

八宝景天的组织培养与快速繁殖

张晓艳¹, 程云清²

(1. 吉林师范大学 环境工程学院; 吉林 四平 136000; 2. 吉林师范大学 生命科学学院 吉林 四平 136000)

摘要:本研究以为大叶红景天叶片为外植体,研究了影响愈伤诱导、芽诱导、生根的主要因素.结果表明:八宝景天叶片切块诱导愈伤组织的最佳培养基为 MS+6-BA2 mg/L+NAA1.0 mg/L,诱导率达 93.3%;附加 2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA 的 MS 培养基有利于芽的分化和增殖,每个外植体分化形成的再生小植株数可达到 22.4 个;在 1/2MS+IBA1.0 mg/L 的培养基中 100% 生根,且根系发达.

关键词:大叶红景天;组织培养;叶片

中图分类号:Q945.79 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-1840-(2007)02-0060-03

八宝景天(*Sedum spectabile boreau*)是一种具有较高经济价值与开发前景的观赏植物,以扦插繁殖为主^[1],其组织培养尚未见报道.本研究以八宝景天叶片为外植体,对影响八宝景天愈伤组织诱导、芽诱导及生根条件进行了探讨,为八宝景天的快速繁殖提供依据,对此种植物大面积推广有一定的参考价值.

1 材料和方法

1.1 试验材料

2005年2月取自黑龙江省森林植物园八宝景天两年生苗移栽于吉林师范大学生命科学学院植物标本园中,3月芽体开始萌动,5月取小苗顶端幼嫩叶片为供试材料.

1.2 试验方法

(1)材料消毒处理.将八宝景天叶片剪下,在流水下冲洗 1 h,在无菌工作台上,用体积分数为 70% 的酒精浸泡 30 s,质量分数为 0.1% 的升汞溶液浸泡 20 min,无菌水冲洗 5 次.

(2)愈伤组织诱导.用消毒滤纸吸干消毒后叶片表面水分,以 MS 为基本培养基,添加不同浓度植物生长调节剂进行愈伤组织诱导培养,每处理 10 瓶,每瓶接 6 个外植体,接种第 30 天,统计实验结果.

(3)不定芽诱导与增殖.将绿色颗粒状愈伤组织切成 0.3 cm × 0.5 cm 的小块转接到附加不同浓度生长调节剂的 MS 培养基上进行不定芽诱导,每处理 10 瓶,每瓶接 6 个外植体.待诱导出的不定芽长

至 2~3 cm,切下接入增殖培养基中进行培养,接种后 40 天统计实验结果.

(4)生根培养.将增殖培养所得的 2 cm 以上的健壮苗切割下来,转入添加不同浓度的 IBA 生根培养基中,进行生根培养,基本培养基选用 1/2 MS.

(5)培养条件.以上培养基 pH 值均为 5.8,琼脂 7 g/L,蔗糖 25 g/L,在 1.2 kg/cm² 压力下灭菌 20 min.接种后置于培养温度 22 ± 2 °C,光照强度为 1 000~1 500 lx,每天光照 8 h 的 GXZ-160 型智能光照培养箱(北京北方科仪)中培养.

2 结果与分析

2.1 不同植物生长调节剂组合的培养基对愈伤组织诱导的影响

不同植物生长调节剂激素组合的培养基对八宝景天愈伤组织诱导率有明显影响.八宝景天叶片切块接种在含有 6-BA 和 NAA 的 MS 培养基后,1 周后整体膨大,2~3 周后从叶片外植体产生大量疏松浅黄色或淡绿色愈伤组织.由表 1 可见,愈伤组织诱导率与 6-BA 浓度关系十分密切,在 6-BA 的浓度达到 2.0 mg·L⁻¹ 以前,愈伤组织诱导率随着 6-BA 浓度的增加而上升,此后,浓度继续增加则愈伤组织诱导率有所下降.在 6-BA 的浓度为 2.0 mg·L⁻¹ 的三个处理中,以培养基 MS+6-BA2.0 mg·L⁻¹ (单位下同)+NAA1.0 的愈伤组织诱导率最高,达到 93.3%,且愈伤组织生长旺盛.在 MS+6-BA0.5+

NAA0 和 MS + 6BA0.5 + NAA1.0 培养基诱导产生的愈伤组织生长十分缓慢,形成的愈伤组织逐渐褐化。综上所述,不同激素组合的培养基对八宝景天叶片外植体的愈伤组织率有十分明显的影响,添加 6—BA2.0 和 NAA1.0 的 MS 对叶片愈伤组织的诱导最为有效。

表 1 培养基对诱导八宝景天愈伤组织的影响

培养基	6—BA (mg·L ⁻¹)	NAA (mg·L ⁻¹)	外植体 数目	愈伤 组织数	诱导率 (%)
MS	0.5	0	60	12	20.0
MS	0.5	0.5	60	31	51.7
MS	0.5	1.0	60	24	40.0
MS	1.0	0	60	41	68.3
MS	1.0	0.5	60	32	53.3
MS	1.0	1.0	60	44	73.3
MS	2.0	0	60	47	78.3
MS	2.0	0.5	60	54	90.0
MS	2.0	1.0	60	56	93.3
MS	4.0	0	60	45	75.0
MS	4.0	0.5	60	55	91.7
MS	4.0	1.0	60	48	80.0

2.2 不同植物激素组合的培养基对愈伤出芽率的影响

当愈伤组织长至大约 1 cm 时转入到不同的芽分化培养基上进行芽诱导,两周内愈伤组织体积显著增大,4~5 周后形成丛生不定芽。由表 2 可见,6—BA 对出芽率的影响十分关键,在 6—BA 的浓度达到 2.0 mg·L⁻¹ 以前,出芽率随着 6—BA 浓度的增加而上升,此后,浓度继续增加则愈伤组织诱导率有所下降。在 6—BA 的浓度为 2.0 mg·L⁻¹ 的三个处理中,出芽率均达到 100%,从平均每个外植体出芽数来看,以 6—BA2.0 + NAA0.1 的组合最佳,该种组合平均每个外植体出芽数达到 22.4 个,远高于其它处理,其芽体生长十分旺盛。因此,附加 2.0 mg/L 6—BA 和 0.1 mg/L NAA 的 MS 培养基作为八宝景天诱芽培养基是较为适宜的。

表 2 八宝景天愈伤组织在不同培养基的出芽率

培养基	6—BA	NAA	外植体 数目	出芽率 (%)	平均每个外 植体出芽数
MS	0.5	0	60	51.7	4.2
MS	0.5	0.1	60	45.0	3.7
MS	0.5	0.2	60	71.7	7.6
MS	1.0	0	60	80.0	11.2
MS	1.0	0.1	60	85.0	11.4
MS	1.0	0.2	60	70.0	7.2
MS	2.0	0	60	100.0	16.9
MS	2.0	0.1	60	100.0	22.4
MS	2.0	0.2	60	100.0	17.3
MS	4.0	0	60	90.0	14.7
MS	4.0	0.1	60	100.0	9.7
MS	4.0	0.2	60	78.3	6.4

2.3 继代培养

将培养中带愈伤组织的丛芽分割接种到 MS + 6—BA2 + NAA0.1 上,芽开始增殖,每 60~70d 继代 1 次,增殖 4~6 倍。分生的芽逐渐形成独立小植株,部分长出幼根,但极细弱。

2.4 生根培养及移栽

继代培养可获得大量的增殖苗,将一部分增殖苗转入 IBA 分别为 0、0.2、1.0 和 5.0 mg·L⁻¹ 的 1/2 MS 生根培养基中进行生根培养。由表 3 可见,IBA 浓度与试管苗的生根率、平均每个植株根的数目及平均根长度关系密切。在培养基 1/2 MS + IBA1.0 中 20 d 左右试管苗 100% 生根,平均每个植株根的条数可达到 7.2 条,平均根长度达到 3.9 cm,远高于其它处理对应指标。生根苗 40 d 后转入 MS 培养基中壮苗,30 d 后幼苗根系发达,植株健壮。出瓶前先将打开瓶盖,在实验室散射光下炼苗 2~3 d。移栽前,先将幼苗根部的琼脂用清水洗净,然后移入塑料杯中,上部用塑料薄膜遮荫保湿,5 d 后除掉薄膜,15 d 后成活率达 95%,一个月后苗高度可达到 8~10 cm。

表 3 不同吲哚丁酸浓度对诱导八宝景天试管苗生根的影响

培养基	植物生长 调节剂	外植体 数目	生根率 (%)	平均根 条数/cm	平均根 长度
1/2MS	IBA 0	60	71.6	3.6	1.6
1/2MS	IBA 0.2	60	100.0	4.6	2.8
1/2MS	IBA 1.0	60	100.0	7.2	3.9
1/2MS	IBA 5.0	60	93.3	5.4	3.1

3 讨论

激素是植物组织培养器官分化的关键因素,形成器官的类型由培养基中不同激素的相对浓度控制,而不是这些物质的绝对浓度决定的^[2-4]。李春娟等在花生胚小叶外植体的组织培养及快速繁殖时发现,6—BA/NAA 比值与愈伤组织诱导,芽再生数量及速度关系密切,发芽势强的花生品种宜用低 BA/NAA 比值的 MS 培养基,发芽势弱的品种则宜用高 BA/NAA 比值 MS 培养基^[5]。黄远新等对魔芋组织培养的研究结果表明,6—BA/NAA 浓度比,而 NAA 浓度应维持在 0.5 mg/L 水平上,在此前提下,比值低则利于愈伤组织诱导与生长,比值高则利于不定芽分化与生长根^[6]。在本研究中,以八宝景天叶片为外植体,全面研究其愈伤诱导形成的适宜条件。在愈伤组织诱导方面,以附加 2 mg/L 6—BA 和 1.0 mg/L NAA 的 MS 为愈伤诱导培养基,6—BA 与 NAA 比值为 2,愈伤组织诱导容易,愈伤诱导率可达 93.3%;

在芽的诱导与增殖方面,以附加 2 mg/L 6-BA + 0. 6-BA 与 NAA 比值较低时有利于愈伤组织的诱导, 1 mg/L NAA 的 MS 为芽的分化和增殖培养基,6-BA 比值较高时则有利于芽的分化,实验结果与前人的浓度最佳值仍然为 2,但 NAA 浓度降低,此时 6-BA 与 NAA 比值为 20,可促进芽的大量形成.因此,结果是一致的.本研究的结果为八宝景天的快速繁殖及离体保存研究提供依据.

参 考 文 献

- [1]曹玉峰,韩红娟,尹彦君,等.八宝景天引种及繁殖技术[J].北方园艺,1999,(1):40~41.
- [2]崔 澄.植物激素与细胞分化及形态发生的关系[J].细胞生物学杂志,1983,5(2):1~5.
- [3]桂耀林,张 昭.芦荟茎组织培养及器官分化的研究[J].植物学报,1990,32(8):606~610.
- [4]韩碧文,李颖章.植物组织培养中器官建成的生理生化基础[J].植物学通报,1993,10(2):1~6.
- [5]李春娟,单世华,万书波,等.花生胚小叶外植体再生影响因素研究简报[J].花生学报,2005,34(4):36~38.
- [6]黄远新,何凤发,张盛林.魔芋组织培养与快繁技术研究[J].西南农业大学学报,2003,25(4):309~312.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Sedum spectabile* Boreau

ZHANG Xiao-yan¹, CHENG Yun-qing²

(1. School of Environment Engineering, Jilin Normal University, Siping 136000, China;

2. School of Life Sciences, Jilin Normal University, Siping 136000, China)

Abstract: The main factors of callus induction, callus differentiation and rooting of *Sedum spectabile* boreau were studied by using leaf as explants. The results showed that the best medium for callus induction from leaf segments was MS with 2 mg/L 6-BA and 1.0 mg/L NAA, and the callus induction ratio reached to 93.3%. The MS medium supplemented with 2mg/L 6-BA and 0.1mg/L NAA was favorable for the differentiation and proliferation of buds, and the average regeneration plantlets per explants was 22.4. All the regeneration plantlets could root exuberantly after transferred to 1/2MS + IBA1.0 mg/L.

Key words: *R hodiola sachalinensis* A. Bor; tissue culture; leaf

(上接第 59 页)

Manufacture of a Binder from $KMnO_4$ and starch

WANG Lin

(Jilin Agriculture Engineering Polytechnic College, Siping 136000, China)

Abstract: The starch was oxidized by using $KMnO_4$ as oxidizing agent and sulfuric acid as catalyst, a powder type $KMnO_4$ oxidized starch adhesive with fast drying and cross-linking agent. It effectively enhances the drying speed and solves its instability problem.

Key words: oxidizing starch; adhesive; $KMnO_4$