维普资讯 http://www.cqvip.com

半边莲组织培养和快速繁殖

王广军[1]，张彦妮[2]

(1.中共黑龙江省委党校，黑龙江 哈尔滨 150080；2.东北林业大学 园林学院，黑龙江 哈尔滨 150040)

摘 要：半边莲生长繁茂，分枝多，叶密集，纤细隽美，是花坛、园林镶边、组合盆栽和彩坛栽植的完美选择。近几年，随着半边莲应用价值的不断发掘，对半边莲的培养和繁殖越发引起人们重视。试验运用组织培养技术，以MS为基本培养基，通过比较附加不同种类和浓度的植物生长调节物质(2,4-D、NAA、6-BA)对半边莲茎段和叶片愈伤组织诱导和分化的影响，筛选出了适宜的培养基配方，获得了生长良好的愈伤组织和完整的半边莲再生植株，建立了一个半边莲快速繁殖程序。结果表明，外植体在MS+0.5 mg/L 2,4-D上可诱导愈伤组织；在培养基MS+0.3 mg/L 6-BA上可以诱导愈伤组织分化出腋芽；在培养基MS+0.7 mg/L NAA上可诱导无根系植株短期内产生大量根系，形成完整植株。移栽后成活率可达85%。

关键词：半边莲；组织培养；愈伤组织

中图分类号：S 604^{+}.3；S 681.9 **文献标识码**：A **文章编号**：1001－0009(2008)05－0209－02

半边莲(*Lobelia chinensis*)又称为细米草、瓜仁草、急解索，是桔梗科半边莲属多年生草本花卉，因其植株低矮，分枝多，叶密集，纤细隽美，是花坛、园林镶边、组合盆栽和彩坛栽植的完美选择。喜湿，稍耐荫，也适用于较阴湿处作观赏草坪。半边莲盛花期时，成千上万的小花簇拥在枝头，繁茂的花簇把整个植株包裹得严严实实，十分漂亮。

目前，对半边莲组织培养的研究仅见于王连平、刘强等对半边莲(*Lobelia Chinensis* Lour)离体茎段再生进行了研究。此外，日本学者Ishimara等(1992)对与半边莲同科的植物*Lobelia inflata*进行了组培发根的研究。随着半边莲应用价值的逐渐发掘，人们越来越重视半边莲的繁殖以及栽培品种的不断更新。目前国内花卉市场上只有半边莲的种子和播种穴盘苗供应，国外一些专利无性扦插繁殖的品种在国内很难见到，常规育种方法繁育半边莲已经不能满足人们日益增长的需求。因而用植物组织培养技术研究半边莲的离体快速繁殖，品种更新和大规模工厂化生产，尽快满足人们日益增长的需求就显出其优越性了。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料来源于东北林业大学花卉研究所温室内种植的半边莲。

1.2 试验方法

先用自来水冲洗选取的植物材料，然后用洗衣粉水浸泡和冲洗15 min左右。再在超净工作台用0.1%升汞($HgCl_2$)消毒7 min。处理后用无菌水冲洗3～4次。经过表面灭菌的材料用无菌滤纸将水吸掉。再用解剖刀切取茎尖下的茎段及叶片，通常几毫米大小，切去茎段两端因消毒而坏死的切口，茎段保留长度为4～6 mm；将叶片边缘剪切，然后，将材料用枪式镊子接种到不同培养基上进行培养。培养温度为(25±1)℃，光照时间为16 h，光照强度为2 000～3 500 lx。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

在以茎段为外植体时，茎段在培养8～12 d后，茎段两端产生愈伤组织，翠绿色，少数为白色，直径0.3～0.5 cm。培养10～15 d后，培养基中茎段两端切口处少数愈伤组织白色，呈球体状，直径0.8～1.3 cm。以MS 2培养基的茎段愈伤组织最明显、最大，尤其是2,4-D浓度为0.5 mg/L(表1)。此外，从表1可看出，随着2,4-D浓度的增加，茎段的出愈率先增加，在2,4-D浓度为0.5 mg/L时达到最大，然后，随着2,4-D浓度的增加而降低。愈伤组织的生长情况在2,4-D浓度为0.5 mg/L时最好。

在诱导叶片愈伤组织培养基中，培养7～12 d后，叶片变为淡灰色，水渍状，无明显愈伤组织产生。培养14～18 d后叶片周边膨胀，有淋巴状愈伤组织产生，颗粒状，浅绿色，直径0.1～0.4 cm。培养16～23 d后叶片愈伤组织呈颗粒状，直径0.5～1.0 cm。同样，随着2,4-D浓度的增加，叶片的出愈率先增加，在2,4-D浓度为0.5 mg/L时叶片的出愈率达到最大(表2)，然后，随着2,4-D浓度的增加而降低。

第一作者简介：王广军(1974-)，男，工程师。E-mail：wgjwls@126.com。

收稿日期：2008－01－16

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1　不同浓度 2,4-D 对茎段愈伤组织诱导和生长的影响　(15 d)

2,4-D 浓度/mg·L^{-1}	接种茎段数/个	产生愈伤组织块数/个	出愈率/%	愈伤组织颜色	生长状况
0.1	48	34	70.83	翠绿色,无光泽,直径 0.3～0.7 cm	++
0.3	41	36	87.80	翠绿色,无光泽,少数白色,直径 0.5～0.9 cm	+++
0.5	45	41	91.10	翠绿色,无光泽,0.7～1.3 cm	++++
0.7	47	37	78.72	翠绿色,无光泽,少数白色,直径 0.6～1.0 cm	++

注:生长一般++,生长较好+++,生长最好++++。下表同。

表 2　不同浓度 2,4-D 对叶片愈伤组织诱导和生长的影响　(25 d)

2,4-D 浓度/mg·L^{-1}	接种叶片数/个	产生愈伤组织块数/个	出愈率/%	愈伤组织颜色	生长状况
0.1	45	34	75.55	翠绿色,无光泽,直径 0.5～0.7cm	++
0.3	43	35	81.39	翠绿色,无光泽,少数白色,直径 0.6～0.9 cm	+++
0.5	47	42	89.36	翠绿色,无光泽,直径 0.7～1.0cm	++++
0.7	46	37	80.43	翠绿色,无光泽,少数白色,直径 0.5～0.7cm	+++

2.2　不定芽的形成

试验愈伤组织再分化形成再生植株的方式为先产生芽,后在茎的基部长根。培养过程中发现,在MS 3 培养基上的外植体愈伤组织分化最明显。接种于培养基中的茎段愈伤组织在 18～25 d 后,开始产生不定芽,芽体长度为 1.5～2.6 cm,分化率随 6-BA 浓度的增加先增加后减少(表 3)。此外,从表 3 中可看出茎段愈伤组织的分化以 6-BA 0.3 mg/L 培养基产生的不定芽最多,生长最快。每个茎段产生不定芽 6～12 个。

接种于 MS 3 培养基中的叶片愈伤组织 27～32 d 开始产生不定芽,与茎段产生的不定芽相似,叶片愈伤组织产生的不定芽也为白色,芽体长度为 0.8～2.5 cm,分化率随 6-BA 浓度的增加先增加后减少,每个叶片产生不定芽 4～7 个(表 4)。同样,叶片愈伤组织的分化以 6-BA 0.3 mg/L 培养基产生的不定芽最多,生长最快。

表 3　不同 6-BA 浓度对茎段不定芽体诱导和生长的影响　(25 d)

6-BA 浓度/mg·L^{-1}	接种茎段数/个	芽体数量/个	分化率/%	芽体长度/cm	芽体长势
0.1	46	39	84.78	1.5～2.0	+++
0.3	56	52	92.85	2.5～3.0	++++
0.5	43	37	86.05	1.7～2.4	+++
0.7	50	41	82.00	1.8～2.6	++

表 4　不同 6-BA 浓度对叶片不定芽体诱导和生长的影响　(35 d)

6-BA 浓度/mg·L^{-1}	接种叶片数/个	芽体数量/个	分化率/%	芽体长度/cm	芽体长势
0.1	51	42	82.35	0.8～1.4	+++
0.3	56	49	87.50	1.2～2.5	++++
0.5	47	38	80.85	1.5～2.1	+++
0.7	46	35	76.08	1.4～1.9	++

2.3　不定芽生根诱导

接种茎段在 MS 0 和 MS 1 培养基上培养 30～35 d 后就可形成完整植株,高度 5～10 cm。叶片在 MS 0 和 MS 1 培养基上培养 37～42 d 后就可形成完整植株,高为 4～7 cm。培养 30～43 d 后在 MS 2 和 MS 3 培养基接种的茎段形成无根系不完整植株,高度 6～9 cm。培养 40～48 d后在 MS 2 和 MS 3 培养基接种的叶片形成无根系不完整植株,高度 5～8 cm。

培养基中无根系的不完整植株如不继代到生根培养基中生根培养,将无法继续生长。因此将 MS 2 和 MS 3 中无根系的不完整植株继代到 MS 4 中进行生根培养。在培养 38～47 d 后,茎段无根系不完整植株开始生根,根系细长,白色,并且随着 NAA 浓度的增加,根系生长逐渐增多,根长逐渐增长,以 NAA 0.7 mg/L 根系生长最多、最长,长度为 3～4.5 cm(表 5)。

在培养 46～57 d 后,叶片的不完整植株开始生根,白色,纤细,长度为 2～3.6 cm,并与接种茎段的不定芽生根状况相似,接种叶片不定芽产生的根系随着 NAA 浓度的增加逐渐增多,根长逐渐增长,以 N AA 0.7 mg/L根系生长最多、最长,长度为 2.5～4.0 cm(表 6)。

表 5　不同 NAA 浓度对接种茎段生根的影响　(55 d)

NAA 浓度/mg·L^{-1}	欲生根茎段数/个	生根茎段数/个	生根率/%	生根长度/cm	生根长势
0.1	94	75	79.78	2.6～3.2	++
0.3	97	79	81.44	3.0～3.8	++
0.5	88	80	90.90	3.2～4.0	+++
0.7	97	92	94.84	3.0～4.5	++++

表 6　不同 NAA 浓度对接种叶片生根的影响　(45 d)

NAA 浓度/mg·L^{-1}	欲生根叶片数/个	生根叶片数/个	生根率/%	生根长度/cm	生根长势
0.1	96	78	81.25	2.5～3.0	++
0.3	99	83	83.83	2.7～3.5	++
0.5	94	85	90.92	3.2～3.7	+++
0.7	92	89	96.73	3.3～4.0	++++

2.4　练苗驯化及移栽

半边莲试管苗是在无菌、有营养供给、适宜光照和温度、近 90%的相对湿度环境条件下生长的,因此,在生理、形态等方面都与自然条件生长的半边莲很大差异。所以必须通过练苗,使它们逐渐地适应外界环境,从而在生理、形态、组织上发生相应变化,使之更适于自然环境,这样才能保证试管苗顺利移栽成功。

试验在半边莲试管苗根长为 3～5 cm 时,去掉三角瓶的透气膜,光照强度减为 1 000 lx 左右,进行练苗。经过 10 d 练苗后,用自来水洗掉小苗根部残余培养基洗净,分别移栽到盛有腐殖土的花盆中,保证空气湿度在 80%以上,放置于荫凉处 3～5 d,移栽到苗圃中,成活率为 85%。