

东南景天的组织培养和快速繁殖

刘勇军, 冯英, 杨肖娥*

浙江大学环境与资源学院, 污染环境修复与生态健康教育部重点实验室, 杭州 310029

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Sedum alfredii* Hance

LIU Yong-Jun, FENG Ying, YANG Xiao-E*

Ministry of Education Key Laboratory of Polluted Environmental Remediation and Ecological Health, College of Environmental and Resources Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

1 植物名称 东南景天(*Sedum alfredii* Hance)。

2 材料类别 幼嫩叶片。

3 培养条件 基本培养基为 MS。(1)愈伤组织诱导培养基: MS+6-BA 0.1 mg·L⁻¹ (单位下同)+2,4-D 1.0~3.0; (2)愈伤组织继代培养基: MS+6-BA 0.1+2,4-D 1.0+VC 2.0+1.0 g·L⁻¹ 活性炭; (3)分化培养基: MS+6-BA 2.0+2,4-D 1.0+AgNO₃ 2.0; (4)壮苗培养基: MS+6-BA 0.1+GA₃ 2.0; (5)生根培养基: 1/3MS+NAA 1.0。以上培养基中均加入 12 g·L⁻¹ 琼脂、30 g·L⁻¹ 蔗糖, pH 5.6~5.8, 在智能型光照培养箱(MGC-300B 型, 上海一恒科技有限公司)内培养。光照时间 16 h·d⁻¹, 光照强度为 40~60 μmol·m⁻²·s⁻¹, 培养温度为(25±1) °C。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 取东南景天幼叶作为外植体, 经流水冲洗 20 min 后, 用 75% 的乙醇浸泡杀菌 60 s, 再置于 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 5 min, 用无菌水冲洗 4~5 次后, 将其平放在高压灭菌过的滤纸上, 用无菌手术刀将叶片切成 0.5 cm×0.5 cm 小块, 然后接入培养基(1)上。

4.2 愈伤组织的诱导与继代培养 14 d 后, 切口边缘开始形成白色颗粒状的愈伤组织。继续培养 14 d 后, 整个切口表面密集生长迅速的愈伤组织颗粒, 诱导率可达到 49.5%。将愈伤组织转移到培养基(2)进行继代培养。每 20 d 继代 1 次, 继代 2 次后, 可得到蓬松的愈伤组织。

4.3 芽的分化 选取生长迅速、表面湿润的愈伤组织接种于培养基(3)中, 14 d 后可见有绿色芽点萌动, 30 d 后愈伤组织表面形成许多的绿色芽点, 再继续培养 21 d 可形成许多丛生芽头。分化率可达到 50% 以上, 平均分化丛生芽 7~8 个。

4.4 壮苗培养 在超净工作台上, 用镊子选取簇生芽中较大的芽头, 转接到培养基(4)上, 30 d 左右可长成 3~4 cm 高的东南景天无根苗。

4.5 生根与移栽 在培养基(5)上培养 14 d 左右, 从芽头基部切口处产生 2~3 条根, 每苗生根 6~9 条, 生根率 100%, 根长达 1 cm 左右, 可进行移栽。移栽前, 先打开瓶塞, 置于室温下锻炼 2 d, 洗去根部的琼脂, 移入事先消过毒的珍珠岩中, 置于人工气候室内, 温度控制在(25±1) °C, 湿度在 70% 左右, 光照时间 14 h·d⁻¹, 光照强度 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹。20 d 后, 移栽入大田, 成活率可达 85% 以上。

5 意义与进展 东南景天属景天科景天属多年生草本植物, 可以无性繁殖, 有许多分枝, 花黄色, 生命力较强, 广泛分布于我国华中、华南和华东地区, 是我国新发现的一种镉/锌超积累与铅富集植物, 具有生物量大、适应性广、多年生和一年内可多次收割等优点, 在重金属污染环境的植物修复中有广泛的应用价值。与东南景天同属的八宝景天(*Sedum spectabile*)组培与快繁技术已有报道, 而作为野生植物的东南景天, 其组培与快繁技术尚未见报道。本文采用东南景天叶片为外植体, 诱导愈伤组织并再生完整植株, 为东南景天的快速繁殖及种质资源保存开拓了新途径, 为进一步建立东南景天转基因技术体系奠定了基础。

收稿 2007-03-05 修定 2007-05-15

资助 污染环境修复与生态健康教育部重点实验室开放基金(050004)和浙江省教育厅一般项目(20050929)。

* 通讯作者(E-mail: xyang@zju.edu.cn; Tel: 0571-86971907)。