

雪莲果离体培养及植株再生体系的建立

马 杰, 崔 波, 张仙云, 袁秀云

(郑州师范高等专科学校 生物工程研究所 河南 郑州 450044)

摘 要: 对雪莲果幼嫩叶片和腋芽离体培养与植株再生过程进行了研究, 建立了雪莲果的再生体系。该体系以雪莲果叶片和腋芽为材料进行离体培养, 结果表明: MS 可作为雪莲果再生体系的基本培养基; 叶片、腋芽诱导愈伤组织和不定芽培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 3%; 继代培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 3%; 生根培养基为 1/2 MS+IAA 0.3 mg/L+蔗糖 3%。

关键词: 雪莲果; 离体培养; 再生体系

中图分类号: Q 943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)07-0210-03

雪莲果 *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson 又称菊薯、亚贡, 为菊科多年生草本植物。原产南美洲安第斯山脉, 果实为块根, 形状如甘薯, 被称为地下水果。雪莲果叶富含硒和多糖、酚酸、黄酮类等功能性成分, 果实含有丰富的寡聚果糖和人体必须氨基酸和酚酸、类黄酮和砷类物质, 具有降血脂, 减肥, 调节内分泌, 防治血管老化, 预防骨质疏松, 抗菌等作用, 特别适合糖尿病人和减肥者食用。因其特殊的保健功能及药用价值, 越来越得到广泛的重视, 在食品、医药方面有广阔的应用前景。随着对雪莲果研究的深入, 雪莲果将成为一种极具市场潜力的植物。雪莲果的常规繁殖靠种子或扦插, 速度慢, 周期长, 成本较高。该试验探索了雪莲果再生体系建立的方法和条件, 并为该植株开展快繁等进一步的研究奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 材料

雪莲果叶片和腋芽。

1.2 诱导培养

取雪莲果的幼嫩叶片、腋芽置流水中冲洗 15 min, 无菌操作以 70% 酒精进行表面灭菌 15 s, 用无菌水冲净后, 置 0.1% 升汞溶液中振摇 5 min, 然后以无菌水冲洗 4 遍。叶片用无菌解剖刀将周边切下弃去, 保留部分切成大小约 0.5 cm², 接种于 1~4 号培养基中(表 1), 每种培养基接种数均为 40。腋芽灭菌后剥离至生长点, 接种于 1、2 号培养基中, 统计产生不定芽数。

1.3 增殖培养

将诱导形成的不定芽分割成单个芽苗, 每瓶接种数一致, 转入 6、9~13 号 6 种培养基上进行增殖培养(表 3), 分别统计数量。



图 1 雪莲果的不定芽诱导

1.4 生根培养

将高 2~6 cm 植株分别放入表 4 所列的 10~13 号 4 种培养基中(表 4), 每种培养基 5 瓶, 每瓶放 7 株植株, 即每种培养基接种 35 株, 置光照培养箱中培养, 15~20 d 观察不定根的生长情况。

1.5 培养条件及培养基

所有培养条件均为: 培养温度(25±2)℃, 光照强度 2 500 lx, 光照时间每天 12 h; 所用培养基除特别注明外均为 MS 培养基, 蔗糖 0.3%, 琼脂 0.8%, pH 值(5.8±0.1)。

2 结果

2.1 雪莲果叶片、腋芽不定芽的诱导

叶片在 1 周左右, 开始陆续在其周边出现白色或淡黄色至黄绿色的突起(见图 1), 其愈伤组织渐渐向外蔓延变大、变厚, 之后在其突起处形成 3~4 或更多不定芽, 30 d 左右长成 10~15 mm 的无根小苗。诱导不定芽成

第一作者简介: 马杰(1960-), 女, 河南开封人, 本科, 副教授, 现从事生物技术研究工作。E-mail: mjie0924@126.com。

基金项目: 河南省科技攻关资助项目(0524050005)。

收稿日期: 2008-02-10

功率最高 44.00%(表 1)。腋芽诱导最初表现为萌动、基部膨大,长出白色或淡黄色愈伤组织,然后形成不定芽。腋芽诱导成功率高,达 100%(表 2)。



图2 雪莲果的继代培养

表 1 叶片在 MS 培养基诱导不定芽的试验结果

编号	激素 / mg · L ⁻¹	接种 数量	产生不定芽的 外植体数	不定芽 诱导率/%
1	6-BA 1.0+IBA 0.1	28	10	35.71
2	6-BA 1.0+NAA 0.1	25	11	44.00
3	KT 1.0+IBA 0.1	29	6	20.69
4	KT 1.0+NAA 0.1	22	5	22.73

表 2 腋芽在 MS 培养基诱导不定芽的试验结果

编号	激素 / mg · L ⁻¹	接种 数量	产生不定芽的 外植体数	不定芽 诱导率/%
1	6-BA 1.0+IBA 0.1	5	5	100
2	6-BA 1.0+NAA 0.1	4	4	100

2.2 不定芽的继代培养

继代培养是实现快繁的重要环节之一,培养一段时间后,为了防止培养物老化,要及时将其接种到新鲜培养基中,进行继代培养,以使不定芽能够顺利地增殖、生长,从而得到大量幼苗(见图 2),供进一步生根试验。继代培养过程中,不定芽基部有愈伤组织生长,其上有若干新的不定芽长出。选用 6-BA 和 NAA 的不同浓度配比作为研究因子,经过试验,选择增殖系数高的培养基(表 3)。

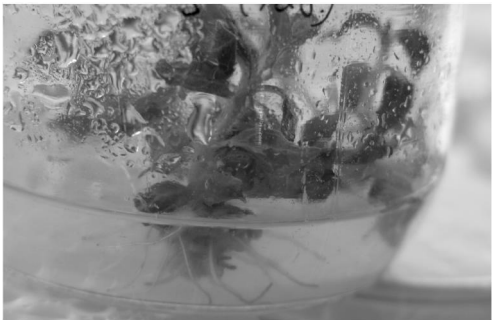


图3 雪莲果的生根培养

表 3 不同激素组合对不定芽在 MS 培养基增殖的影响

编号	激素/ mg · L ⁻¹	培养天数	接种数量	增殖数	增殖系数
2	6-BA 1.0+NAA 0.1	20	5	20	4.00
5	6-BA 1.0+NAA 0.2	20	7	30	4.29
6	6-BA 2.0+NAA 0.2	20	6	31	5.17
7	6-BA 2.0+NAA 0.4	20	5	19	3.80
8	6-BA 4.0+NAA 0.4	20	8	18	2.25
9	6-BA 4.0+NAA 0.8	20	6	14	2.33

2.3 不定根的诱导

生根试验统计生根时间、根的形态和生根数量,结果见表 4。

表 4 生根培养(1/2 MS)

编号	激素/ mg · L ⁻¹	培养天数	接种数量	生根数	生根率/%
10	NAA 0.1	> 20	20	20	100.00
11	NAA 0.3	20	20	20	100.00
12	IAA 0.1	> 20	18	17	94.44
13	IAA 0.3	> 20	19	19	100.00

注:表中所有统计数量污染、褐变数均未统计在内。

3 讨论与结论

用雪莲果的嫩叶为外植体,在 MS 培养基可诱导出不定芽,细胞分裂素 6-BA 配合生长素 NAA,其浓度分别为 1.0 mg/L 和 0.1 mg/L 时效果最好。以腋芽为外植体,在 1、2 号培养基中不定芽的诱导率均达 100%,但在 2 号培养基上单株不定芽的数量较多(2~4 个),故以 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 为最佳。在继代培养时,随着细胞分裂素生长素浓度水平不断提高,不定芽增殖系数提高到一定程度转而下降,较高浓度的细胞分裂素配合较低浓度的生长素有利于从生芽的增殖,培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 的增殖效果较为理想,在此培养基中,不定芽增殖系数最高达 5.17。

生根培养试验结果表明,以 NAA 和 IAA 做生根试验过程中,根部形态有很大不同,表现在用 IAA 培养基植株的根细长,而用 NAA 培养基植株的根短粗(图 3)。生根时间也有差别,11 号培养基上植株的完成生根时间最短,生根率 100%,且根的形态完好,植株成活率也很高。其他有些生根率虽也达 100%,或时间较长,大于 20 d;或根细长不利于植株成活。故选用 MS+NAA 0.5 mg/L+蔗糖 3%作为雪莲果的生根培养基,形成的植株根系完好,成活率高。

综上所述,雪莲果在短时间内可完成从诱导到再生植株形成的整个过程,实现了该植株的再生体系的建立,该体系的建立大大加快了育苗进程,对雪莲果种苗快速繁殖和规模化生产有着重要的指导意义。

参考文献

[1] Ayhar M, Riera A. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (Yacon) Leaves in normal and diabetic rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2001, 74(2): 125-132.
[2] Valentova K, Cvak L, Muk A, et al. Antioxidant activity of extracts

不同激素配比对碧桃离体快繁的影响

张文娥, 潘学军, 杨仕国, 曾家艳

(贵州大学 农学院 贵州 贵阳 550025)

摘要:以碧桃的单芽茎段为试材,以MS培养基为基本培养基,研究了不同的激素浓度及配比对碧桃腋芽诱导、增殖和生根的影响,结果表明:碧桃腋芽诱导的最佳培养基为MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L,在此培养基中碧桃腋芽诱导率可达93.3%,且生长良好;最佳增殖培养基为MS+KT 0.3 mg/L+NAA 0.08 mg/L,其增殖率可达75%,增殖系数为1.5;最佳的生根培养基为1/2 MS+NAA 0.3 mg/L,生根率为50%。该研究结果可为生产提供一定的参考。

关键词: 激素; 碧桃; 离体快繁

中图分类号: S 685.99; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)07-0212-03

碧桃是蔷薇科桃属的一个变种,早春开花,其花多重瓣,花色艳丽无比,具有极高的观赏价值,适合于湖滨、溪流、道路两侧和公园布置,也适合小庭院点缀和盆栽观赏,还常用于切花和制作盆景^[1]。目前,碧桃的繁殖多采用播种、扦插和嫁接的方法,但在自然条件下碧桃播种繁殖的周期长,繁殖速度极慢,扦插难生根,苗木整齐度差,且易在繁殖过程中积累病毒,繁殖较困难;嫁

接繁殖也受时间、气候和嫁接技术等条件的限制^[2]。而且碧桃较容易受到病毒和真菌细菌的侵染,长期采用营养繁殖的植株传毒快、发病率高,危害范围广,从而会影响种苗的生长发育,树势衰弱引起品种退化。采用组织培养技术,以碧桃新生枝条为材料快速繁殖获得大量无菌组培苗,为碧桃生产应用提供了技术支撑,对碧桃基因工程育种有一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以重瓣碧桃(*Prunus percica* var. *duplex*)的单芽茎段为试材,取自贵州大学花卉资源圃。

1.2 试验设计

1.2.1 腋芽的诱导与增殖 于2006年4~5月取碧桃新梢,按常规消毒程序进行消毒后接种到诱导培养基上

第一作者简介:张文娥(1976-),女,硕士,讲师,主要从事园艺植物生理与分子生物学方面的研究。E-mail: zhewene@yahoo.com.cn

基金项目:贵州省自然科学基金资助项目(黔科合J字[2007]2055号);贵州大学人才科研资助项目(贵大人基合字2006-700971301);贵大资助项目(SRT字(20)号)。

收稿日期:2008-02-11

from the leaves of *Smallanthus sonchifolius* J]. *European Journal of Nutrition*, 2003, 42(1): 61-66.

[3] 钱林,丁长河,李里特,等.雪莲果的化学组分及其功能特性[J].食品研究与开发,2006,27(6):179-180,188.

[4] 李卓亚.雪莲果化学成分及其药理作用的研究进展[J].食品与药品,2007,9(6):41-43.

[5] 马杰,何蔚荭,崔波.蝴蝶兰原球茎状体的诱导及增殖[J].河南科学,2005,23(1):51-53.

Tissue Culture in Vitro and Establishment of Regeneration System of *Smallanthus sonchifolius*

MA Jie CUI Bo, ZHANG Xian-yun, YUAN Xiur-yun

(Bio-technology Institute, Zhengzhou Teacher's College, Zhengzhou, Henan 450044, China)

Abstract: The regeneration system of *Smallanthus sonchifolius* was established in this paper by using leaves and axillary buds as explants in vitro culture. The results showed that MS can be used as the basic media of the regeneration system of *Smallanthus sonchifolius*. The appropriate medium used for calli and buds induction was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+sucrose 3%. The subculture medium was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+sucrose 3%. The rooting medium was 1/2 MS+NAA 0.3 mg/L+sucrose 3%.

Key words: *Smallanthus sonchifolius*; In vitro culture; Regeneration system