

## 大叶伞组织培养技术研究

鞠志新<sup>1,2</sup>, 戚继忠<sup>3</sup>, 顾德峰<sup>4\*</sup>

(1. 北京林业大学 园林学院, 北京 100083; 2. 吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101; 3. 北华大学 林学院, 吉林 吉林 132110; 4. 吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130000)

**摘 要:** 以大叶伞嫩芽、幼叶、叶柄、茎段为外植体, 研究其组织培养技术体系。结果表明, 嫩芽为最佳外植体, 诱导培养基为  $MS + BA 1.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.5 mg \cdot L^{-1}$ , 增殖培养基为  $MS + BA 1.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.5 mg \cdot L^{-1} + B_9 0.1 mg \cdot L^{-1}$ , 生根培养基为  $1/2MS + NAA 0.2 mg \cdot L^{-1}$ 。

**关键词:** 大叶伞; 外植体; 组织培养

**中图分类号:** S722.37 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1714(2007)06-0021-03

大叶伞 (*Schefflera actinophylla*) 也叫澳洲鹅掌柴、辐叶鹅掌柴、昆士兰伞木等, 是五加科鹅掌柴属常绿乔木。原产于澳大利亚昆士兰州及东南亚热带地区, 喜光照及高温高湿环境, 耐荫性亦强<sup>[1]</sup>。

大叶伞在原产地通常采用播种或扦插育苗。大叶伞引种到我国栽培应用的时间不长, 用于育苗的种子或插穗有限, 而进口种子或种苗成本较高, 制约了大叶伞的广泛应用, 采用组培快速繁殖技术是解决这一矛盾的有效途径。大叶伞组培技术的研究国内外尚未见报道, 本试验通过对大叶伞组培过程中各项技术的研究, 建立大叶伞组培技术体系, 为今后大叶伞苗木的组培快繁提供了实践依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及诱导培养基

从健壮、无病虫害的大叶伞上采摘嫩芽、幼叶、叶柄、茎段作外植体。嫩芽要去掉叶鞘; 幼叶(无小叶柄)要从初生复叶上切下; 叶柄采用复叶叶柄; 茎段切成 1.5cm 左右(带 1 个芽)。外植体预处理后在超净工作台上用 0.2% 升汞灭菌 5min, 再用 2% 次氯酸钠灭菌 10min, 无菌水冲洗 5 次。切去伤口及多余部分, 按直立方向插入培养基中, 深度为外植体长度的  $1/2^{[2,3]}$ 。每种外植体分别接种到不同的诱导培养基(见表 1)中, 各接种 30 瓶, 45d 后调查外植体诱导分化情况。

### 1.2 增殖阶段

将诱导成活并分化的材料转接至 150ml 三角瓶内继代培养。增殖培养基:  $Z_1: MS + BA 2.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 1.0 mg \cdot L^{-1}$ ;  $Z_2: MS + BA 1.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.5 mg \cdot L^{-1} + B_9 0.1 mg \cdot L^{-1}$ ;  $Z_3: MS + BA 1.0 mg \cdot L^{-1} + GA_3 1.0 mg \cdot L^{-1}$ ;  $Z_4: MS + BA 0.5 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.2 mg \cdot L^{-1}$ ;  $Z_5: MS + BA 0.5 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.1 mg \cdot L^{-1}$ 。

表 1 诱导培养基配方

| 处 理      | 培养基                                                       |
|----------|-----------------------------------------------------------|
| $Y_1$    | $MS + BA 4.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 2.0 mg \cdot L^{-1}$   |
| $Y_2$    | $MS + BA 2.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 2.0 mg \cdot L^{-1}$   |
| $Y_3$    | $MS + BA 2.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 1.0 mg \cdot L^{-1}$   |
| $Y_4$    | $MS + BA 2.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.5 mg \cdot L^{-1}$   |
| $Y_5$    | $MS + BA 1.5 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.5 mg \cdot L^{-1}$   |
| $Y_6$    | $MS + BA 1.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.5 mg \cdot L^{-1}$   |
| $Y_7$    | $MS + BA 1.0 mg \cdot L^{-1} + 2,4-D 0.5 mg \cdot L^{-1}$ |
| $Y_8$    | $MS + BA 1.0 mg \cdot L^{-1} + 2,4-D 0.1 mg \cdot L^{-1}$ |
| $Y_9$    | $MS + BA 0.5 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.2 mg \cdot L^{-1}$   |
| $Y_{10}$ | $MS + BA 0.2 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.1 mg \cdot L^{-1}$   |

### 1.3 生根阶段

茎段高达 2cm 以上时, 剪取 1.5~2.0cm 茎段, 移入生根培养基中, 每瓶 5 株。生根培养基为:  $S_1: 1/2MS + BA 0.2 mg \cdot L^{-1} + NAA 1.0 mg \cdot L^{-1}$ ;  $S_2: 1/2MS + NAA 0.5 mg \cdot L^{-1}$ ;  $S_3: 1/2MS + NAA 0.2 mg \cdot L^{-1}$ ;  $S_4:$

收稿日期: 2007-02-06

基金项目: 吉林省科技厅项目(2003.0217-1)

\* 通讯作者

1/2MS + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>。

#### 1.4 培养条件

诱导和增殖阶段:光照 10~12h/d, 温度 25±2℃, 光强 1 500~2 500lx。生根阶段:光照 14h/d, 温

度 23±2℃, 光强 2 000~3 000 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同外植体诱导分化情况

表2 不同外植体在诱导培养基上的诱导结果

| 培养基             | 嫩芽   | 茎段   | 幼叶   | 叶柄   | 接种数(瓶) | 出芽数(瓶) | 芽诱导率(%) |
|-----------------|------|------|------|------|--------|--------|---------|
| Y <sub>1</sub>  | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 60     | 0      | 0       |
| Y <sub>2</sub>  | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 60     | 0      | 0       |
| Y <sub>3</sub>  | 丛生芽  | 丛生芽  | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 60     | 30     | 50%     |
| Y <sub>4</sub>  | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 60     | 0      | 0       |
| Y <sub>5</sub>  | 丛生芽  | 单芽茎段 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 60     | 30     | 50%     |
| Y <sub>6</sub>  | 丛生芽  | 丛生芽  | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 60     | 30     | 50%     |
| Y <sub>7</sub>  | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 60     | 0      | 0       |
| Y <sub>8</sub>  | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 愈伤组织 | 60     | 0      | 0       |
| Y <sub>9</sub>  | 单芽茎段 | 单芽茎段 | 无变化  | 无变化  | 60     | 30     | 50%     |
| Y <sub>10</sub> | 单芽茎段 | 无变化  | 无变化  | 无变化  | 60     | 15     | 25%     |

由表2可见,除 Y<sub>9</sub> 和 Y<sub>10</sub> 对茎段、幼叶及叶柄没有反应外,其它培养基均有诱导反应。嫩芽的诱导率为 100%,茎段为 90%,幼叶和叶柄均为 80%。各培养基的诱导状况差异也很大,仅 Y<sub>3</sub>、Y<sub>5</sub>、Y<sub>6</sub>、Y<sub>9</sub>、Y<sub>10</sub> 诱导出芽,且 Y<sub>3</sub>、Y<sub>5</sub>、Y<sub>6</sub> 有丛生芽出现,表明培养基中的激素配比起关键作用。

加入 2,4-D 的 Y<sub>7</sub>、Y<sub>8</sub> 均无芽诱导出现,但愈伤组织发生较多,见表2,表明 2,4-D 对大叶伞的芽诱导不适合。以 BA 0.5~2.0mg·L<sup>-1</sup>、NAA 0.2~1.0mg·L<sup>-1</sup> 较适合诱导成芽,且 BA/NAA 以 2:1 较适宜,这一比例与月季较接近<sup>[4]</sup>。

### 2.2 增殖培养情况

转接芽在 5 种培养基上都能成活,但增殖系数较低,在 4 以下,见表3。不同培养基间存在差异,且丛生芽很少,多数是单芽茎段生长类型。在 BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 培养基上转接的芽段只是叶片略展,高度略有增加。由于加入 B<sub>9</sub>, Z<sub>2</sub> 培养基使节间短缩,在下切口愈伤化后分化出丛生芽,后期又以高生长为主,不再分化丛生芽。这种现象在许多植物上有表现,梅花培养中也出现此类状况,

属于半丛生类型<sup>[5,6]</sup>。

表3 不同增殖培养基增殖情况

| 培养基            | 接芽数(个) | 增殖芽数(个) | 增殖系数 | 增殖类型   |
|----------------|--------|---------|------|--------|
| Z <sub>1</sub> | 8      | 25      | 3    | 单芽茎段   |
| Z <sub>2</sub> | 10     | 39      | 4    | 半丛生芽   |
| Z <sub>3</sub> | 9      | 17      | 2    | 单芽茎段   |
| Z <sub>4</sub> | 7      | 14      | 2    | 单芽茎段   |
| Z <sub>5</sub> | 10     | 10      | 1    | 未增殖而生根 |

Z<sub>1</sub> 与 Y<sub>1</sub> 配方相同,转接后仍保持一定的增殖,后期下部愈伤化加重,养分消耗在愈伤组织生长上,丛生芽不再出现,而以茎段芽类型为主。Z<sub>3</sub> 中的 GA<sub>3</sub> 可能受到高温降解的影响,作用不大,与 Z<sub>4</sub> 一样,都是单芽茎段生长,增殖系数较低<sup>[7]</sup>。

### 2.3 诱导生根情况

无论茎段长短,1 个月内都能生根,只是生根数量、生长速度略有差异。此外,加入 BA 的生根培养基前期出现下切口愈伤化,后期表现畸形症状,但也能在下切口处及茎基处生根,见表4。

表4 生根培养基生根效果比较

| 培养基            | 生根天数(d) | 茎段数(个) | 生根茎段数(个) | 株均生根数(条) | 平均根长度(cm) | 生根部位  |
|----------------|---------|--------|----------|----------|-----------|-------|
| S <sub>1</sub> | 23      | 40     | 37       | 3        | 2         | 下切口愈伤 |
| S <sub>2</sub> | 15      | 30     | 28       | 6        | 3         | 下切口   |
| S <sub>3</sub> | 10      | 40     | 40       | 7        | 4         | 下切口   |
| S <sub>4</sub> | 12      | 30     | 30       | 7        | 4         | 下切口   |

## 3 结论与讨论

3.1 通过对大叶伞外植体的选择,发现已有芽基本分化的材料才能诱导出丛生芽,增加繁殖系数,虽然

叶片、叶柄可以生根,但很难诱导出芽。说明对外植体的选择基本可以确定在有芽的茎段或嫩芽,其它组织或器官需要经过愈伤化再诱导成芽。

3.2 嫩芽诱导丛生芽的诱导率较高,可以作为外植体的首选材料,茎段为次选材料。培养基中添加激素 BA/NAA 以 2:1 较适宜,BA 为  $0.5 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 为  $0.2 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.3 培养基 MS + BA  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + B<sub>9</sub>  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的增殖系数为 4,接近组培生产要求。根据兰花等芽的诱导规律,大叶伞的诱导分化工作有待深入研究芽分化的机理,以及增殖系数与变异系数的关系<sup>[8]</sup>。

3.4 本试验得出大叶伞组培基本程序为:以嫩芽为外植体,诱导培养基为 MS + BA  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,增殖培养基 MS + BA  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + B<sub>9</sub>  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  上,生根培养基  $1/2\text{MS}$  + NAA  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

#### 参考文献:

[1] 刘燕.园林花卉学[M].北京:中国林业出版社,2003.282

- 283.

- [2] 郑玉梅,刘青林.木本观赏植物离体快速繁殖技术的进展[J].北京林业大学学报,2001,23,(增):75-82.
- [3] 周涛,张启翔.观赏花卉组织培养中外植体材料的选取[J].山东林业科技,2003,(1):43-44.
- [4] 毕艳鹃,高书国,乔亚科.植物生长调节剂对月季组培萌芽和成芽的影响[J].河北农业科技师范学院学报,1994,(3):16-24.
- [5] 傅萼辉,徐惠珠,王豫兰,等.美人梅的茎段离体培养[J].北京林业大学学报,1995,(增1):76-77.
- [6] 苗青,曲波,邵美妮,等.黄栌的组织培养研究[J].辽宁林业科技,2005,(1):16-17.
- [7] 姚立平,石文平.对组培技术应用的几点建议[J].辽宁林业科技,2005,(4):45,54.
- [8] 张明利,李清.木本观赏植物组织培养及植株再生研究进展[J].河北林业科技,2004,(2):23-26.

(责任编辑:张素清)

#### (上接第18页)

皮层:常由 3~8 层细胞组成。细胞大小不一,有少量叶绿体,细胞有间隙,棱部表皮下常为厚角组织,棱下有一个维管束。在皮层内方有数层小的厚壁细胞紧密排列构成环状的机械组织。

基本组织:细胞通常较大,胞间隙明显。

维管束:散生于基本组织中,为有限外韧维管束。通常靠近机械组织的较小,其它部位的较大。维管束有复合现象。

#### 2.5.4 叶

表皮:一层细胞,横切面呈长方形,排列紧密,具角质层,下表皮具气孔。

叶肉:细胞常 4~6 层,排列比较紧密,无栅栏组织和海绵组织分化,为等面叶,细胞内含叶绿体。

维管束:平行排列,为有限外韧维管束,较大的维管束与上下表皮间存在厚角组织,维管束外有一层薄壁细胞构成的维管束鞘。

#### 2.6 孢粉学特征

花粉长球形,极轴长  $22 \pm 0.67 \mu\text{m}$ ,赤道轴长  $58 \pm 1.26 \mu\text{m}$ ,P/E = 2.65。具单沟,沟长达两级。花粉外壁表面有网状雕纹,网眼大小形状不一致,分布比较均匀,网脊内侧有少量疣状突起。

#### 3 讨论

据汪劲武等人报道<sup>[5]</sup>,常见玉竹的茎有纵棱,叶背面光滑,雄蕊着生在花冠筒的中部或偏下。而他

们采自山东益都的玉竹标本,其茎为圆柱形而无纵棱,叶下面脉上具小突起,雄蕊着生在花冠筒的中部偏上,二者在细胞学上也存在一定差异。由此他们主张把玉竹的无棱类型与玉竹的有棱类型划分开来,独立成种。而根据我们对采自牡丹江市北山的玉竹标本进行的观察,其茎下部无棱,上部棱明显,叶背面有少量颗粒状小突起,雄蕊着生在花冠筒的中部偏上,这几项特征介于汪劲武等人所报道的有棱类型与无棱类型之间,属过渡类型。因此我们赞成《中国植物志》15 卷的观点,鉴于本种广布于欧亚大陆的温带地区,虽然变异甚大,但在对其变异规律尚未充分掌握的前提下,仍作为一个种处理为佳。

#### 参考文献:

- [1] 汪发瓚.中国植物志第 15 卷[M].北京:科学出版社,1985.61-62.
- [2] 傅沛云,孙启时.东北草本植物志第 12 卷[M].北京:科学出版社,1998.160-162.
- [3] 曲秀春,马玉心,马书荣,等.黑龙江省植物志第 10 卷[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,2002.113-115.
- [4] Walkel J W, Doyle J A. The bases of angiosperm phylogeny: palynology[J]. Ann MO Bot Gard, 1975,62: 664-723.
- [5] 汪劲武,杨继,李懋学.玉竹复合体的研究[J].植物分类学报,1988,26(3):165-172.

(责任编辑:苑辉)