

马蔺的组织培养及无性系建立的研究

刘孟颖,高洋,于世达,徐娜,姜长阳

(辽宁师范大学生命科学学院,辽宁大连 116029)

摘要:以马蔺的根茎不定芽为材料,成功地进行了马蔺根茎离体不定芽的生长、生长不定芽的分化、试管苗的生根、移栽、定植的研究,建立起马蔺的无性系。结果证明:1/2MS + GA 0.5 mg/L + BA 0.3 mg/L + IAA 0.5 mg/L 是诱导根茎不定芽生长的理想培养基;MS + GA 0.2 mg/L + BA 0.6 mg/L + IAA 0.3 mg/L 是生长不定芽分化培养的理想培养基;1/3MS + IAA 0.4~0.6 mg/L 是生根培养的理想培养基;炉灰渣是试管苗移栽的理想基质。

关键词:马蔺;组织培养;无性系

中图分类号:Q813

文献标识码:A

马蔺(*Iris lactea* var. *chinensis* Koidz), 鸢尾科、鸢尾属多年生密丛草本植物。又称马莲、玉蝉花、花菖蒲、紫花鸢尾、东北鸢尾^[1,2]。马蔺的线形叶片和叶鞘纤维非常发达,可以用于造纸和捆绑物品;马蔺全株都具有药用价值,具有清热解毒、止血利尿、通淋杀虫等功效,能治风湿痹痛、痈疽、吐血、小便不通等疾病^[3]。马蔺由于具有耐旱、耐寒、抗病等很强的适应性等特点,所以近年来已成为被广泛关注的很有发展前景的城乡绿化植物^[4,5]。但是,由于马蔺分布少而零散,从野外挖取用于绿化不仅破坏了生态环境,而且也难以满足人们绿化栽培的需要;同时,野生的马蔺形成的种子较少,且发芽率很低,所形成的种子又往往被人们采集为药用或出售,因此,通过采集野生马蔺种子的方法无法满足人们绿化栽培的需要。为此,我们对马蔺进行了组织培养及无性系建立的研究,以满足人们的需要。

1 材料与方 法

1.1 材料及灭菌

于9月下旬将田间生长旺盛的马蔺植株生长地点做上标记,翌年4月上旬把标记的马蔺根茎挖回来,去掉须根和根系后,将根茎放到500 ml磨口广口瓶中,用自来水冲洗3~4次后,用0.05%安利洗涤液振荡洗涤20 min,洗至没有泡沫时置于超净工作台上,用75%乙醇灭菌20 s后,迅速用无菌水洗涤3次,接着用0.1% HgCl₂溶液振荡灭菌2 min,再加入等体积无菌水,继续振荡灭菌12 min。再用无菌水振荡洗涤5次,即获得无菌材料。

1.2 培养条件

培养基以MS、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MS为基本培养基时,加蔗糖30 g/L;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。培养基胂力强度为180 g/cm²^[6],pH5.6~5.8,培养条件20~28℃,光照10~12 h/d,光照度2 000~4 000 lx。

2 结果与分析

2.1 不定芽的生长培养

将无菌根茎上的不定芽挖出,接种到以1/2MS + GA 0.5 mg/L(单位下同略) + BA 0.3 mg/L基本培养基,分别附加IAA 0.1、IAA 0.5、IAA 1、NAA 0.1、NAA 0.5、NAA 1六种培养基上进行不定芽的生长培养,20 d时不定芽开始生长,50 d后观察统计表明,附加NAA三种培养基上的不定芽都不能生长,而附加IAA的三种培养基上的不定芽都能生长。其中在1/2MS + GA 0.5 + BA 0.3 + IAA 0.5这一培养基上,不仅不定芽的生长率达到了95%,而且不定芽生长快而旺盛。培养到70 d时,在这种培养基上接种的每个不定芽就会生长成2~3个不定芽组成的芽丛。在上述实验的基础上,又先后5次进行了将无菌根茎上的不定芽接种到1/2MS + GA 0.5 + BA 0.3 + IAA 0.5的实验,结果都证明,1/2MS + GA 0.5 + BA 0.3 + IAA 0.5是诱导马蔺根茎不定芽生长的理想培养基。

2.2 不定芽的分化培养

将在1/2MS + GA 0.5 + BA 0.3 + IAA 0.5培养生长的不定芽,接种到以MS + GA 0.2为基本培养基,附加不同浓度的BA、IAA、NAA的培养基上进行生长不定芽的分化培养,培养到20 d左右时开始分化,40 d时观察统计。由表1可见,在BA浓度为0.3~1.2、IAA浓度为0.3的培养基上,均可诱导生长不定芽分化。其中在BA浓度为

• 收稿日期:2007-09-16

作者简介:刘孟颖(1986-),女,辽宁营口市人,辽宁师范大学生命科学学院在读本科生。

通讯作者:姜长阳(1954-),男,辽宁大连人,辽宁师范大学生命科学学院教授

0.6、IAA 浓度为 0.3 的培养基上不仅不定芽分化率为 96%，分化不定芽呈丛生状，而且单芽平均分化数达到 5.2，分化不定芽高度为 3~4 cm，长势好；把分化的丛生不定芽切成单芽，接种到相同的培养基上进行继代培养，连续培养 11 代，不仅其不定芽的生长分化速度、不定芽的分化率、单芽分化数保持不变，而且分化不定芽的生长旺盛、几乎没有无效不定芽。这说明 MS + GA 0.2 + BA 0.6 + IAA 0.3 是马蔺培养生长不定芽分化培养的理想培养基。

2.3 生根培养

将上述分化培养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、NAA 和 2,4-D 的生根培养基上进行生根培养。培养到 10d 时的培养基上可见形成根原基，培养到 25 d 时观察统计。

由表 3 可见，在附加 NAA 或 2,4-D 的生根培养基中，不能诱导生根；在 IAA 浓度达到或超过 1.0 时，也难以诱导生根；而在 IAA 浓度为 0.4~0.6 的 1/3MS 生根培养基上，不仅生根率达 95% 以上，而且单株生根数也达到 5.8 条以上。观察还表明，在 IAA 浓度为 0.4~0.6 的 1/3 MS 生根培养基上，不仅生根率高、根数多，而且试管苗长势旺盛。在这一培养基上继续培养 10 d 左右，可以长成株高为 6 cm 左右、具有 0.3~1 cm 根茎、根茎上生长着 7 条以上须根的试管苗。经过 13 次在 1/3MS + IAA 0.4~0.6 这一培养基上的生根培养证明，在这一培养基上进行生根培养，不仅试管苗的根茎、须根和长势保持不变，而且试管苗生长旺盛，没有无效苗。上述证明，1/3MS + IAA 0.4~0.6 是马蔺试管苗生根培养的理想培养基。

表 1 不同培养基对分化的影响

BA (mg/L)	IAA (mg/L)	NAA (mg/L)	接种数 (个)	分化芽数 (个)	分化率 (%)	平均分化 不定芽数	长势
0	0	0	50	0	0	0	
0	0.3	0	50	0	0	0	
0.3	0.3	0	50	15	30	3.3	+++
0.6	0.3	0	50	48	96	5.2	+++
0.9	0.3	0	50	23	46	4.1	++
1.0	0.3	0	50	9	18	3.6	+
1.2	0.3	0	50	3	6	1.4	+
0	0.6	0	50	0	0	0	
0.3	0.6	0	50	9	18	1.7	+
0.6	0.6	0	50	0	0	0	
1.0	0.6	0	50	0	0	0	
1.2	0.6	0	50	0	0	0	
0	0	0.3	50	0	0	0	
0.3	0	0.3	50	0	0	0	
0.6	0	0.3	50	0	0	0	
0.9	0	0.3	50	0	0	0	
1.0	0	0.3	50	0	0	0	
1.2	0	0.3	50	0	0	0	
0	0	0.6	50	0	0	0	
0.3	0	0.6	50	0	0	0	
1.0	0	0.6	50	0	0	0	
1.2	0	0.6	50	0	0	0	

注：+++ 长势好；++ 长势较好；+ 长势一般

表 2 不同培养基对生根的影响

IAA (mg/L)	NAA (mg/L)	2,4-D (mg/L)	生根数 (个)	生根率 (%)	平均根数 (条)	长势
0	0	0	0/0	0/0	0/0	
0.2	0	0	18/20	45/50	2.8/2.9	++/+++
0.4	0	0	36/38	90/95	5.8/7.2	++/+++
0.6	0	0	36/39	90/97.5	6.2/7.8	+++ / +++
0.8	0	0	22/23	55/57.5	3.4/4.6	+/+++
1.0	0	0	2/3	5/7.5	1.5/3.5	+/+
1.2	0	0	0/1	0/2.5	0/1	/+
0	0.2	0	2/2	10/10	1.5/2	+/+
0	0.4	0	0/0	0/0	0/0	
0	0.6	0	0/0	0/0	0/0	
0	0.8	0	0/0	0/0	0/0	
0	1.0	0	0/0	0/0	0/0	
0	1.2	0	0/0	0/0	0/0	
0	0	0.2	0/0	0/0	0/0	
0	0	0.4	0/0	0/0	0/0	
0	0	0.6	0/0	0/0	0/0	
0	0	0.8	0/0	0/0	0/0	
0	0	1.0	0/0	0/0	0/0	
0	0	1.2	0/0	0/0	0/0	

注：(1) 接种数均为 40；(2) “/” 前为 1/2MS，后为 1/3MS；(3) +++ 好；++ 较好；+ 一般

2.4 移栽

将生根苗培养瓶瓶塞打开,置于光照约4 000~5 000 lx、温度20℃左右的条件下炼苗3~4 d后,用镊子取出,洗去基部培养基,移栽到上层覆盖着不同基质的温室苗床上。在保持没有直射光、湿度90%以上、温度20℃以上的条件下,14 d时可见成活并开始生长;25 d时观察统计。由表3可见,以河沙、炉灰渣为移栽基质成活率较高,且长势较好。观察还表明,以炉灰渣为移栽基质时,不仅成活率最高,而且成活苗生长旺盛。这说明炉灰渣是马蔺试管苗移栽的适宜基质。

把在温室内移栽成活的试管苗,与5月上旬移植到田间(露地)。经过3年小批量的试验观察证明,定植于田间的试管苗成活率几乎为100%,除了前两个月长得较慢、植株较小外,后期与同期定植的野生植株相比,试管苗具有植株生长非常整齐旺盛、叶色浓绿、根茎与须根增加1倍、秋天枯萎时间延迟7 d左右的特点。

表3 不同移栽基质对成活的影响

基质	移栽数	成活数	成活率 (%)	长势
园土	200	16	8	+++
河沙	200	186	93	+++
炉灰渣	200	192	96	+++
珍珠岩	200	46	23	+

注:+++好;+一般

3 讨论

尽管目前已多有鸢尾科鸢尾属植物组织培养的报道^[7-10],但迄今未见马蔺组织培养及无性系建立的报道。本研究以马蔺的根茎不定芽为材料,成功地进行了马蔺根茎离体不定芽的生长,不定芽的分化,试管苗的生根、移栽、定植的研究,并建立起马蔺的无性系。

在MS+GA 0.2+BA 0.6+IAA 0.3这一培养基上对生长的不定芽进行分化培养,40 d的分化系数为4.89,按照这个速度一年可以繁殖出5.29个后代,可以达到快速繁殖、满足人们生产需要的目的。

移植到田间的试管苗呈现植株生长非常整齐旺盛、叶色浓绿、根茎与须根增加1倍、秋天枯萎时间延迟7 d左右的特点。这一方面与我所采用试验材料是选择了生长旺盛的材料有关,另一方面还与在培养中使用较高浓度的生长素,使生根试管苗体内生长素的含量较高,移植到田间后,生长素仍在发挥着后效作用有关。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 579.
- [2] 李书心. 辽宁植物志(下册)[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1991: 775.
- [3] 冉先德. 中华药海[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1993: 231~232.
- [4] 齐春晖. 鸢尾植物在园林中的应用[J]. 北京: 中国花卉园艺, 2003, (19): 53~54.
- [5] 牟少华, 韩蕾, 孙振元, 等. 鸢尾植物马蔺的研究现状与开发应用[J]. 莱阳农学院学报, 2005, 22(2): 125~128.
- [6] 姜长阳. 培养基琼脂用量的商榷[J]. 植物生理学通讯, 1990, 16(2): 53~54.
- [7] 孙桂弟, 谢明云, 韩玉林, 等. 杂种鸢尾的组织培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(6): 36~38.
- [8] 黄苏珍, 韩玉林, 谢明云. 德国鸢尾的组织培养[J]. 江苏林业科技, 2000, 8(27): 37~38.
- [9] 黄苏珍, 居丽. 荷兰鸢尾的组织培养[J]. 植物资源与环境, 1999, 8(3): 48~52.
- [10] 陈德芬. 外缘激素对鸢尾组织培养的影响[J]. 天津农业科学, 1997, 3(3): 18~20.

Study on Tissue Culture and Establishment of Asexual System of Chinese Iris

LIU Meng-ying, GAO Yang, YU Shi-Da, XU Na, JIANG Chang-yang

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

Abstract: Using the *Iris lactea* var. *chinensis* Koidz rhizomes as explant, tissue culture and clones of *Iris lactea* var. *chinensis* Koidz were established in order to study the different conditions of callus induction, bud differentiation, rooting, and transplantation of seedlings. The results showed that the medium 1/2MS + GA 0.5 mg/L + BA 0.3 mg/L + IAA 0.5 mg/L was the best for inducing callus from rhizomes, medium MS + GA 0.2 mg/L + BA 0.6 mg/L + IAA 0.3 mg/L was the most suitable for bud differentiation, medium 1/3MS + IAA 0.4~0.6 mg/L was the optimum for rooting. The ideal transplantation matrix for tube plantlets was the furnace ashes.

Key words: *Iris lactea* var. *chinensis* Koidz; Culture of tissue; Clone