

# 野葛的茎尖组织培养与植株再生

洪森荣, 尹明华 (江西上饶师范学院生命科学系, 江西上饶 334001)

**摘要** 对野葛的茎尖培养及植株再生进行了研究。结果表明:野葛茎尖培养的最适大小为 0.3 mm;最适分化培养基为 MS+6-BA 2 mg/L+NAA 1 mg/L;最适生根培养基为 MS+NAA 0.5 mg/L+PP<sub>333</sub> 0.5 mg/L。

**关键词** 野葛;茎尖;组织培养;植株再生

中图分类号 Q944.6 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)11-03172-01

## Shoot-tip Culture and Plantlet Regeneration of *Pueraria lobata*

HONG Sen-rong et al (Shangrao Normal College, Shangrao, Jiangxi 334001)

**Abstract** Shoot-tip culture and plantlet regeneration of *Pueraria lobata* were studied. The result showed that the most suitable shoot-tip size of *Pueraria lobata* was 0.3 mm. And the optimal differentiation medium and rooting medium were MS+6-BA 2 mg/L+NAA 1 mg/L and MS+NAA 0.5 mg/L+PP<sub>333</sub> 0.5 mg/L, respectively.

**Key words** *Pueraria lobata*; Shoot-tip; Tissue culture; Plantlet regeneration

野葛 (*Pueraria lobata*) 为豆科葛属多年生落叶藤本植物。江西是长江中下游地区葛资源的主要分布地区,主产于江西上饶横峰县等地<sup>[1]</sup>,药食兼优。目前,国内外已成功地将茎尖培养脱毒技术应用于地黄<sup>[2]</sup>等作物上,达到了去除病毒、增产改良品质的目的。为解决野葛生产中品质下降的问题,笔者开展了野葛脱毒苗培养技术的研究工作。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 继代培养的野葛无菌苗。

**1.2 方法** 在解剖镜下直接剥取野葛无菌苗的茎尖,大小分别为 0.1、0.3、0.5 mm。将切下的茎尖迅速接种到培养基上。茎尖分化成苗培养基为:①MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L;②MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.5 mg/L;③MS+6-BA 1 mg/L+NAA 1 mg/L;④MS+6-BA 1 mg/L+NAA 2 mg/L;⑤MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L;⑥MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L;

⑦MS+6-BA 2 mg/L+NAA 1 mg/L;⑧MS+6-BA 2 mg/L+NAA 2 mg/L。再生苗生根培养基为:①MS;②MS+NAA 0.1 mg/L;③MS+NAA 0.5 mg/L;④MS+NAA 1 mg/L;⑤MS+NAA 2 mg/L;⑥MS+NAA 0.5 mg/L+PP<sub>333</sub> 0.1 mg/L;⑦MS+NAA 0.5 mg/L+PP<sub>333</sub> 0.5 mg/L;⑧MS+NAA 0.5 mg/L+PP<sub>333</sub> 1 mg/L。以上培养基均附加 3.0% 的蔗糖和 0.5% 的琼脂。培养温度为 (25±2)℃,光照时数为 14 h/d,光照强度为 1 500~2 000 lx。接种后定期观察并统计分化和成苗情况。均为单因子试验,重复 3 次。试验结果应用 SPSS10.0 统计软件进行法数据分析。

### 2 结果与分析

**2.1 6-BA 与 NAA 浓度以及茎尖长度对野葛茎尖分化成苗率的影响**(表 1) 从表 1 可以看出,茎尖长为 0.3 mm 时即可达到脱除病毒的效果。野葛茎尖的最佳分化成苗培养基为:MS+6-BA 2 mg/L+NAA 1 mg/L。

表 1 6-BA 与 NAA 浓度以及茎尖长度对野葛茎尖分化成苗率的影响

培养基序号	茎尖长度//mm						%
	0.1		0.3		0.5		
	分化率	成苗率	分化率	成苗率	分化率	成苗率	
1(CK)	46.8±2.2	31.4±4.2	78.6±1.6	49.8±2.8	79.6±5.2	74.2±5.1	
2	52.7±4.3**	32.2±2.0	79.8±2.6	52.7±2.5*	82.3±5.0*	75.6±2.6	
3	58.3±3.3**	36.3±3.3**	83.4±2.8*	59.8±3.6**	85.0±5.6**	79.8±3.4*	
4	39.8±4.4**	33.2±4.6*	82.6±3.6*	25.1±3.9**	78.5±4.2	53.4±5.3**	
5	58.4±5.6**	30.3±3.6	84.3±4.1*	59.4±3.4**	100**	76.2±5.2	
6	59.9±2.7**	31.6±4.5	89.6±4.3**	60.1±4.6**	100**	75.3±3.9	
7	65.8±4.2**	36.4±5.2**	100**	65.3±4.3**	100**	84.2±3.7**	
8	45.4±2.3	29.6±3.9	86.3±3.6**	46.8±5.1*	83.4±4.8*	50.0±2.9**	

注:\*和\*\*分别表示在 0.05 和 0.01 水平上有差异。下表同。

### 2.2 PP<sub>333</sub> 与 NAA 浓度对野葛茎尖再生苗生根的影响

(表 2) 由表 2 可知,野葛茎尖苗的最佳生根培养基为:MS+NAA 0.5 mg/L+PP<sub>333</sub> 0.5 mg/L。

### 3 结论与讨论

茎尖培养之所以能脱毒,是由于病毒侵染植株后,主要通过胞间连丝转移到其他细胞中,或依靠筛管进行转移。茎尖的分生组织中没有维管束存在故很少带病毒。在野葛茎尖组织培养和植株再生的研究中,茎尖长度越大,分化成苗

表 2 PP<sub>333</sub> 与 NAA 浓度对野葛茎尖再生苗生根的影响

培养基序号	平均根数//条	平均根长//cm	生根率//%
1(CK)	6.20±2.34	1.12±0.54	68.6±6.5
2	8.06±1.96**	1.52±0.65*	84.3±7.4**
3	9.63±2.64**	1.78±0.98**	100**
4	7.42±3.21*	1.38±0.47*	100**
5	8.20±2.64**	1.74±0.64**	86.6±4.8**
6	9.51±3.24**	1.82±0.86**	100**
7	12.20±4.35**	1.96±0.32**	100**
8	10.60±3.61**	1.64±0.69**	100**

率越高,但为了取得较好的脱毒效果,茎尖长度越小越好。所以综合考虑认为,在进行野葛茎尖培养时还是以 0.3 mm 长的茎尖为佳。细胞分裂素普遍存在于高等植物体内,有促进细胞分裂、诱导芽的分化等作用。马瑞霞等对芦荟茎尖

基金项目 上饶师范学院 2006-2007 科技项目。

作者简介 洪森荣(1974-),男,江西永新人,讲师,从事植物生物技术方面的教学与科研工作。

收稿日期 2007-01-09

(下转第 3174 页)

外植体影响很大,且材料特异性很强,这主要受材料的生物学特性的影响。该试验对 3 个培养温度范围进行了研究。试验结果表明:温度对南果梨茎尖的诱导有明显的影。在一定的温度范围内诱导率随着温度的升高而增加( $23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ~ $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ),而超过这一范围温度再升高诱导率反而下降。试验结果表明:适宜的培养温度为  $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

表 3 不同温度对茎尖诱导的影响

温度	茎尖再生率//%
$23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	55
$25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	80
$27\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	50

**2.1.3 不同光照强度对茎尖诱导的影响(表 4)。**试验结果表明,在自然光照下,茎尖诱导率和生长量均较低,2 指标随着光照强度的增加而呈上升趋势。在光照为 2 000 lx 时,其茎尖诱导率和茎尖生长量为最高值,这表明南果梨离体培养要求高光强。

表 4 不同光照强度对茎尖诱导的影响

光照强度//lx	30 d 后茎尖生长量//cm	茎尖诱导率//%
自然光	2.5	55
1 000	2.8	62
2 000	3.4	79

**2.2 不同激素浓度对比对南果梨茎尖增殖的影响** 图 1 表明:随着 6-BA 浓度的增加,茎尖的增殖系数呈上升趋势,同时对 6-BA 与 NAA 的比值有一定的要求。从试验结果来看,在不同 6-BA 浓度下以 6-BA/NAA 的比值为 10 时茎尖的增殖系数最高;在 6-BA 浓度为 2.0 mg/L 时随着 6-BA/NAA 比值的降低茎尖增殖系数变化不显著。在每一浓度梯度内 6-BA/NAA 的值过大过小均得不到最高的分化率。结果可看出,南果梨茎尖的诱导对细胞分裂素和生长素的浓度及其配比有一定的要求。该试验所选用的培养基中以 6-BA 4.0 mg/L、NAA 0.4 mg/L 为最佳增殖培养基。

### 3 讨论

**3.1** 虽然大多数经组织培养的植物材料在温度 20~27  $^{\circ}\text{C}$  条件下生长良好,但相对于自然生长的植株来说它对温度要求是严格的。该试验所设计的 3 个温度范围中,以  $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  为最适生长温度,温度过高或过低均不利于南果梨茎尖的离体生长。这可能是由于温度过高或过低都会影响某些酶的活性,改变原生质结构状态,打破生理代谢平衡,所以

(上接第 3172 页)

养的研究中认为,浓度为 2 mg/L 的 6-BA 可以有效地促进芦荟茎尖的分化<sup>[9]</sup>。该研究也表明,2 mg/L 的 6-BA 对野葛的茎尖培养起到较大的促进作用。生长素是植物生长发育必不可少的一类物质,它能促进生长点细胞的分裂和非生长点细胞的伸长,诱导根原基的发生和根系的生成。符文英等在对海南粗榧愈伤组织的诱导的研究中发现,NAA 的添加有利于海南粗榧愈伤组织的生成,不利于茎尖成苗<sup>[9]</sup>。而在该试验中,NAA 的使用(特别与 6-BA 的组合使用)可以促进野葛茎尖的分化成苗,这可能与植物基因型有关。PP<sub>333</sub> 是一种高效低毒的植物生长延缓剂,现已应用于植物的组织培养领域,并取得了明显的效果,对提高植物的抗逆性,促

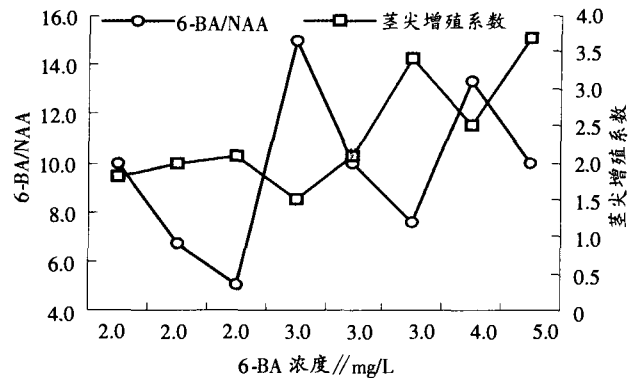


图 1 不同激素浓度对比对茎尖增殖的影响

不利于茎尖生长。在最适温度,茎尖从培养基中吸收营养物质较快,各种酶活性高,代谢强,生长旺盛,增值系数高。

**3.2** 很多植物发育与季节的变化有密切关系,结果这种季节的影响也反映在组织培养的再生特性上<sup>[2]</sup>。特别是植物在生长发育的整个过程中受到内源激素的调控,这也影响到了组织培养中材料的增殖。内源激素随植物的生长时期而变化。因此,在进行器官分化及再生试验或试图利用组培这一技术加速植物繁殖时,必须考虑到组织来源的器官的类型、培养组织的大小、器官的生理或个体发育年龄,以及取材的季节等。就取材的季节而言,它影响材料的激素水平,进而影响组培的质量。

**3.3** 组织培养中合适的激素配比是非常重要的,它关系到试验的成败与否。在芽增殖的培养基中,细胞分裂素是必不可少的,而且以 6-BA 对芽的大量增殖最为有效。生长素在大多数情况下用 NAA 或 IAA,但浓度不易过高;有时还加进低浓度的 GA,以促进芽的分化。细胞分裂素/生长素的比例高时,有利于芽分化;比例低时,有利于根的分化;在两者比例适当时,则利于愈伤组织的形成。因此要根据培养的目的来选择细胞分裂素/生长素的比例。该试验选用 6-BA、NAA 的浓度分别为 4.0 mg/L 和 0.4 mg/L,比值为 10,取得了较好的分生效果。

### 参考文献

- [1] 许智宏.植物生物技术[M].上海:上海科技出版社,1998.
- [2] 陈正华.木本植物组织培养及其应用[M].北京:高等教育出版社,1986.

进壮苗生根等都有重要作用。该试验表明,一定浓度的 PP<sub>333</sub> 在野葛茎尖苗的生根方面具有重要作用,这与朱道圩等人将 PP<sub>333</sub> 运用到大花高代组培苗上的试验结果一致<sup>[9]</sup>。

### 参考文献

- [1] 邹宽生.江西葛资源的利用及栽培技术[J].福建林业科技,2004,31(3):110-112.
- [2] 薛建平,张爱民,李明军,等.怀地黄茎尖培养和植株再生技术的研究[J].新乡医学院学报,2000,17(1):18-20.
- [3] 马瑞霞,张坤朋,路志芳.芦荟茎尖离体培养与快繁技术研究[J].安徽农业科学,2004,32(6):1173-1277.
- [4] 符文英,杜道林,符木均,等.海南粗榧愈伤组织的诱导和培养[J].植物生理学通讯,2004,40(1):34-55.
- [5] 朱道圩,张会丽,王锦,等.多效唑对大花高代组培苗生长的效应[J].植物生理学通讯,2006,42(2):232-234.