

菝葜组织培养研究

郭永庆, 王奎玲*, 刘庆华, 刘庆超 (青岛农业大学环境艺术学院, 山东青岛 266109)

摘要 [目的]更好地开发利用菝葜。[方法]以菝葜幼嫩茎段为外植体,以MS、1/2 MS、1/4 MS为基本培养基,研究不同植物激素组合对菝葜组织培养快速繁殖的影响。[结果]外植体的最佳消毒方式为0.1%升汞消毒9 min。1/2 MS、1/4 MS培养基更有利于菝葜芽的诱导、增殖及生根,6-BA对芽丛的增殖培养具有关键作用。最佳启动培养基为1/2 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L。最佳增殖培养基为1/2 MS+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L。最佳生根培养基为1/4 MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 1.5 mg/L+活性炭1 000 mg/L,生根率最高,达75%。[结论]该研究建立了菝葜的组织培养繁殖体系,增加了菝葜的繁殖系数。

关键词 菝葜;组织培养;植物激素;外植体

中图分类号 S722.3⁺7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)13-05295-02

Study on the Technology of Tissue Culture on *Smilax china* L.

GUO Yong-qing et al (College of Landscape Architecture and Art, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract [Objective] The aim of the research was to develop and utilize *Smilax china* L. better. [Method] With tender stems of *S. china*, MS, 1/2 MS and 1/4 MS were taken as basic medium to study the effects of different plant hormone combinations on the tissue culture and rapid propagation of *S. china*. [Result] The optimum disinfection method of explants was disinfecting with 0.1% mercuric chloride for 9 min. Medium 1/2 MS and 1/4 MS were more favorable for the bud induction, propagation and rooting of *S. china*. 6-BA played a key effect on the propagation culture of bud clumping. The optimum initial medium was 1/2 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L. The optimum propagation medium was 1/2 MS+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L. The optimum rooting medium was 1/4 MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 1.5 mg/L+activated carbon 1 000 mg/L, with the rooting rate being highest (75%). [Conclusion] The tissue culture and propagation system was established and the propagation coefficient of *S. china* was increased in this research.

Key words *Smilax china* L.; Tissue culture; Plant hormone; Explant

菝葜(*Smilax china* L.)又名金刚果,为菝葜科(Smilacaceae)菝葜属(*Smilax* L.)攀援灌木^[1-2]。菝葜主要靠自然分蘖或实生繁殖,但分蘖能力及种子发芽率低,扦插和嫁接较难成活^[3],为了更好的开发利用这一野生资源,笔者对菝葜的组织培养技术进行初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料 菝葜外植体来自青岛崂山,以MS、1/2 MS、1/4 MS为基本培养基,添加不同配比植物激素。pH值5.7。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒。取菝葜当年生幼嫩茎段,剪去叶片,剪成3 cm左右,每段带1个芽,用洗涤剂浸泡15 min,再用流水冲洗20 min左右。在超净工作台上用70%的酒精浸泡15 s,然后用0.1%的升汞消毒,采用4个不同的时间处理,分别为5、7、9、11 min。

1.2.2 芽的诱导及增殖培养。将消毒好的菝葜外植体用无菌水冲洗6次,然后接种到诱导培养基(A₁~A₁₀)上,40 d后统计诱导率。将启动培养基中新长出的菝葜嫩梢切成带有芽的茎段,长度大约3 cm左右,然后接种到增殖培养基(B₁~B₁₀)上。40 d后统计出芽率、褐化率、增殖率。

1.2.3 再生植株的生根诱导。菝葜增殖培养40 d后,选取长势较好的芽丛进行生根诱导,接种到生根培养基(C₁~C₆)上。生根时选用低浓度盐分的1/2 MS、1/4 MS为基本培养基,以IBA、NAA和活性炭为添加调节剂。40 d后对生根情况进行调查。

2 结果与分析

2.1 外植体最佳消毒时间的确定 由表1可以看出,外植

体的最佳消毒时间为9 min,此时的污染率最低,成活率最高。

表1 不同消毒时间对外植体成活的影响

Table 1 The effect of different disinfection time on survival rate of explants

时间 Time min	总瓶数 Total flasks 个	污染瓶数 Contaminated flasks 个	成活率 Survival rate %
5	15	12	20
7	15	6	60
9	15	4	73.3
11	15	11	26.6

2.2 启动培养 菝葜茎段接种10 d左右即有部分腋芽萌动,20 d后除A₂处理外均有芽发生萌动。由表2得知,A₆(1/2 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L)为最佳处理,35 d后有叶片生成,40 d后该培养基的新梢长度最大,而且长势最好。

表2 不同培养基对菝葜茎芽的影响

Table 2 Effects of different medium on the stem bud of *Smilax china* L.

序号 No.	培养基 Basic medium	接种数			诱导数 诱导率		
		6-BA mg/L	IBA mg/L	NAA mg/L	No. of inoculation 个	No. of induction -ction 个	Induction rate %
A ₁	MS	2	0.1	0	18	2	11.1
A ₂	MS	2	0	0.1	18	0	0
A ₃	MS	2	0.1	0.1	18	6	33.3
A ₄	MS	2	0.2	0.2	18	6	33.3
A ₅	MS	2	0.2	0	18	2	11.1
A ₆	1/2 MS	2	0.1	0	18	8	44.4
A ₇	1/2 MS	2	0	0.1	18	6	33.3
A ₈	1/2 MS	2	0.1	0.2	18	11	61.1
A ₉	1/2 MS	2	0.2	0.2	18	7	38.9
A ₁₀	1/2 MS	2	0.2	0	18	6	33.3

基金项目 山东省农业良种工程重大项目(鲁科农字[2005]99号)。

作者简介 郭永庆(1982-),男,山东菏泽人,硕士研究生,研究方向:园林植物种质资源创新与利用。*通讯作者。

收稿日期 2008-03-03

2.3 芽丛增殖培养 由表3可以看出,不同盐分含量的基本培养基对菝葜芽丛的增殖影响很大。在高浓度盐分的MS培养基中,褐化程度较高,出芽率较低,这说明茎节对培养基中的盐分非常敏感,低浓度盐分的1/2 MS培养基对芽丛增殖更为有利。6-BA对芽丛的增殖培养具有关键作用,当6-BA浓度为3 mg/L时菝葜芽丛的增殖率较高,此时出芽率较高,褐化率较低。1/2 MS+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L和1/2 MS+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L较有利于芽丛的增殖,但后者发芽率稍高,这与相关研究结果基本相同^[4]。

表3 不同培养基对菝葜芽丛增殖的影响

Table 3 Effect of different media on the bud cluster proliferation of *Smilax china* L.

序号 No.	培养基 Basic medium	6-BA mg/L	IBA mg/L	NAA mg/L	出芽率 Budding percentage %	褐化率 Browning rate %	芽增殖率 Bud proliferation rate//%
B ₁	MS	2	0.1	0.1	21.2	42.0	34.0
B ₂	MS	2	0	0.2	16.7	56.4	36.1
B ₃	MS	3	0.1	0.1	24.6	35.5	72.3
B ₄	MS	4	0.2	0.2	36.3	23.0	86.2
B ₅	MS	3	0.2	0.2	33.6	18.2	78.4
B ₆	1/2 MS	4	0	0.2	56.3	33.6	105.6
B ₇	1/2 MS	3	0	0.2	62.1	26.4	94.4
B ₈	1/2 MS	2	0.1	0.1	46.2	35.6	98.6
B ₉	1/2 MS	3	0.2	0	63.2	24.3	126.4
B ₁₀	1/2 MS	3	0.2	0.2	61.5	21.3	131.2

2.4 根的诱导 试验结果表明,1/2 MS培养基的生根效果不如1/4 MS基本培养基。在15 d左右,没有添加活性炭的培养基中的叶片出现褐化,而且茎叶生长很慢,生根率也不高,在40 d左右,没有添加活性炭的培养基中的根生长速度很慢,而且长势不好,根不够粗壮。从表4可以看出,C₇处理生根率最高达到了75%,因此1/4 MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 1.5 mg/L+活性炭1 000 mg/L为最佳生根培养基。

3 讨论

(1)菝葜播种繁殖率较低,扦插生根困难,为更好的利用野生资源,探索了采用组织培养法增加繁殖系数的可行性。在预试验中多次采用次氯酸钠对外植体消毒,但效果较差。

(上接第5262页)

异程度相当于最大可能变异程度的百分率。一个是彼此比较,一个是与最大熵比较,混杂指数的比较功能具两重性。由此看来,混杂指数不仅计算简单,也便于理解。至于它的指标口径如何制定,还有待进一步探讨。

参考文献

- [1] 汪小龙,袁志发,郭满才,等.最大信息熵原理与群体遗传平衡[J].遗传学报,2002,29(6):562-564.
- [2] 郭满才,解小莉,刘建军,等.复等位基因平衡群体熵的性质[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2002,30(4):119-122.
- [3] 张宏礼,张鸿雁.关于最大信息熵原理与群体遗传平衡一致性的探讨[J].遗传,2006,28(3):324-328.
- [4] 张鸿雁,张宏礼,郭满才,等.不同交配方式下遗传平衡的信息学分析[J].浙江大学学报:农业与生命科学版,2006,32(5):515-519.

表4 不同培养基对菝葜的生根影响

Table 4 Effect of different hormone combinations on the rooting of *Smilax china* L.

序号 No.	培养基 Basic medium	IBA mg/L	NAA mg/L	活性炭 Active carbon mg/L	生根苗数 Routed seedlings 株	生根率 Rooting rate %
C ₁	1/2 MS	0	0.5	1 000	5	41.7
C ₂	1/2 MS	0.1	1.0	0	4	33.3
C ₃	1/2 MS	0	1.5	1 000	7	58.3
C ₄	1/2 MS	0.1	2.0	1 000	7	58.3
C ₅	1/4 MS	0.1	0.5	1 000	6	50.0
C ₆	1/4 MS	0	1.0	0	5	41.7
C ₇	1/4 MS	0.1	1.5	1 000	9	75.0
C ₈	1/4 MS	0	2.0	1 000	8	66.7

因此,试验采用升汞对菝葜茎段进行消毒,结果表明,以0.1%升汞对菝葜茎段消毒9 min效果最好,污染率最低。

(2)MS是木本植物组织培养中最常用的培养基,但MS培养基的无机盐和离子浓度较高,尤其硝酸盐含量较其他培养基高,这对组织培养有一定的影响^[4]。试验结果表明,1/2 MS及1/4 MS培养基更有利于菝葜芽的诱导、增殖以及生根。

(3)激素对菝葜不定芽的诱导和增殖培养具有显著影响,其中尤以6-BA的作用更为显著,这与百合科其他植物组织培养相似^[5]。在生根诱导培养过程中,活性炭有效地降低了基质中酚酸和醌类物质的含量,降低了褐化率。通过大量试验,建立了菝葜组织培养繁殖体系:最佳启动培养基为1/2 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L;最佳增殖培养基为1/2 MS+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L;最佳生根培养基为1/4 MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 1.5 mg/L+活性炭1 000 mg/L。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,2007.
- [2] 李法曾.山东植物精要[M].北京:科学出版社,2004:140.
- [3] 孙昌高,方坚.百合科药用植物种子发芽的研究[J].中草药,2000,13(2):127-129.
- [4] 刘永捷,黄成名.托柄菝葜组织培养技术研究[J].林业科技开发,2006(3):45-48.
- [5] 王磊,李红双,蔺娜.悬铃木叶片再生体系的建立[J].林业科学,2004,40(1):58-63.
- [6] NICOLAE D L. Quantifying the Amount of Missing Information in Genetic Association Studies[J].Genetic Epidemiology, 2006(30):703-717.
- [7] 李大林,陈奇,韦文惠,等.多对独立杂合基因自交群体F₁到F_n基因型熵的变化规律[J].遗传,2007,29(8):1027-1032.
- [8] 陈奇,韦文惠,李大林.基因在分离重组中的熵增与制约[J].上海交通大学学报:农业科学版,2007(1):71-75.
- [9] 奥野忠一.实验设计方法[M].北京:机械工业出版社,1985:8.
- [10] 陈奇,韦文惠.热力学第二定律与遗传机理的量化分析[J].广西农业生物科学,2006(1):72-77.
- [11] 陈奇,韦文惠,李大林.论植物群体遗传中的熵减机制[J].沈阳农业大学学报,2006(6):890-892.
- [12] 耿素云.离散数学[M].北京:高等教育出版社,2002:166.
- [13] 张鸿雁,张宏礼.近交群体配子间的信息学性质[J].中国农学通报,2006,22(7):135-138.
- [14] 陈奇,李大林,符保龙,等.2对连锁杂合基因在分离重组中的熵变规律[J].安徽农业科学,2007,35(23):7119-7121.
- [15] 林鸿洲.新编统计学原理[M].北京:高等教育出版社,1999:109-110.