



垂盆草组培快繁技术研究

王 健,许海平

(海南大学生命科学与农学院,海南海口 570228)

摘要:垂盆草(*Sedum sarmentosum* Bunge)组培快繁技术的研究结果表明:不同外植体中,茎段灭菌时间以 8min 最好,成活率达到 80%;叶片以 6min 最好,成活率达到 70%,而叶柄以 6min 效果最好,成活率达到 55%。不同类型外植体(茎、叶柄、叶片)均能诱导产生愈伤组织,其中,茎的诱导分化能力最强,叶柄次之,叶片最弱。茎的诱导率为 85.2%,显著高于叶柄和叶的诱导率,是最佳的组织培养外植体。无菌外植体芽诱导的最佳培养基配方为:MS + 6-BA $1.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + CM $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。最适继代培养基配方为 MS + 6-BA $1.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。生根培养基则以 1/2MS + NAA 1.00 为佳。

关键词:组织培养;快繁;垂盆草

中图分类号:S723.13

文献标识码:B

1 前言

垂盆草(*Sedum sarmentosum* Bunge),别名石指甲、养鸡草、狗牙齿、瓜子菜、地吴淞草等。英文名 Stringy Stonecrop Herb^[1]。垂盆草属景天科景天属多年生草本植物,原产于中国、朝鲜及日本,是一种暖季型植物^[2,3]。喜湿润,较耐荫,耐寒,适生于湿润、肥沃的土壤,耐旱,耐瘠薄。可作庭院地被栽植,亦可室内吊挂欣赏,是市场流行的观叶植物^[4]。此外,垂盆草全草入药,具清热解毒功效;用于治疗肝炎、痢疾、蚊虫咬伤等^[5]。因此,垂盆草组培快繁研究具有很高的实用价值。文章旨在研究垂盆草组培快繁各环节的适宜培养基配方,为大规模工厂化生产奠定基础。

2 材料与方法

2.1 材料

本研究以垂盆草的叶、叶柄、茎为试验材料。材料取自海南大学生命科学与农学院园林苗圃。原种购于海口东湖花卉市场,在园林苗圃中已培养 1 年。

2.2 方法

2.2.1 实验设计

本试验采用 4 因素(基本培养基、6-BA、NAA、椰子水)3 水平正交试验设计^[6],共 9 个处理组合,每处理组合接种 10 个外植体,3 次重复,详细试验设

计方案见表 1、表 2。

表 1 [$L_9(3^4)$] 正交试验表头设计

水平	因素			
	培养基	6-BA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	椰子汁(CM) ($\text{ml} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	1/4MS	0.5	0.0	0
2	1/2MS	1.0	0.5	50
3	MS	1.5	1.0	100

表 2 [$L_9(3^4)$] 正交试验设计方案

处理 组合号	A 培养基	B 6-BA($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	C NAA($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	D CM($\text{ml} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	A1	B1	C1	D1
2	A1	B2	C2	D2
3	A1	B3	C3	D3
4	A2	B1	C2	D3
5	A2	B2	C3	D1
6	A2	B3	C1	D2
7	A3	B1	C3	D2
8	A3	B2	C1	D3
9	A3	B3	C2	D1

2.2.2 培养基

按上述试验设计筛选芽诱导培养基。在此基础上,从下列组合中筛选继代培养基:1、MS + 6-BA 0.5 + NAA 0.2 ; 2、MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.2 ; 3、MS + 6-BA 1.5 + NAA 0.2 ; 4、MS + 6-BA 2.0 + NAA 0.2 。生根培养基以 1/2MS 为基本培养基,加入 NAA 激素诱导生根,设置 4 个浓度水平,分别是 $0.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



2.2.3 外植体灭菌

从盆栽的植株上,选取健壮、幼嫩、无病虫害的叶、茎为外植体。无菌条件下用1%洗衣粉液浸洗3次,自来水反复冲洗5~6次,然后用75%酒精浸泡30s,无菌水冲洗3次,最后用0.1%的升汞浸泡,浸泡时间分别是6min、8min和10min,取出后用无菌水反复冲洗6~8次^{[7][8]}。最后在超净工作台上沿主脉将叶片切成1cm见方的若干片,茎切成1.0cm左右的茎段,无菌滤纸吸去外植体表面的水,接种、观察。

2.2.4 培养条件

将接种好的外植体放置在光照时间为12h·d⁻¹,光照强度为1500Lx,培养温度为25±2℃。每周观察记录2次,仔细记录各时期生长情况。

3 结果与分析

3.1 不同灭菌方法的效果

剪取1cm左右,带1~2个芽的垂盆草茎段作为外植体,经不同灭菌方法处理后接种至空白MS培养基上,放至光照培养箱中进行培养,5d后,进行记录观察,结果如表3。

表3 不同灭菌方法对外植体萌发的影响

器官	升汞处理时间(s)	接种瓶数(瓶)	接种数(个)	死亡率(%)	污染率(%)	成活率(%)
茎段	6	6	3	5	15	70
	8	6	3	20	15	80
	10	6	3	15	10	65
叶片	6	6	3	20	30	70
	8	6	3	16	20	60
	10	6	3	25	10	45
叶柄	6	6	3	15	10	60
	8	6	3	21	12	55
	10	6	3	25	5	40

注:上述不同外植体用70%酒精灭菌时间均为30s

分析表明在其它条件相同的情况下,0.1%升汞处理时间对垂盆草不同外植体的灭菌效果不同。其中,茎段8min处理的效果最好平均成活率为80%,其次为6min处理,平均成活率为70%,而10min处理的效果最差,平均成活率为65%,比8min的处理低15%,差异明显。叶片6min灭菌后成活率最高为70%,而10min灭菌后成活率最低为45%,高低相差25%。叶柄灭菌6min后成活率最高为60%,灭菌8min后成活率为55%,灭菌10min后其成活率最低仅为40%,高低相差20%,差异明显。

3.2 不同外植体的接种效果

茎接种20d左右,腋芽萌动,同时切口处膨大长出黄色半透明状愈伤组织;叶柄在接种18d左右,新

芽萌发;而叶片接种30d左右,有黄绿色的愈伤组织颗粒产生,有少量不定芽分化。对垂盆草不同器官的诱导效果结果见表4。从中可以看出,茎的诱导率和出芽率最高,分别为85.2%和68.5%。叶柄次之分别为55.6%和27.8%,而叶片最低仅为33.3%和9.3%。因此,最适于垂盆草芽诱导的外植体为茎。

表4 不同器官诱导分化结果

类型	数量(个)	诱导数(个)	诱导率(%)	污染数(个)	出芽数(个)	出芽率(%)
茎	270	230	85.2	27	185	68.5
叶柄	270	150	55.6	35	75	27.8
叶片	270	90	33.3	42	25	9.3

3.3 芽分化

按试验设计将茎接种于不同的组合培养基上,20d后茎基部开始膨大,有腋芽萌动,同时茎切口处开始膨大,长出黄褐色半透明愈伤组织。接触培养基的幼嫩叶片也愈伤组织化,继续培养10d,愈伤组织上有绿色芽点出现,此后,绿色芽点逐渐生长成丛生芽,将长至1.0cm的丛生芽切下,接种到相同的培养基上进行继代培养,即可获得大量的组培苗。

表5 垂盆草茎接种到不同组合培养基上的芽诱导率

处理组合	接种数	分化数	诱导率(%)	芽质量	5%	1%
9	30	25	85	健壮	a	A
8	30	21	70	健壮	b	AB
3	30	21	70	健壮	b	AB
1	30	20	66.7	健壮	b	B
2	30	19	65	健壮	b	BC
7	30	19	63.3	健壮	b	BC
6	30	18	60	健壮	bc	BC
4	30	15	50	细弱	c	C
5	30	9	30	细弱	d	D

表5为9个处理3次重复的芽诱导率统计结果。

采用DPS(Data Process System)数据分析系统对芽诱导率的观测数据进行分析。结果表明,不同处理因素之间也存在显著差异,除椰子汁外其余因素均达到了显著或极显著水平。其中,培养基以MS为最佳,平均芽诱导率为72.8%,比1/4MS培养基的46.7%高26.1%,差异极显著;6-BA浓度以1.5mg·L⁻¹的诱导效果最好,平均诱导率71.7%,比0.5mg·L⁻¹处理的55%高11.7%;NAA浓度以0.5mg·L⁻¹的诱导效果最好,平均诱导率66.7%,比1.0mg·L⁻¹处理的54.4%高12.3%。而椰子汁的不同水平对垂盆草芽的诱导率无显著差异,可见在其芽诱导培养基中可以不添加椰子汁,从而节约成本。

进一步方差分析表明,不同处理组合之间差异明显。其中,处理组合9、8、3的芽诱导率最高分别为



85%、70%和70%，平均芽诱导率75%，且诱导芽生长健壮，质量高；其次是1、2、7、6号组合，芽诱导率变动在60%~66.7%；平均为63.8%；4、5号的诱导率最低为50%、30%，平均仅为40%。采用Duncan's新复极差测验，综合各因素的不同水平来看，最优组合是A3B3C2D3(图1)，即MS培养基+6-BA1.5mg·L⁻¹+NAA0.5mg·L⁻¹+CM100ml·L⁻¹；如不使用椰子汁，则配方为：MS培养基+6-BA1.5mg·L⁻¹+NAA0.5mg·L⁻¹。综合来看6-BA浓度较高时易诱导芽分化，在6-BA1.5mg·L⁻¹的浓度水平下，不仅外植体腋芽萌动率高，而且形成丛芽的比例较大，可见具有细胞分裂活性的6-BA能够有效促进垂盆草芽的萌发。如能适当添加一定量NAA则更有利于离体侧芽分化，但高浓度NAA却诱导大量愈伤组织，反而不利于侧芽的直接分化和生长。同样的情况在以往人们对其它植物的组培中也得到过证明^[9-11]。在配比合理的培养基中，垂盆草芽诱导快，生长健壮，丛生芽明显，诱导效率高。

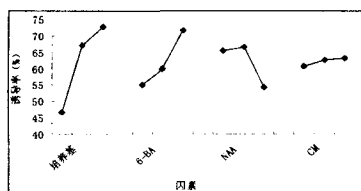


图1 垂盆草芽诱导正交试验设计因素效应图

3.4 继代

分化出来的不定芽按试验设计分别接种在4种不同培养基上培养20d后，产生大量幼苗，观察结果见表6。接种基数均为10的情况下，培养基MS+6-BA_{1.5}+NAA_{0.2}上的不定芽生长快而健壮，高于2cm的苗数也最多平均为130株。其次是MS+6-BA_{1.0}+NAA_{0.2}平均为100株，MS+6-BA_{0.5}+NAA_{0.2}和MS+6-BA_{2.0}+NAA_{0.2}上的不定芽生长较慢，分别为70株和60株，且有大量毛根产生，这种情况表明当6-BA浓度降低时，培养基趋向于诱导生根而非芽的分化。总之，培养基MS+6-BA_{1.5}mg·L⁻¹+NAA_{0.2}mg·L⁻¹最适宜垂盆草芽分化。

表6 垂盆草在不同培养基上继代生长情况

培养基	高于2cm苗数(棵)	生长情况
MS+6-BA _{0.5} +NAA _{0.2}	70	健壮,生长快
MS+6-BA _{1.0} +NAA _{0.2}	100	健壮,生长较快
MS+6-BA _{1.5} +NAA _{0.2}	130	毛根多,生长缓慢
MS+6-BA _{2.0} +NAA _{0.2}	65	毛根多,生长缓慢

注:初始接种数量为10个芽每瓶。

3.5 生根

将生长健壮、长3cm的丛生苗切下，接种到生根培养基上进行培养。10d左右便可见茎基部有根生成，20d后根系基本发育完成。表7是不同培养基诱导生根结果，试验结果表明，不同浓度NAA对组培苗生根的影响非常明显。低浓度NAA诱导的根较细，浓度过高则植株较弱，以3号培养基1/2MS+NAA_{1.0}生根效果最好，根系生长良好，根粗，数量多，植株健壮，叶色浓绿，加速苗的生长。其中，培养基1/2MS+NAA_{1.0}根诱导率为100%，显著高于其它三种培养基，生根率比1/2MS+NAA_{0.00}培养基高70%，其次是培养基1/2MS+NAA_{0.50}，根诱导率为80%，而培养基1/2MS+NAA_{0.00}和1/2MS+NAA_{2.00}，根诱导率为别为30%和50%，诱导效果不理想。

表7 NAA浓度对组培苗生根的影响

编号(NO)	培养基成分(mg·L ⁻¹)	接种苗数(个)	生根苗数(个)	生根率(%)	生根情况
1	1/2MS+NAA _{0.00}	20	6	30	根较短,植株较弱
2	1/2MS+NAA _{0.50}	20	16	80	根多,植株正常,叶色浓绿
3	1/2MS+NAA _{1.00}	20	20	100	根粗,植株健壮,叶色浓绿
4	1/2MS+NAA _{2.00}	20	10	50	根细长,植株较弱

4 结论

4.1 不同垂盆草外植体用0.1%升汞灭菌不同时间后的效果不同。茎段的灭菌时间以8min最好，其成活率为80%；叶片以6min最好，平均成活率为70%；而叶柄灭菌时间以6min效果最好，成活率最高为55%。

4.2 不同类型外植体(茎、叶柄、叶片)均能诱导产生愈伤组织，但芽诱导和分化能力不同。垂盆草不同外植体中茎的诱导分化能力最强，诱导率为85.2%，出芽率为68.5%；叶柄次之，诱导率和除芽率分别为55.6%和27.8%；叶片最弱为33.3%和9.3%。因此，茎是垂盆草组培快繁芽诱导的最佳外植体。

4.3 不同浓度的外源激素6-BA和NAA对不定芽的诱导和生长具有显著作用。较高浓度的6-BA和较低浓度的NAA配合有利于促进芽诱导，垂盆草外植体构建和芽诱导的适宜培养基配方为：MS+6-BA_{1.5}mg·L⁻¹+NAA_{0.5}mg·L⁻¹或MS+6-BA_{1.5}mg·L⁻¹+NAA_{0.5}mg·L⁻¹+CM100mg·L⁻¹。

4.4 最适宜垂盆草不定芽继代的培养基为MS+6-BA_{1.5}mg·L⁻¹+NAA_{0.2}mg·L⁻¹。

4.5 组培苗在4种不同的生根培养基上均能生根，较高浓度的NAA增加根量，提高根的质量。其中，1/2MS+NAA_{1.0}的生根培养基配方促进生根效果最好，生根率为100%，根多而粗壮，植株生长健壮，叶色浓绿。

(下转第39页)



- ④绿叶期长,观赏价值较高;
- ⑤适应性强、抗逆性强,栽培管理容易。
- ⑥对人畜无害。

4 海南省地被植物的应用现状与方向

近年来,在我省园林绿化建设中,一些种类的地被植物得到了广泛有效而的应用,如小叶女贞、美人蕉、南天竹、金边吊兰、夹竹桃等等。通过对这些地被植物的应用,不仅增加了植物层次,丰富园林景色,给人们提供优美舒适的环境,而且在增加绿地的绿量,消除二次扬尘,大量减少近地面空气中的含菌量,降低气温,改善空气湿度,保持水土,护坡固堤,减少和抑制杂草生长等方面最大限度的发挥了城市绿地的生态效益。

任何事物都有两面性,随着这些地被植物的普遍应用,难免给人千城一景的感觉。事实上,城市园林绿地迫切需要充实和更新现有的地被植物种类。就海南本土资源而言,有些地被植物种类还有待于大量开发利用,如多年生草本中的石蒜、葱兰、海南伞树等等。所有这一切表明,海南地被植物的应用方兴未艾,现阶段的主要工作:

4.1 加快地被植物的快繁及工厂化生产

快速繁殖是满足园林应用的一个方面,而工厂化生产是保证苗木整齐的另一方面。现阶段,海南工厂化生产种苗的公司并不多,专业生产地被植物的更少,都是小农作业的生产苗圃,因此进行工厂化生产的潜力很大。

4.2 加强地被植物的生态配置

在地被植物的配置上,要注意与周围环境的协调,也就是把美的地方装饰和衬托得更美,形成美丽的景观。对瑕疵和不足之处加以修饰,使其达到尽善尽美运用地被植物。除了丰富景观以外,与草坪植物比较起来的优点是,在养护管理上更方便,地被植物的生态配置就显得尤其重要。在城市绿地系统

中,规划乔、灌、草的适当比例;人工植物群落的生态系统中,乔木、灌木、地被、微生物、动物和它们自下而上的基础光、温、水、土、气等非生物因子之间形成互相共生,互相协调的共同体。在层次、冠形、厚度、色彩等方面,符合观赏要求,在喜阳、耐阴、耐旱、喜肥等生态要求上,使各种生物各得其所,构成和谐、稳定,能长期共存的植物群落园林地被植物的正常生长。另外,需要有与其生物学特性相适应的外界条件。配置时要考虑每一种对温、光、水、土等因素的要求,避免两者相障,事倍功半。

4.3 加大大地地被植物抗逆性的研究

研究地被植物的抗逆性,对地被植物的生态配置及筛选,均具有直接的指导意义,地被植物越夏耐热性以及耐旱研究,通过对地被植物的细胞质膜的透性差别、叶绿素 a 与 I 的含量以及光饱和点与光补偿点的测定,得出地被植物适应性、抗逆性的强弱。如耐阴性较高的地被植物:沿阶草(*Ophiopogon japonicus*),鹅掌柴(*Schefflera octophylla*),金叶文殊兰(*Crinum asiaticum Golden Leaves*)等等。

5 小结

近年来,海南园林界对地被植物的重视程度越来越高,也展开了多方面的应用,但总体来说,应用程度都还远远未达到国内外的水平,特别是在地被植物的应用种类及生态配置方面海南的地被植物资源非常丰富。收集、开发、扩繁并加以应用,是现阶段的海南园林工作者主要工作之一。

参考文献

- [1]陈有民. 园林树木学[M]. AL 京:中国林业出版社,1988
- [2]江长桥,谢盛强. 海南园林观赏植物,海口:南海出版公司,2005.1
- [3]俞洋. 地被植物. 中国园林,1989(2):36~39
- [4]苏雪痕. 园林植物耐荫性及配置,北京林学院学,1981(2):63~70

(上接第 26 页)

参考文献

- [1]董保华. 汉拉英花卉及观赏树木名称[M]. 北京:中国农业出版社,1996,201
- [2]徐峰. 观叶植物[M]. 北京:中国农业大学出版社,2000,249
- [3]王玉国,郑玉梅,杨学军. 观叶植物的栽培与装饰[M]. 北京:科学技术文化出版社,2002,216
- [4]谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1997,63~70
- [5]王意成. 时尚观叶植物 100 种[M]. 北京:中国农业出版社,2000,37
- [6]盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京:中国农业出版社,2000,382
- [7]肖显华,王顺珍,林荣双. 植物材料表面消毒方法的改进[J]. 生物技术,1999,9(1):43~45
- [8]颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海:上海科技出版社,1989.51~94
- [9]王兆龙,曹卫星. 细胞分裂素对植物基因表达的调节[J]. 植物生理学通讯,2000,36(1):82~88
- [10]王熊. 激素对植物培养细胞生长分化的调节作用[J]. 细胞生物学杂志,1983,5(2):40~45
- [11]谷瑞升,蒋湘宁,郭仲琛. 植物离体培养中器官发生控制的研究进展[J]. 植物学通报,1999,16(3):238~244