

# 甜叶菊组培苗生根培养的研究

尚宏芹

(菏泽学院 生命科学系 山东 菏泽 274015)

**摘 要:**以甜叶菊组培无根苗为试验材料,研究培养基、NAA 浓度及活性炭对甜叶菊生根培养的影响。结果表明:1/2MS 诱导生根的效果优于 2MS、MS 和 1/4MS;0.2 mg/L 的 NAA 诱导生根效果最好,诱导率为 83.3%,根粗壮而长;0.3%活性炭不但大大地缩短生根时间,而且提高了生根率,增加了根数。

**关键词:**甜叶菊;培养基;NAA 浓度;活性炭;生根

**中图分类号:**S 632.903.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)06-0170-03

甜叶菊(*Stevia rebaudianum* Bertoni)为菊科多年生草本植物,其叶中含有甜菊糖苷,又名甜叶菊糖苷、甜叶菊糖等<sup>[1]</sup>。甜菊糖苷易溶于水,甜度约为蔗糖的 300 倍,其热能仅为蔗糖的 1/300,甜味接近蔗糖,味道好,安全无毒,可取代糖精、甜蜜素和部分蔗糖,广泛应用于食品、饮料、餐桌佐料、酱菜加工<sup>[2]</sup>,它还有防治糖尿病、肥胖症、小儿龋齿和高血压等疾患的药用价值,被誉为最有发展前途的新糖原,是继蔗糖、甜菜糖的第 3 种天然糖源<sup>[3-4]</sup>,因而日益引起人们的关注和重视。甜叶菊为异花授粉植物,一般采用种子繁殖,但用种子繁殖的后代难以保持原有的优良性状,而且种子小,极易丧失活力,发芽率仅为 30%~40%,苗期生长缓慢,育苗要求技术性强,成活率低,严重影响了种苗质量,限制其大面积种植<sup>[5-6]</sup>。因此,如何获得干叶产量高、甜菊糖苷含量高而稳定的种苗是个紧迫的问题。通过植物组织培养技术,可以在短时间内大量获得的性状优良、统一的种苗,并且可对植物进行脱毒,防止品种退化,生产过程不受季节限制,周年可以进行,从而满足生产需要。虽然以茎尖为外植体进行甜叶菊的组织培养已有报道<sup>[4-6]</sup>,但是缺乏详细的生根研究,试验对甜叶菊进行了生根研究,以期对甜叶菊的离体快繁提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

甜叶菊品种“守甜 2 号”购自菏泽市。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体的获得** 将甜叶菊种在室内花盆内,待返苗后,取植株上的带腋芽茎段作为外植体,将茎上的叶片连带叶柄一同剪掉后,用自来水将材料冲洗干净,将

甜叶菊茎段切割成 1 cm 左右带腋芽小茎段,在超净工作台上先用 75%酒精消毒 10 s,再用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 6 min,在消毒的过程中每隔 5~10 s 搅动 1 次,无菌水冲洗 4~5 遍,消毒处理后的外植体,接种在 MS 培养基上,约 1 个月后腋芽长成芽苗。

**1.2.2 生根培养** 剪取旺盛生长的甜叶菊芽作为外植体,高约 2~3 cm,生长健壮,叶色浓绿,接种在生根培养基上,分别研究不同无机盐浓度、NAA 浓度和活性炭对甜叶菊生根培养的影响,记录生根时间,培养 20~25 d 后,测定根数,计算生根率。生根率(%)=生根的外植体数/接种的外植体数×100%。

**1.2.3 培养条件** 培养基的蔗糖含量为 30 g/L,琼脂含量为 7 g/L, pH 5.8,培养温度(25±2)℃,光照强度为 2 000 lx,光照时间 14 h/d。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养基无机盐浓度对甜叶菊生根的影响

MS 培养基中含有较高量的硝酸盐、钾盐和铵盐<sup>[7]</sup>。将甜叶菊芽苗接种在含有 NAA 0.2 mg/L 的不同无机盐浓度的培养基中,不同材料在生根培养阶段对培养基中无机盐质量浓度的要求是不一致的,甜叶菊的生根培养 7 d 后,培养基中的外植体开始生根,20 d 后统计培养结果见表 1。

表 1 MS 培养基浓度对甜叶菊生根的影响

处理 mg · L <sup>-1</sup>	生根率/%	平均根数/条	根的生长状态
2MS+NAA 0.2	12.5	0.17	发根晚,根细弱、短
MS+NAA 0.2	45.8	0.42	发根晚,根细弱、短
1/2MS+NAA 0.2	79.2	4.58	发根早,根壮、较长
1/4MS+NAA 0.2	70.8	1.54	发根较早,根细弱、长

由表 1 可知,在 2MS 和 MS 培养基中,甜叶菊发根晚,生根率低,且根少、细弱、短,这可能是由于高浓度无机盐对培养物有抑制生长的作用;在 1/2MS 培养基下,

作者简介:尚宏芹(1977-),女,山东章丘人,硕士,讲师,现从事植物生物技术教学与科研工作。E-mail: hqshang@126.com.

收稿日期:2009-12-20

有利于生根,生根率达 79.82%,且发根早,根多而粗壮;在 1/4MS 培养基下,发根虽较早,但不定根较少且较细弱。适宜的无机盐浓度为 1/2MS 培养基,不仅可诱导甜叶菊试管苗不定根的发生,也可促使根系的生长,保证试管苗矿质营养及水分代谢,从而可促使植株地上、地下部分的协调发展。

2.2 NAA 浓度对甜叶菊生根的影响

由表 2 可知,不添加 NAA 的培养基中,组培苗生根率为 0。随着 NAA 浓度的上升,生根率先增加后下降,当 NAA 浓度为 0.2 mg/L 时,诱导生根的诱导率最高,达 83.3%,根长得粗壮而长,当 NAA 浓度高于 0.5 mg/L 时根变短而且细弱,这说明 NAA 浓度太大,抑制了植株不定根的生长发育。

表 2 NAA 浓度对甜叶菊生根的影响

NAA 浓度/ mg · L <sup>-1</sup>	生根率/ %	平均根数/ 条	根的生长状态
0	0	0	
0.1	62.5	3.04	较粗壮,长
0.2	83.3	4.42	粗壮,长
0.5	41.7	2.08	细弱,短
1.0	8.33	0.46	细弱,短

2.3 活性炭对甜叶菊组培苗生根的影响

在无菌条件下,将甜叶菊无根苗接种到不同活性炭浓度的培养基上,培养 25 d 后统计结果见表 3。活性炭对甜叶菊组培苗生根有明显的促进作用,低浓度的活性炭不但提高了生根率,而且使发根时间提前,并增加了平均根数。活性炭浓度为 0 时,组培苗根诱导率为 75%,但是发根晚。添加 0.1% 的活性炭时,生根率为 83.3%,根数为 4.88,而 0.3% 的活性炭的生根率和平均根数分别为 100% 和 5.63。说明较高浓度的活性炭对甜叶菊的生根有抑制作用,表现在生根率的降低和平均根数的减少,当活性炭含量为 1.0 mg/L 时,生根率为 50%,平均根数为 1.08 条,并且发根晚。低浓度的活性炭之所以促进不定芽生根,可能是因为它一方面减弱了光线透过培养基的能力,为根的诱导和生长提供了类似非洲菊在自然条件下的黑暗环境,同时,活性炭能吸附培养基中的无机盐、降低有毒物质的含量和改善培养基中的气体状况,从而有利于不定芽生根和生长。

表 3 活性炭浓度对甜叶菊生根的影响

活性炭含量/ mg · L <sup>-1</sup>	生根率/ %	平均根数/ 条	根的生长状态
0	75	4.25	发根晚
0.1	83.3	4.88	发根较早,根较壮
0.3	100	5.63	发根早,根壮、较长
0.5	58.3	3.33	发根晚,根细弱,短
1.0	50	1.08	发根晚,根细弱,短

3 讨论

3.1 无机盐浓度对甜叶菊生根的影响

组培苗的生根是一个复杂的生理生化过程,受多种

因素的影响<sup>[8]</sup>,在试验中,培养基无机盐浓度过高或过低均不利于组培苗的生根。植物组织培养生根阶段,降低培养基中的大量元素和微量成分的浓度,可提高大多数植物的生根能力<sup>[9-10]</sup>,可能是由于高浓度的无机盐促进地上部优先生长,顶端优势进一步加强,低浓度的无机盐则使地下部优先生长,促进生根且根部健壮,以保证吸收更多的养分供应地上部生长。因此,甜叶菊组培生根培养基以 1/2MS 培养基为佳,但更低浓度的 1/4MS 培养基中,生根率低于 1/2MS 培养基,可能是因为植物生长发育所必须的大量元素中的 K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> 及微量元素、有机物质、铁盐等浓度太低,不能更好的满足植物生长发育的需要,因此生根率低。

3.2 激素浓度对甜叶菊生根的影响

董振红等<sup>[11]</sup>研究认为,1/4MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 诱导生根效果最好,张子学等<sup>[12]</sup>研究认为甜叶菊生根较适宜的培养基为 MS+IBA 0.25 mg/L,在该试验中当 NAA 浓度为 0.2 mg/L 时,诱导生根的诱导率最高,达 83.3%,这可能与品种及外植体部位有关。

3.3 活性炭对甜叶菊生根的影响

活性炭作为一种吸附剂在组织培养中经常使用,其主要作用是吸附培养过程中植物细胞分泌的及培养基中有害物质有利于生根<sup>[13]</sup>。活性炭促进不定芽生根和生长的原因可能是活性炭为根的生长营造了近似自然生长条件下的黑暗环境,吸附培养基中有毒副作用的物质,降低盐离子浓度等,但活性炭也吸附植物生长调节剂等有利物质<sup>[14]</sup>,试验中 0.3% 的活性炭生根率和平均根数分别为 100% 和 5.63,过高浓度的活性炭不利于生根。是否可将活性炭和低浓度的 NAA 结合使用,找出合适的浓度配比,以进一步促进甜叶菊组培苗的生根,还需进一步研究。

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):52-56.  
[2] 马玉琴,楼凤昌,李翱.甜叶菊的研究进展[J].国外医学医药分册,1992 19(1):5-9.  
[3] 朱东顺,宋晴晴,傅在秋,等.山东省甜叶菊的主要病害及防治措施[J].中国糖料,2002(3):27-29.  
[4] 黄苏珍,韩玉林,谢明云,等.甜叶菊“中山一号”快速繁殖研究[J].南特产研究,1999(4):48-49.  
[5] 李启任,刘娟,董立华,等.甜叶菊茎尖组织培养快繁技术[J].云南大学学报(自然科学版),1992 14(4):425-426.  
[6] 沈秀丽,徐仲.甜叶菊组织培养条件的研究.Ⅰ.外植体、激素浓度、琼脂浓度对愈伤组织形成及芽诱导的影响[J].中国糖料,1996(3):24-26.  
[7] 沈惠娟.木本植物组织培养技术[M].北京:中国农业出版社,1992:16-45.  
[8] 王会.红叶石楠组培苗生根培养的研究[J].北方园艺,2007(10):178-180.

# 牡丹胚培养及丛生苗继代培养研究

刘会超, 贾文庆, 王 坤

(河南科技学院 园林学院园林系 河南 新乡 453003)

**摘 要:** 以凤丹白种胚为材料, 研究不同植物生长调节剂对胚苗生长、诱导丛生芽的影响。结果表明: 用 0.5% 的多菌灵消毒过的种子污染率降低; 胚生长最适培养基 MS+6-BA 1.5 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.1 mg/L; 分化不定芽最佳培养基 MS+6-BA 2.5 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L。

**关键词:** 牡丹; 胚; 丛生芽

**中图分类号:** S 685.110.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)06-0172-03

牡丹(*Paeonia suffruticosa*)又名百两金、富贵花、洛阳花等,为芍药科芍药属落叶亚灌木。牡丹是原产我国的木本名贵观赏花卉,花大色艳、雍容华贵、芳香浓郁,

第一作者简介: 刘会超(1964),男,河南南阳人,博士,教授,硕士生导师,现从事观赏植物生物技术研究工作。E-mail: liuhc918@yahoo.com.cn。

通讯作者: 贾文庆(1979),男,河南淮阳人,硕士,讲师,现从事观赏植物生物技术研究工作。E-mail: jiawq99@126.com。

基金项目: 河南省创新人才工程资助项目(2005-126-49); 河南科技学院博士基金资助项目(050106); 河南科技学院重点资助项目(050121)。

收稿日期: 2009-12-20

而且品种繁多,素有“国色天香”、“花中之王”的美称,长期以来被人们当作富贵吉祥、繁荣兴旺的象征<sup>[1]</sup>。牡丹常用播种、分株、压条、扦插和嫁接等传统方式繁殖,在实际生产中存在育苗周期长、幼苗不整齐等问题。利用组织培养途径进行牡丹的繁育已经取得了进展,在芽培养、茎尖培养、叶及叶柄培养、种子培养进行了较为深入的研究<sup>[2]</sup>,但有关牡丹胚培养诱导出丛生芽的研究甚少。该试验通过对胚培养及丛生苗继代培养研究,为实现牡丹快速繁殖提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

牡丹品种‘凤丹白’种子,2008年10月采于洛阳国家牡丹基因库。

[9] Igasaki, Mohrit, Ichikawa H, et al. Agrobacterium tumefaciens mediated transformation of Robinia pseudoacacia [J]. Plant Cell Reports, 2000, 19(5): 448-453.

[10] 夏阳, 梁慧敏, 陈受宜, 等. 四倍体刺槐转甜菜碱醛脱氢酶基因的研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(8): 1208-1211.

[11] 董振红, 王贵民, 王彦超, 等. 甜叶菊茎尖组织培养生根及移栽的研究

[J]. 中国糖料, 2008(2): 29-30.

[12] 张子学, 杨久峰, 檀赞芳. 植物生长调节剂对甜叶菊增殖和生根的影响[J]. 中国林副特产, 2008(2): 13-15.

[13] 王清连. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 16.

[14] 孙静秋, 夏铃风, 周传余. 大岩桐试管结球的初步研究[J]. 上海农业学报, 2003, 19(4): 64-66.

## Study on Rooting Culture of Stevia Tissue-cultured Plant

SHANG Hong-qin

(Department of Life Science, Heze University, Heze, Shandong 274015)

**Abstract:** With the tissue-cultured seedling of *Stevia rebaudianum* Bertoni as materials, it researched the effects of media, NAA concentrations and activated charcoal on Stevia rooting culture. The results showed that 1/2MS basic medium was better than 2MS, MS and 1/4MS media for rooting induction. The best rooting induction medium was 1/2 MS medium supplemented with 0.2 mg/L NAA, on which the induction percentage was 83.3%, roots were thicker and longer than those of other treatments. Rooting induction was accelerated, and root numbers were enhanced by the addition of 0.3% activated charcoal.

**Key words:** *Stevia*; media; NAA concentration; activated charcoal; rooting