevia rebaudiana* Bertoni)取自东北农业大学实验实习基地。选取旺盛生长期植株主茎或侧枝的幼嫩尖端部分做为外植体。

1.2 试验方法

取甜叶菊茎的幼嫩尖端部分先用蒸馏水冲洗干净,在超净工作台上用 70%的酒精消毒 10s,无菌水冲洗 1~2 次,然后用 0.1%的升汞(HgCl₂)浸泡 4min,无菌水冲洗 4~5 次后用镊子掐取茎尖端约 0.5cm,接种于诱导培养基中进行丛生芽的诱导培养。4~5 周后,将不定芽接种到继代培养基中,以后约每 3~4 周继代 1 次。待丛生芽长至 2cm 左右,具 1~2 对叶时,将其从愈伤组织上切下,接种于以下培养基,1 号:1/4MS+IBA 0.1mg/L;2 号:1/4MS+IBA 0.1mg/L+NAA 0.1mg/L;3 号:1/4MS+NAA 0.1mg/L;4 号:1/4MS,蔗糖添加量均为 30g/L,琼脂 6g/L 中诱导生根。以上培养基均在 121℃下消毒 20min。培养条件为:培养室温度(25±1)℃,相对湿度 60%~70%,光照强度 2000~3000μmol/(m²·s),先暗培养 2d 再进行 24h/d 的光培养,各种培养基在高压灭菌前 pH 均调至 5.8。甜叶菊试管苗在培养瓶中培养至长有 6 片以上叶子和发达的根系后,先敞口炼苗 2d,用上述培养液浸根 2d(促使根系进一步生长及在根的表面形成一层根绒毛)后洗净根部,将苗转入装有土沙并浇少量培养液(1/20 MS)的小花盆中,为了提高茎秆强度,增强抗倒伏能力,可在沙土中添加少量草木灰,浇足水。如果室外温度达不到 25℃左右,可暂时将小花盆放入温度适宜的温室中,每隔 2d 浇 1 次水。如室温适宜,可先放在室内阴凉处,每 1~2d 浇 1 次水,4~5d 后,如果苗长势良好,则可移入阳光下培养。定期浇水,待小苗成活后,温度适宜时再移于大地栽培。

收稿日期:2007-07-22

基金项目:黑龙江省教育厅 2006 面上项目(11511033)。

作者简介:董振红(1978-),女,吉林省公主岭市人,硕士研究生,主要从事植物生理生化与分子生物学研究。

2 试验结果

2.1 甜叶菊丛生芽诱导与继代培养

诱导培养 3~4d 时,有的茎尖基部开始膨大,5~7d 后开始有嫩绿的新芽出现,同时部分外植体的基部形成愈伤组织。随着小芽的不断长高,在芽的基部出现少量丛生枝,大多数培养基中的丛生芽的数量不断增加,约 30d 左右,平均可增殖 10 倍左右(图 1),继代培养后可增殖 14~15 倍。

2.2 不定芽的生根

生根培养 40d 后,几种培养基中的生根情况见图 2~5,统计情况见表 1。1 号培养基诱导出的根细长如丝;2 号培养基诱导出的明显粗壮,移栽易成活;3 号培养基诱导出的根比 1 号粗壮但较 2 号细;4 号培养基上苗的叶色较前几种培养基中的稍淡,呈黄绿色,但不影响长高,且也生出极少不定根。

3 讨论

3.1 植物生长调节剂在各培养阶段中的影响

3.1.1 6-BA 对丛生芽的诱导与增殖的影响 6-苄基腺嘌呤(6-BA)为一种细胞分裂素,具有将侧芽从顶端优势中释放出来及促进外植体细胞分裂形成丛生芽的作用。甜叶菊茎尖的外植体在添加 6-BA 在 0.5~1.5mg/L 的 MS 培养基上均能诱导丛生芽的形成,但以添加 6-BA 1.0mg/L 的培养基上诱导芽效果最好,故采用 MS+6-BA 1mg/L+琼脂 6g/L+蔗糖 30g/L 为诱导培养基。

3.1.2 6-BA 与 NAA 对继代培养中丛生芽分化的影响 在植物组织培养过程中,愈伤组织分化为根和芽是由细胞分裂素与生长素含量的比值决定的,比值高时,促进芽的形成^[9]。故本试验采用调整 6-BA 与 NAA 的浓度比,来提高丛生芽的分化率。以添加 6-BA 0.5mg/L,NAA 0.05mg/L 时,丛生芽分化率为最高。

3.1.3 IBA 与 NAA 对不定芽生根的影响 因 IBA 和 NAA 均可诱导不定芽生根,但 IBA 诱发出的根细长,而 NAA 诱发的根短粗,将二者结合使用,则起到了一定的加合作用,诱导出的根具长、粗、多的特点。

3.2 试管苗移栽应注意的事项

移栽最好待试管苗至少长到 5~7cm,具发达的根系时,因为此时苗的抗性较强,根系较完全,利于成活。为了避免感染病菌,开口炼苗最好不超过 3d,以 2d 为宜。在培养液中培养不应超过 2d,否则培养液会因感染病菌而浑浊。如培养液已出现浑浊,应先将苗用 70%的酒精消毒处理后再移栽。移栽后观察发现用 1/20 的培养液浸过的土较未浸过的易感染病菌,因此在以后的重复试验中采用水来代替 1/20 培养液。移栽时一定要用流水冲净根部培养液及残留培养基(如冲洗不净易滋生病菌),且注意勿伤害根部。移栽苗需较多水分,移栽后一定要保证水分供应充足。

参考文献:

[1] 崔德才,徐培文.植物组织培养与工厂化育苗[M].北京:化学工业出版社,2003.
[2] 何毓娟,李元彬.发展甜菊生产大有可为[J].中国糖料,1997(1): 52~56.
[3] 马琴玉,楼凤昌,李翱.甜叶菊的研究进展[J].国外医学药学分册,1992, 19(1): 5~9.
[4] 朱东顺,宋晴晴,傅在秋,等.山东省甜叶菊的主要病害及防治措施[J].中国糖料,2002(3): 27~29.
[5] 赫福霞,于晶,李茫雪,等.多因子正交试验对甜叶菊丛生芽诱导条件的筛选[J].中国农学通报,2005, 21(7): 80~81.
[6] 黄苏珍,韩玉林,谢明云,等.甜叶菊“中山一号”快速繁殖研究[J].特产研究,1999(4): 48~49.
[7] 李启任,刘娟,董立华,等.甜叶菊茎尖组织培养快繁技术[J].云南大学学报(自然科学版),1992, 14(4): 425~426.
[8] 沈秀丽,徐仲.甜叶菊组织培养条件的研究.I.外植体、激素浓度、琼脂浓度对愈伤组织形成及芽诱导的影响[J].中国糖料,1996(3): 24~26.
[9] 沈秀丽,徐仲.甜叶菊组织培养条件的研究.II.不同基本培养基、不同碳源对愈伤组织形成及芽诱导的影响[J].中国糖料,1997(4): 9~10.
[10] 李合生.现代植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2002.

(下转 39 页)

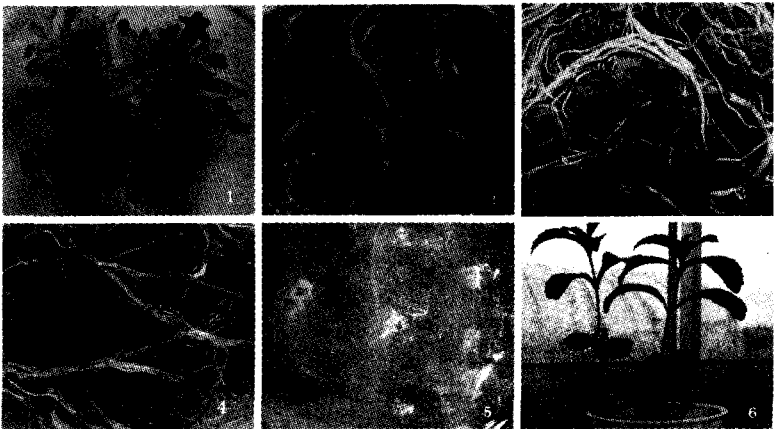


图 甜叶菊组培苗及生根情况

图 1 为诱导培养 30d 后的组培苗;图 2、3、4、5 分别为接种在 1、2、3、4 号生根培养基上的不定芽培养 40d 后的诱导生根情况;图 6 为移栽 60d 后的甜叶菊组培苗

表 1 不同培养基对不定芽生根的影响

培养基	接种数	生根芽数	生根率 (%)	生根状况	移栽后成活率 (%)
1 号	80	80	100	苗细高,须根多,长且较细	91
2 号	80	80	100	苗壮,须根多,稍短,但较粗壮	95
3 号	80	80	100	苗较壮,须根稍少,短粗	92
4 号	80	76	95	苗稍细弱,根稀少且很短	19

率 19.8%;其次为处理③和处理①,分别较对照增产 18.6%和 13.4%。

2.2 不同处理对甜菜含糖率的影响

从含糖率测定结果看,处理④最高,平均为 18.2%,比对照 16.2%增糖 2.0 度;其次是处理①,平均含糖 17.9%,比对照增糖 1.7 度;处理②位居第三,平均含糖 17.1%,比对照增糖 0.9 度;处理③平均含糖 16.6%,比对照增糖 0.4 度。

2.3 不同处理对甜菜农艺性状的影响

由表 2 知,测定的甜菜一些农艺性状根长、叶数、单株鲜叶重、单株根重,处理④各项目表现突出,其次是处理②构成甜菜产量的主要因素根长、单株根重表现良好,与甜菜产量结果相符。从鲜叶数、单株鲜叶重看,各处理表现顺序为:④>①>②>③,可能与合成甜菜含糖率有关。

3 小结

3.1 3 个试验点分析结果:甜菜施用稀土微肥确有提高产量和品质的显著效果。使用方法及施用量以处理④ 750g/hm² 稀土微肥:其中 375g/hm² 稀土微肥溶于 3kg 水中拌种,375g/hm² 加水 600kg 在叶丛繁茂初期喷洒效果最好,较对照增产 29.5%,提高含糖率 2.0 度。其次是处理②300g/hm² 稀土微肥溶于 37.5kg 水中浸种 24h;处理①600g/hm² 稀土微肥溶于 3kg 水中拌种;前者有明显的增产效果,后者有显著的增糖效果。

3.2 总体看,稀土微肥用于甜菜拌种或浸种都具有显著的增产效果。其中拌种加喷洒既能增产又能提高甜菜含糖率^[2],是甜菜增产又增糖的最佳使用方法。

参考文献:

- [1] 竺伟民. 稀土元素的生物效应[C]. 中国土壤学会第六次全国会员代表大会暨学术年会论文摘要集,1987:179-180.
- [2] 李国军,战克明,强翠,等. 甜菜施用稀土技术试验简报[J]. 甜菜糖业,1989(2):17-18.

Application Effect of Rare Earth Trace Element Fertilizer on Sugarbeet

LUO Zhi-zhen, Ma-Jing

(Promotion Station of Agricultural Technology of Jiuquan, Jiuquan, Gansu 735000, China)

Abstract: Rare earth trace element fertilizer was applied by four treatments, seed dressing, seed soaking, spraying, both seed dressing and spraying on sugarbeet. The 4 treatment results showed that the root yield and sugar content of sugarbeet were increased. The best result was in the treatment both seed dressing and spraying, using 750 g/ha rare-earth (375 g/ha rare-earth + 3 kg water for seed dressing before sowing, and spaying 375g/ha rare earth + 600 kg water during epacme), root yield of sugarbeet increased by 29.5% and sugar content increased by 2.0°S in comparison with the control treatment, showing a difference at significant level.

Key words: Sugarbeet; Rare- earth; Application effect

(上接 29 页)

Studies on the Rooting Culture in Plantlets of *Stevia rebaudiana* Bertoni Stem Apex and Transplanting

DONG Zhen-hong¹, WANG Gui-min¹, WANG Yan-chao¹, HAO Zai-bin²

(1 Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2 Guilin University of Technology, Guilin 541004, China)

Abstract: The research was carried out using the tender stem apex of *Stevia rebaudiana* Bertoni as explants and MS medium as the basic medium. Poly shoots can be induced from the explants that were cultured on the basic medium supplemented with 6-BA 1.0 mg/L + Sucrose 30 g/L + Agar 6g/L, which gave a regeneration frequency of 100% if were not infected with germs. The developed medium was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L + Sucrose 30 g/L+Agar 6 g/L. We can obtain nearly 14-15 times poly shoots after it was cultured in the developed medium 30 days. The best rooting medium is 1/4MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L + Sucrose 30 g/L + Agar 6 g/L + active carbon 1 g/L, the rootage rate reached up to 100%. The test-tube plantlets needed to be trained two days by opening the lid. After transplanting the survival percentage was up to 95%.

Key words: *Stevia rebaudiana* Bertoni; Tissue Culture; Rooting; Transplanting