

长蕊丝石竹组织培养及无性系的建立

刘玲绯, 方晨, 许文一, 周德茂, 姜长阳*

(辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁 大连 116029)

摘要:以具有腋芽的嫩茎为材料,对长蕊丝石竹组织培养及无性系建立进行了研究。结果证明:1/2MS + BA 0.2 mg/L + IAA 0.2 mg/L 是诱导腋芽生长的理想培养基;1/2MS + AgNO₃ 0.5 mg/L + BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 是不定芽分化理想培养基;1/3MS + IAA 0.4 mg/L 是生根的理想培养基;炉灰渣是试管苗移栽的理想基质;移植到山坡上的试管苗保持了有利变异性状。

关键词:长蕊丝石竹;无性系;快速繁殖

中图分类号:Q949.745.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-4942(2008)08-0011-03

Tissue Culture and Clone Establishment of *Gypsophila oldhamiana*

LIU Ling-fei, FANG Chen, XU Wen-yi, ZHOU De-mao, JIANG Chang-yang*

(College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China)

Abstract The experiment was conducted to study the technique of tissue culture and the establishment of clone for *Gypsophila oldhamiana*. The results indicated that the ideal medium for induction and differentiation of buds from stem segments were 1/2MS + BA 0.2 mg/L + IAA 0.2 mg/L and 1/2MS + AgNO₃ 0.5 mg/L + BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L respectively. The medium of 1/3MS + IAA 0.4 mg/L was suitable for root growth. The ashes dregs was the ideal matrix for transplanting the test tube seedlings. The test tube seedlings transplanted on the hillside maintained the advantageous variation character.

Key words *Gypsophila oldhamiana*; Clone; Rapid propagation

长蕊丝石竹(*Gypsophila oldhamiana*)又叫欧石头花、霞草、山蚂蚱菜、石头花,属石竹科丝石竹属多年生草本植物,生长于向阳山坡、山顶、海滨荒山及沙坡地等处,我国的华北、东北均有分布^[1,2]。长蕊丝石竹根的生物碱含量达2.75%,作为药用,具有活血化瘀、消肿止痛、化腐生肌、解热清血等功效,能治跌打损伤、阴虚劳疾、潮热、烦温、骨蒸、骨折、盗汗、外伤等疾病^[3];根的水浸液可用作蚜虫、红蜘蛛、地老虎等害虫的杀虫剂;嫩茎、叶既可作为猪等家养动物的青饲料,也可作为野菜食用。由于长蕊丝石竹具有多种药用、食用价值,近年来人们进行大肆采收,使长蕊丝石竹分布锐减,于是开始进行人工种植。但由于种子和种苗很难采集,影响了长蕊丝石竹的种植。在对大连地区长蕊丝石竹进行的调查中,发现1株生

长旺盛、每年可采收4次嫩茎叶、单株收获量增加20%~30%的变异植株。但该植株在自然条件下不能进行无性繁殖,本身又难以结子。我们对该株进行了组织培养和无性系建立的研究,以期使该株得到保存,并获得大量种苗,满足人们种植的需要。

1 材料与方法

1.1 材料及灭菌

把变异的长蕊丝石竹采回,切去叶片,将顶芽和侧芽的嫩茎放到磨口广口瓶中,用自来水冲洗20 min后,用0.05%安利洗涤剂振荡洗涤20 min左右,再洗至没有泡沫时移到超净工作台上,用75%乙醇灭菌10 s后,迅速用无菌水洗涤3次,用0.1% HgCl₂溶液振荡灭菌1 min,再用0.025%

HgCl₂ 继续振荡灭菌 12 min。接着用无菌水振荡洗涤 7 次,即得无菌材料。

1.2 培养条件

以 1/2MS 和 1/3MS 为基本培养基,附加不同浓度的细胞分裂素 BA 和生长素 IAA、NAA、2,4-D。以 1/2MS 为基本培养基时,加蔗糖 15 g/L;以 1/3MS 为基本培养基时,加蔗糖 10 g/L。培养基胍力强度为 180 g/cm²[4],pH5.8~6.0,培养条件 18~26℃,光照 12 h/d,光照强度 2 500 lx。

1.3 试验方法

1.3.1 不同激素对腋芽生长培养的影响 将无菌嫩茎切成长 0.2~0.3 cm 的具有腋芽和顶芽的茎段,接种到以 1/2MS 为基本培养基,附加 BA 0.2 mg/L,IAA 0.2、0.4、0.6、0.8 mg/L 4 种培养基上进行腋芽的生长培养,每种培养基接种 20 个腋芽或顶芽,60 d 时观察统计。

1.3.2 不同激素对芽分化培养的影响 将“1.3.1”培养的芽,剪成具有顶芽或 1~2 个腋芽的茎段,接种到以 1/2MS + AgNO₃ 0.5 mg/L 为基本培养基,附加不同浓度的 BA、NAA、IBA 的培养基上进行芽的分化培养,每种培养基接种 50 个材料,40 d 时观察统计。

1.3.3 不同激素对生根培养的影响 将“1.3.2”培养的 1 cm 以上的不定芽从基部剪下,接种到以 1/2MS 和 1/3MS 为基本培养基,附加不同浓度 IAA、IBA 的生根培养基上进行生根培养。每种培养基接种 50 个材料,培养 25 d 时观察统计。

1.3.4 不同移栽基质对成活率的影响 将生根苗培养瓶瓶塞打开,置于光照 4 000~5 000 lx、20℃左右的条件下炼苗 3 d 后取出,洗去基部培养基,移栽到上面铺着约 6 cm 园土、河沙、炉灰渣和珍珠岩 4 种基质的温室苗床上。25 d 后观察统计。

2 结果与分析

2.1 腋芽的生长培养

试验结果表明,在 4 种培养基上腋芽都能生长。其中,在 1/2MS + BA 0.2 mg/L + IAA 0.2 mg/L 培养基上,腋芽的生长率达到了 100%,且生长快而旺盛。将在这一培养基上诱导生长的芽剪成具有顶芽或 1~2 个腋芽的茎段,在相同培养

基上进行继代培养,30 d 又能生长成高 2~3 cm 的芽,连续 3 次试验、共 13 代继代培养,培养芽的长势保持不变。表明 1/2MS + BA 0.2 mg/L + IAA 0.2 mg/L 是诱导长蕊丝石竹腋芽生长的理想培养基。

2.2 芽的分化培养

由表 1 可见,在 BA 浓度为 0.5 mg/L、NAA 浓度为 0.1 mg/L 的培养基上,分化率为 100%,且单芽分化的不定芽数达到 5.8 个,不定芽呈丛生状、高度为 1~3 cm、长势好。把分化的不定芽剪成具有顶芽或 1~2 个腋芽的茎段,接种到相同的培养基上进行继代分化培养,连续培养 9 代,其不定芽分化率、单芽分化数和分化芽长势基本保持不变,但继代培养周期缩短为 30 d。表明 1/2MS + AgNO₃ 0.5 mg/L + BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 是长蕊丝石竹不定芽分化培养的理想培养基。

表 1 不同培养基对芽分化的影响

BA (mg/L)	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)	分化 芽数	分化率 (%)	每株平均分 化不定芽数	长势
0	0	0	0	0	0	
0	0.1	0	0	0	0	
0.1	0.1	0	28	56	1.3	++
0.5	0.1	0	50	100	5.8	+++
1.0	0.1	0	39	78	5.5	++
1.5	0.1	0	25	50	3.7	++
0	1.0	0	0	0	0	
0.1	1.0	0	0	0	0	
0.5	1.0	0	0	0	0	
1.0	1.0	0	0	0	0	
1.5	1.0	0	0	0	0	
0	0	0.1	0	0	0	
0.1	0	0.1	18	36	1.2	++
0.5	0	0.1	35	70	1.7	+
1.0	0	0.1	26	52	2.9	+
1.5	0	0.1	19	38	1.1	+
0	0	1.0	0	0	0	
0.1	0	1.0	0	0	0	
0.5	0	1.0	0	0	0	
1.0	0	1.0	0	0	0	
1.5	0	1.0	0	0	0	

注:+++好;++较好;+一般

2.3 生根培养

由表 2 可见,在附加 IBA 的生根培养基中,诱导生根率较低,根的长势较差。在浓度分别为 0.1、0.4、0.9、1.3 mg/L 的 IAA 生根培养基上都能诱导生根。其中,在 IAA 浓度为 0.4 mg/L

的 1/3MS 生根培养基上,不仅生根率达 100%,而且单株平均生根数达到了 7.2 条,试管苗长势旺盛,培养至 25 d 时,试管苗株高为 4 cm 左右、根 7 条以上。将在这一培养基上生长的试管苗剪成具有 1~2 个生长点、长 1 cm 左右的茎段,插于相同的生根培养基上进行生根继代培养,20 d 时又可长成高 4~5 cm 的生根试管苗。连续 12 代生根继代培养,试管苗的长势保持不变。采用这种方法进行繁殖,20 d 的增殖系数为 3.4 倍,并且繁殖的试管苗生长旺盛,没有无效苗。试验表明,1/3 MS + IAA 0.4 mg/L 是长蕊丝石竹试管苗生根培养的理想培养基。

表 2 不同生长素对生根的影响

IAA (mg/L)	IBA (mg/L)	生根数	生根率 (%)	根数/株	长势
0	0	0/0	0/0	0/0	
0.1	0	28/21	56/42	3.1/5.9	+++ / +++
0.4	0	48/50	96/100	4.3/7.2	+++ / +++
0.9	0	15/22	30/44	2.9/2.6	++ / ++
1.3	0	11/16	22/32	1.2/2.1	+ / +
0	0.1	7/7	14/14	1.9/1.5	+ / +
0	0.4	13/16	26/32	1.4/1.4	+ / +
0	0.9	3/5	6/10	1.1/1.3	+ / +
0	1.3	0/0	0/0	0/0	

注:“/”前为 1/2MS,后为 1/3MS;+++好;++较好;+较差

2.4 移栽

由表 3 可见,以炉灰渣为移栽基质不仅成活率高,而且长势较好。经过 4 次移栽试验,结果都证明炉灰渣是长蕊丝石竹试管苗移栽的理想基质。把在温室中移栽成活的试管苗,先后 3 次小批量移植到利于野生苗生长的附近山坡上,结果表明:与自然状态的野生长蕊丝石竹相比,变异植株试管苗具有生长非常旺盛、每年可采收 4 次嫩茎叶、嫩茎叶的采收量增加 28% 等特点,同时移植到山坡上的试管苗根系。相当于非变异植株的 2 倍。

表 3 不同基质对试管苗移栽成活的影响

基质	移栽数	成活数	成活率 (%)	长势
园土	50	0	0	
河沙	50	35	70	+++
炉灰渣	50	49	98	+++
珍珠岩	50	28	56	++

注:+++好;++较好;+一般

3 讨论

虽然目前已多有石竹科植物及长蕊丝石竹组

织培养的报道^[2-11],但迄今未见石竹科野生有利变异植株组织培养及无性系建立的报道。本研究以自然界野生变异长蕊丝石竹嫩茎的顶芽和腋芽为材料,能以较高分化率分化出不定芽,表明长蕊丝石竹嫩茎上的腋芽在离体条件下仍具有较强的生长分化能力。

移植到山坡上的有利变异植株试管苗,仍保持着生长非常旺盛、每年可采收 4 次嫩茎叶、嫩茎叶采收量增加,说明通过人工方法繁殖的变异长蕊丝石竹试管苗,能够使有利变异性状得到保持,使长蕊丝石竹的有利变异种质得到保存。

对芽进行分化继代培养,30 d 每个芽可分化出 5.8 个芽,按照此增殖速度,年增殖率为 5.8¹²。用生根继代培养方法进行增殖培养,20 d 的增殖系数为 3.4,年增殖率为 3.4¹⁸。这表明,不论采用不定芽继代分化增殖方法进行快速繁殖,还是采用生根继代的方法快速繁殖,一年内可生产大量变异长蕊丝石竹试管苗。从试管苗的长势和有效苗比率的角度看,以生根继代方法进行繁殖更有利于生产。野外小批量移栽变异长蕊丝石竹试管苗试验也证明了这一点。因此,用生根继代方法繁殖变异长蕊丝石竹试管苗,可以满足生产上对变异长蕊丝石竹种苗的需求。

参 考 文 献:

- [1] 中国科学院植物研究所主编. 中国高等植物图鉴(第一册)[M]. 北京:科学出版社,1972,624.
- [2] 辽宁省林业土壤研究所主编. 东北草本植物志(第三卷)[M]. 北京:科学出版社,1975,51.
- [3] 李书心主编. 辽宁植物志(上册)[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1988,410-411.
- [4] 安利佳,姜长阳. 植物组织培养导论[M]. 大连:辽宁师范大学出版社,1988,28-30.
- [5] 哈梅娟,张生清. 香石竹无性繁殖技术研究[J]. 北京:中国农学通报,2002,18(2):56-58.
- [6] 李霞,余永梅,樊慧. 中国石竹离体快繁技术研究试验[J]. 石河子科技,2003,2:14-15.
- [7] 周丹丽. 香石竹茎尖培养及快速繁殖[J]. 园林花卉,2001,29(3):41.
- [8] 贾芬,黄宇翔. 须苞石竹的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,1994,30(6):436.
- [9] 林荣呈,包满珠. 香石竹的叶片培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯,1996,32(6):205-206.
- [10] 李瑶,王利华,叶鸣明,等. 影响石竹试管苗玻璃化的因素[J]. 植物生理学通讯,1997,33(4):256-258.
- [11] 王淑芬,衣彩洁. 覆草的组织培养[J]. 北京工业大学学报,1999,25(1):68-71,81.
- [12] 王秀丽,杨煜,徐平丽,等. 植物组织培养应用进展[J]. 山东农业科学,2005,3:78-80.
- [13] 张梅,孙治军,杨首军. 多效唑(PP-333)在马铃薯组培快繁中的应用[J]. 山东农业科学,2006,6:4-6.