

金线莲组织培养新体系建立及优化

黄 勇

(文山学院 科研处, 云南 文山 663000)

摘 要:以滇越金线莲和花叶开唇兰 2 个金线莲品种为材料进行组织培养,旨在完善金线莲组织培养体系。结果表明:2 种金线莲在 MS(不加大量元素)+花宝 3 g/L+椰子汁 10% 的培养基中种子无菌萌发情况良好;在 MS(不加大量元素)+花宝 3 g/L+蛋白胨 2 g/L+香蕉汁 100 g/L+活性炭 5 g/L 的固体培养基和液体培养基中交替进行继代培养生长速度快、增殖系数高;练苗移栽后存活率高、生长情况良好。由此建立并优化了金线莲组织培养体系。

关键词:金线莲;组织培养;离体快繁

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2010)13-0178-02

金线莲为兰科(Orchidaceae)开唇兰属(金线莲属)(*Anoectochilus* Blume)多年生草本植物。该属植物有 40 多种,分布于亚洲热带地区至大洋洲,我国 20 种,2 个变种^[1]。金线莲为名贵中草药,享有“药王”等美誉。但其种子在自然条件下萌发率极低,加上长期采挖,种质资源稀缺,已濒临灭绝。为此,已有研究利用组织培养这一生物技术手段对其种质资源进行抢救性地保存^[2-4]。但研究多以茎段为材料,且技术还不甚完善。该研究以滇越金线莲和花叶开唇兰 2 个金线莲品种^[5]果实为外植体进行组织培养,以期建立完善的金线莲组织培养体系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

作者简介:黄勇(1981-),男,硕士,研究方向为生物资源研究与开发。

基金项目:文山学院科研基金资助项目(2003201)。

收稿日期:2010-03-31

文山野生滇越金线莲和花叶开唇兰 2 个金线莲品种。

1.2 试验方法

1.2.1 种子无菌萌发 将成熟而未开裂的金线莲果实用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min, 无菌水中洗 5~6 次。果实破开后将种子均匀地抖落在 1/2MS、1/2MS+10% CM(椰子汁)、VW、VW+10% CM、MS(不加大量元素)+Hypoxyl(花宝)、MS(不加大量元素)+Hypoxyl+10% CM、KC、KC+10% CM 8 种培养基中进行种子无菌萌发试验,观察其萌发情况。视果实大小每个果实可接种 3~6 瓶。培养基 pH 5.6~5.8 以琼脂 7 g/L 固化,培养条件为温度(25±2)℃,光照强度 1 000 lx,光周期 12 h/d(下同)。

1.2.2 继代培养 将种子萌发后的幼苗接种到附加不同浓度激素(6-BA、NAA)和添加物(Hypoxyl、蛋白胨、香蕉汁(BJ)、活性炭(AC))的培养基上进行继代培养,观察其生长情况。

1.2.3 练苗移栽 继代培养多次后,将培养瓶移到室外打开瓶盖练苗 3~5 d,然后洗去小苗基部的残留培养基

The Transformation System of Oil Sunflower(*Helianthus annuus* L.)

HUANG Jun-xuan, LI Jian-ke, LI Shuang-yue, LIU Yan-jun, YANG Jing-hui
(Horticultural Department of Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384)

Abstract: In order to establish the system of genetic transformation on oil soybean by *Agrobacterium* medium transformation of *Agrobacterium tumefaciens* strains C58C1 with pCB302 vector, the concentration of herbicide, the selection of explants and pre-culture were researched. The results showed that more suitable concentration of herbicide was 3 mg/L, the more desirable explants were stems, the more desirable time of pre-culture was 7 days with highest transformation ratio.

Key words: oil soybean; genetic transformation; explants; selection pressure

移入预先消毒过的沙、珍珠岩、腐殖土,沙:腐殖土=1:1、珍珠岩:腐殖土=1:1、沙:珍珠岩:腐殖土=1:1:1的6种基质中,每天进行1次叶片喷雾,每周用1/5HyponexI液体培养基施入基质中,保持环境相对湿度在80%~90%,经过4周的过渡栽培再移入荫棚中,观察其生长情况并加强栽培管理。

2 结果与分析

2.1 种子无菌萌发

播种40d后可观察到种子开始萌动,出现肉眼可见的淡黄色的原球茎。之后原球茎开始分化形成幼苗,叶色由黄白转为正常。在8种培养基中种子萌发情况不一,其中以MS(不加大量元素)+HyponexI+10%CM效果最好,种子萌发率高、萌发整齐、生长情况正常(图1)。

2.2 继代与增殖

在不同的培养基中增殖效果不一,其中以MS(不加

大量元素)+HyponexI3g/L+蛋白胨2g/L+BJ100g/L+AC5g/L效果最佳,故确定其为继代与增殖培养基。经2~3次继代培养后幼苗由小变大,茎由细变粗,叶由小变大。此时可练苗移栽,但苗数量少。为此,可将苗切成2cm左右的小段进行增殖培养。这时应合理选用固体与液体培养基。因在固体培养基中苗生长健壮,但增殖系数低,生长速度慢;在液体培养基中苗生长瘦弱,叶色黄绿,但增殖系数高,生长速度快(图2)。可见二者各有优缺点,应搭配使用。具体做法是:苗切段后,将中部与上部培养在固体培养基中,将下部培养在液体培养基中。且下部不要将其分开,其根部纠结在一起更有利于在液体培养基中直立生长。如此在固体与液体培养基中交替培养,繁殖出大量健壮金线莲种苗。



图1 金线莲种子无菌萌发



图2 金线莲继代培养(左为固体培养基 右为液体培养基)

2.3 移栽后生长情况与管理

在6种不同的基质中,苗的生长情况不同,以沙:珍珠岩:腐殖土=1:1:1最佳,存活率可达98%以上,且生长状况良好(图3)。

金线莲的主要虫害有蜗牛、蛱蛄、红蜘蛛、螨类、小地老虎、蝼蛄等;主要病害有猝倒病、软腐病等;鸟、鼠、蛇等也喜食,应加强管理。



图3 金线莲移栽后生长情况

基中金线莲种子无菌萌发情况良好。加入一定量的蛋白胨效果更佳,但污染率随之升高,应慎用。

金线莲最佳继代与增殖培养基是MS(不加大量元素)+HyponexI3g/L+蛋白胨2g/L+BJ100g/L+AC5g/L,且固体与液体培养基灵活搭配使用效果更好,比一般单纯使用固体培养基效果优越。经练苗移栽,金线莲移栽存活率高,生长情况良好,只要加强管理就可保存这一濒危名贵中草药种质资源,并可创造可观的经济效益。

参考文献

[1] 中国科学院植物研究所.中国高等植物[M].13卷.青岛:青岛出版社,2002.
[2] 陈兆贵.金线莲组织培养和移栽技术研究[J].惠州学院学报 2007,27(6):14-17.
[3] 陈永快 林一心,邹晖等.福建金线莲和台湾金线莲的组培快繁技术[J].现代园艺,2008(10):9-12.
[4] 江建铭 俞旭平,沈晓霞,等.金线莲组培快繁技术研究[J].时珍国医国药 2009 20(2):408-410.
[5] 张铁,万京,沐建华.文山地区金线莲种质资源初步调查[J].文山师范高等专科学校学报 2005 18(3):26-28.

3 结论与讨论

在MS(不加大量元素)+HyponexI+10%CM培养