

## 翡翠珠组织培养技术的研究

李京,白卉,曹焱

(黑龙江省林业科学研究所,哈尔滨 150081)

**摘要:**以翡翠珠腋芽为实验材料,研究了翡翠珠组织培养的适宜条件。试验表明,翡翠珠的最佳继代培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L +KT 1.0 mg/L +NAA 0.02 mg/L,增殖系数达 5.37 倍;最适生根培养基为 WPM+IBA 0.1mg/L,生根率达 54.6%。

**关键词:**翡翠珠;组织培养

## A Study on the Tissue Culture Technique in *Senecio rowleyanus* Jacobsen

Li Jing, Bai Hui, Cao Yan

(Heilongjiang Forestry Research Institute, Harbin 150081)

**Abstract:** By using axillary bud of *Senecio rowleyanus* Jacobsen as material, the experiment was made to find out the best culture process and the proper culture medium. The technical system of tissue culture for propagation was established. The results show that the optimal subculture medium is MS+6-BA 0.5 mg/L +KT 1.0 mg/L +NAA 0.02 mg/L, the multiplication rate clumps is 5.37. The best rooting medium is WPM+IBA 0.1mg/L, and the rooting rate is up to 54.6%.

**Key word:** *Senecio rowleyanus* Jacobsen; tissue culture

翡翠珠(*Senecio rowleyanus* Jacobsen)又名珠峰千里光,为多年生常绿匍匐肉质草本植物,原产南非南部<sup>[1]</sup>。茎纤细,全株被白色皮粉,叶互生,较疏,圆心形,深绿色,肥厚多汁,极似珠子,故有佛串珠、绿葡萄、绿之铃之美称。目前,翡翠珠采用常规繁殖极其困难,因此本文中利用组织培养技术对其进行繁殖,以解决这一问题。

### 1 试验材料与方法

#### 1.1 试验材料

选取生长健壮无病株的带腋芽茎条切段作为外殖体。

#### 1.2 研究方法

1.2.1 外殖体的表面消毒。采回的茎条,先整段用适量洗涤剂认真清洗后,自来水冲洗干净,剪成几大段,备用。在超净工作台上将实验材料用 70%酒精浸 20s, 0.1%升汞灭菌 3~5min, 无菌水冲洗干净,最后分切为 1.0cm 切段,用无菌滤纸吸干表面水分进行接种。

1.2.2 培养基及培养条件。以 MS, 1/2MS, WPM 为基本培

### 3 讨论

利用组织培养快繁技术,通过外源激素(植物生长调节剂)处理使甜叶菊增殖和生根,这样不仅可以提高种苗繁殖速度和倍数,提高种苗质量,也是保持品种典型性的最佳方式。在快速繁殖过程中,外源激素的种类及其浓度不同,对外殖体的脱分化或再分化方向有较大的影响,这与前人在白头翁和红景天等所报道的结果是一致的<sup>[7,8,9]</sup>。在甜叶菊增殖培养中,筛选出最适的增殖培养基为 MS+BA 0.4mg/L+NAA 0.1mg/L,说明甜叶菊的增殖受 BA 和 NAA 协同作用,只有当 BA 和 NAA 浓度适当时,才能达到甜叶菊的增殖与芽的素质相统一,否则对甜叶菊的快速繁殖有不利的影响。虽然 NAA 和 IBA 都可使甜叶菊生根,但是最适宜的生根培养基为 MS+IBA 0.25mg/L。

总之,在甜叶菊组培中植物激素对器官分化起着非常重要的作用,尤其是细胞分裂素与生长素的比值,对组织分化的方向起决定性作用,本试验仅对甜叶菊对各种激素适宜浓度范围及其比例进行了初步探索,其最佳的快速繁殖技术体系有待进一步完善。

### 参 考 文 献

[1] 何毓娟,李元彬.发展甜叶菊生产大有可为[J].中国糖料,

- 1997,(1),54-60.
- [2] 李晓瑜.甜菊糖苷的安全性研究进展.中国食品添加剂[J],2003,(2):5-11.
- [3] 陈德昌.高科技发展甜菊产业[J].中国糖料,2005,(01):60-61.
- [4] 胡献丽,董文宾,郑丹,等.甜菊及甜菊糖研究进展[J]食品研究与开发,2005,26(1):36-38.
- [5] 韩玉林,黄苏珍,汪鸿江,等.甜菊扦插繁殖快速成苗的研究[J].特产研究,2001,23(2):36-37.
- [6] 吴广文,王其斌,简善亮,等.甜菊杂种优势利用和制种技术研究[J].安徽农学通报,2005,11(1):73-74.
- [7] 张子学,丁为群,唐勇,等.白头翁组织培养研究[J].中国中药杂志,2004,29(3):215-218.
- [8] 盛长忠,胡铁强,毕浩,等.植物生长物质对红景天愈伤组织诱导和培养的影响[J].中国中药杂志,2005,30(16):1237-1240.
- [9] 崔广荣,刘云兵,张俊长,等.文心兰组织培养的研究[J].园艺学报,2004,31(2):253-255.

作者简介:张子学(1956—),男,安徽省砀山县人,副院长,教授,农学专业,获省科技进步三等奖 1 项,市科技进步一等奖 1 项,长期从事药用植物的组织培养工作,发表论文 20 余篇。E-mail:zhzxue@163.com

培养基,分别加入不同质量浓度的 IAA, NAA, IBA, 6-BA 和 KT。每处理中加蔗糖 20g/L, pH5.8, 琼脂 5.5g/L。培养温度为(22±2)℃, 湿度 70%, 每日光照 12h, 光照强度 1500~1800 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 无菌培养的建立

将已灭菌的试验材料接种到 MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.02mg/L 培养基上, 进行诱导培养, 外植体接种 10d 后, 腋芽开始萌动、伸长, 接种 26d 后长出带叶丛芽。

### 2.2 增殖培养基的筛选

#### 2.2.1 基本培养基的筛选及对茎丛生长的影响

为了得到最适的培养基, 进行了不同基本培养基中茎丛生长对比试验(表 1)。在外源激素(KT1.0mg/L, IAA 0.02mg/L)相同的 MS、WPM、NT 的培养基上培养 35d, 从苗高及产生不定芽个数看, MS 培养基优于其它基本培养基。这表明翡翠珠的生长需要较高的盐浓度, 当盐浓度低时, 会抑制其生长分化。

表 1 基本培养基对茎丛生长的影响

基本培养基	接种外植体	35d 的生长量/cm	平均每个外植体分化数	备注
MS	50	1.50	4.56	茎节较短, 枝条粗壮, 叶片深绿饱满
NT	50	1.48	2.12	茎节较短, 枝条纤细, 叶片浅绿色
WPM	50	1.63	1.84	茎节较长, 枝条纤细, 叶片浅绿色

#### 2.2.2 植物激素对茎丛生长的影响

在植物组织培养中起重要作用的激素主要是生长素和细胞分裂素, 高水平的细胞分裂素倾向于诱导不定芽形成, 也使侧芽增生加速, 结果形成过于细密的不定芽, 同时嫩芽的质量下降, 不利于下一步的生根和种植到土壤或介质中。因此, 在力求提高嫩茎质量兼顾有较多数量的情况下, 必须减少细胞分裂素的用量<sup>[2]</sup>。

表 2 植物激素对茎丛增殖生长的影响

试验序号	激素/mg·L <sup>-1</sup>	处理数	增殖倍数	35d 平均苗高/cm
1	6-BA 0+KT 0+NAA 0	25	1.26	1.41
2	6-BA 0+KT 1.0+NAA 0.01	25	3.32	1.93
3	6-BA 0+KT 2.0+NAA 0.02	25	3.52	1.02
4	6-BA 0.5+KT 0+NAA 0.01	25	4.66	2.16
5	6-BA 0.5+KT 1.0+NAA 0.02	25	5.37	1.96
6	6-BA 0.5+KT 2.0+NAA 0	25	4.07	1.43
7	6-BA 1.0+KT 0+NAA 0.02	25	4.68	1.26
8	6-BA 1.0+KT 1.0+NAA 0	25	4.39	1.20
9	6-BA 1.0+KT 2.0+NAA 0.01	25	4.05	1.77

本试验培养基中附加不同浓度的 6-BA、KT、NAA 结果见表 2。在试验过程中发现, 培养基中加入 6-BA 可明显提高腋芽分化率, 但浓度过高(1.0 mg/L)会诱导产生大量的愈伤组织, 影响茎丛的分化。培养基中只加入 6-BA 分化得到的

茎丛茎纤细, 叶片薄, 而加入较低浓度的 KT(1.0mg/L)分化得到的茎丛茎粗壮, 叶片厚实, 但浓度过高(2.0mg/L)又会明显地降低分化率。接种 35d 后, 通过对比不同激素组合的平均增殖倍数和平均苗高两个考核指标, 并结合试验中观察到的生长状况, 确定最佳激素组合为 BA0.5 mg/L + KT1.0 mg/L + NAA0.02 mg/L。

### 2.3 生根培养基的筛选

选取丛生芽中高 2cm 以上的壮苗, 转入生根培养基培养。生根培养的目的是使初培养和芽的增殖这两个阶段培养的无菌苗生出不定根, 并使苗继续生长。在大多数植物中, 低盐的培养基对生根的效果好。在植物的再生植株生根诱导过程中, 生根剂的效果是很明显的<sup>[3,4]</sup>。因此诱导生根选择低盐浓度的 WPM 为基本培养基, 附加不同浓度的 IBA、NAA 和 IAA。筛选适宜生根培养基的试验设计水平和观察结果见表 3。试验中观察到接种 5~10d 后, 无根苗基部膨大, 形成少量黄白色致密愈伤组织; 10d 左右, 从愈伤组织基部长出白色的幼根。

表 3 不同浓度的生长素对翡翠珠生根的影响

生长素	浓度/mg·L <sup>-1</sup>	开始生根/d	生根/条	根长/cm	生根率/%	幼苗生长量/cm
CK	0.00	15	0~1	1.5	8.2	1.4
	0.05	12	1~2	3.6	15.4	1.8
IBA	0.10	8	3~6	2.9	54.6	3.1
	0.20	8	3~4	3.0	22.1	2.7
NAA	0.05	14	1~2	4.4	21.4	3.8
	0.10	9	2~4	3.8	46.8	3.4
IAA	0.20	10	2~4	3.4	41.5	3.4
	0.05	12	1~3	2.0	10.5	1.6
IAA	0.10	7	2~5	2.6	35.7	2.2
	0.20	9	2~3	1.8	30.2	1.9

### 2.4 试管苗的炼苗与移栽

将生根试管苗在室温散射光下培养 3d, 打开封口膜于温室大棚炼苗 7d 后, 将试管苗轻轻从培养基中取出, 洗去根部培养基, 移栽至蛭石: 腐殖土(1:1)混合的基质中进行培养。30d 后成活率为 74.8%。

## 3 结论

3.1 在增殖培养阶段, 以 MS+6-BA0.5 mg/L + KT1.0 mg/L + NAA0.02 mg/L 这一组合增殖效果为最理想。

3.3 在生根培养阶段, 以 WPM+IBA0.1mg/L 生根效果最好。

3.4 利用激素可促进腋芽的快速形成, 从而使嫩茎获得增殖, 这是快繁的一个重要途径。本试验选择该途径繁殖速率较快, 繁殖系数较高, 遗传性状稳定。

## 参考文献

- [1] 中国园林网. www.YUANLIN.com
- [2] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000.
- [3] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986.
- [4] 徐虹, 梁宗锁. 沙棘组织培养技术的研究[J]. 西北植物学报, 2001, 21(2): 267-272.