

银线伞莎草组织培养及快速繁殖的研究

周 博, 许 维 倩, 李 娜, 徐 娜, 姜 长 阳

(辽宁师范大学 生命科学学院, 辽宁 大连 116029)

摘 要:以银线伞莎草的总苞片为材料,进行了组织培养研究,成功地建立起快速繁殖体系。结果表明:1/2MS+BA 0.4 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 20~30 g/L 是总苞片萌发生长为无根苗的适宜培养基;1/2MS+IBA 0.2 mg/L+IAA 0.3~0.4 mg/L+蔗糖 20 g/L 是无根苗生根培养的适宜培养基;MS+IBA 0.2 mg/L+IAA 0.3 mg/L+BA 0.2 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 20 g/L 是银线伞莎草根茎萌发生根培养和根茎萌发生根继代增殖培养的适宜培养基;在温室中试管苗移栽易成活,移栽的试管苗保持了银线伞莎草的特有性状,且生长旺盛。

关键词:银线伞莎草;组织培养;快速繁殖

中图分类号:Q 949.71⁺4.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)17-0150-03

银线伞莎草(*Cyperus alternifolius* var. *striatus* Hort.)属于莎草科莎草属多年生草本植物^[1],是旱伞草的1个变种,因茎秆和叶有白色的条纹(个别的植物也会出现全白),使其具有很高的观赏价值。但银线伞莎草只能进行分株繁殖,不能采用扦插或播种的方法进行繁殖^[2],因此导致繁殖的速度很慢,无法获得较多的种苗来满足人们栽培的需要。现对银线伞莎草进行组织培养及快速繁殖的研究,以期获得大量的种苗,满足人们对栽培种苗的需求。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以在花盆中栽培的银线伞莎草为材料。

1.2 方法灭菌

将生长非常旺盛银线伞莎草的茎顶端(包括总苞片)下3 cm处剪下后,放入250 mL的磨口广口瓶中,用自来水冲洗3~5 min,再用蒸馏水振荡洗涤2次转移到超净工作台上,用70%乙醇灭菌15 s左右,然后马上用无菌水洗涤2次,接着用0.05% HgCl₂溶液振荡灭菌3 min,再用0.025% HgCl₂溶液继续振荡灭菌13 min,之后用无菌水振荡洗涤6次,即获得无菌材料^[3]。

1.3 培养条件

参见陈宝鑫等对白花紫露草的培养^[4]。

第一作者简介:周博(1989-),女,辽宁鞍山人,在读本科,现主要从事植物组织培养研究工作。

通讯作者:姜长阳(1953-),男,辽宁大连人,教授,现主要从事植物技术研究工作。

基金项目:辽宁省高等教育教学改革研究资助项目(3-4);辽宁师范大学教学改革资助项目(LSJG:20090108)。

收稿日期:2010-04-27

1.4 试验方法

1.4.1 不同碳源对伞状苞叶萌发的影响 把处理的无菌银线伞莎草的茎顶总苞片的上半部剪掉,再把总苞片下部茎0.3~0.4 cm处剪下后,把下部茎扦插到培养基中,并使总苞片平铺到培养基的表面。以1/2MS+BA 0.4 mg/L(以下所用激素单位相同者略)+NAA 0.1 为培养基,附加含量分别为20 g/L和30 g/L的蔗糖、果糖和葡萄糖6种培养基上,进行小型伞状苞叶丛的萌发培养试验。试验重复3次,每种处理接种培养100个材料(以下试验重复次数与每种处理接种培养的材料数量相同者略)。

1.4.2 无根苗生根培养 把培养的丛生状无根苗分割为单个无根苗后,接种到以1/2MS+IBA 0.2+蔗糖20 g/L为基本培养基,附加不同浓度的IAA和NAA的培养基中,进行无根苗的生根培养。

1.4.3 根茎的萌发生根培养 把具有根茎的试管苗从茎的基部剪掉,将根茎切成长0.2 cm左右的根茎段,接种到以MS+IBA 0.2+IAA 0.3+蔗糖20 g/L为基本培养基,附加不同浓度的BA和GA₃的培养基中,进行根茎的萌发生根培养。

1.4.4 根茎的萌发生根继代增殖培养 把上述培养的具有根茎的试管苗的根茎切成长0.2 cm左右的根茎段,接种到化学成分相同的培养基中,进行根茎的萌发生根继代增殖培养试验。

1.4.5 试管苗的移栽 把继代培养具有根茎的试管苗移栽到上层为干净河沙的温室花盆中,移栽后上面要罩上塑料棚保湿,并用遮阳网防止光的直射。移栽试验进行2次,移栽株数分别为340株、420株。

2 结果与分析

2.1 不同碳源对伞状苞叶萌发的影响

接种后 40 d 观察统计证明,在 6 种培养基上,总苞片都可以不同程度的萌发出小型伞状苞叶、叶片和短茎。但碳源的种类不同,萌发率各异。其中在含 20、30 g/L 蔗糖的 2 种培养基上总苞片萌发率远远高于其它 4 种培养基,萌发率分别为 92.5%和 93%,并且每种培养基上的总苞片平均能萌发出 9.6 个和 9.8 个小型伞状苞叶丛。观察还表明,在上述 2 种培养基上所萌发的小型伞状苞叶均能发出 3~5 个叶片,在叶片下长出 0.2~0.3 cm 的茎,可以生长为丛生状无根苗。结果说明,1/2MS+BA 0.4+NAA 0.1+蔗糖 20~30 g/L 的培养基是银线伞莎草总苞片萌发生长为无根苗的适宜培养基。

2.2 无根苗生根培养

培养到 30 d 时统计结果见表 1。由表 1 可见,在附加不同浓度 NAA 的培养基上不能诱导无根苗生根,而在附加不同浓度 IAA 的培养基上能够诱导无根苗生根形成试管苗。但 IAA 浓度不同,对生根率和生根数的影响不同。其中在 IAA 的浓度为 0.3~0.4 的 2 种培养基上,培养材料的生根率达到了 90%以上,每株试管苗的生根数达到了 8 条以上,并且培养的试管苗长势旺盛。把培养的试管苗在培养瓶内继续培养 10 d,试管苗的根部会生长出 1 cm 左右的根茎。这表明 1/2MS+IBA 0.2+IAA 0.3~0.4+蔗糖 20 g/L 的培养基是银线伞莎草无根苗生根培养的适宜培养基。

表 1 不同浓度激素对无根苗生根的影响

NAA/mg · L ⁻¹	IAA/mg · L ⁻¹	生根率/%	平均生根数/株	生根苗长势
0	0	0	0	—
0.1	0	0	0	—
0.2	0	0	0	—
0.3	0	0	0	—
0.4	0	0	0	—
0.5	0	0	0	—
0.6	0	0	0	—
0.7	0	0	0	—
0.8	0	0	0	—
0	0.1	28	3.8	+
0	0.2	56	4.3	++
0	0.3	91	8.6	++
0	0.4	93	8.2	++
0	0.5	63	5.1	++
0	0.6	42	2.1	+
0	0.7	41	3.4	+
0	0.8	16	2.3	+

注:++为长势旺盛;+为长势一般;—为不生长。下表同,略。

2.3 根茎的萌发生根培养

培养到 30 d 时统计结果见表 2。由表 2 可见,在附加浓度为 0.2 的 BA 与浓度为 0.5 的 GA₃ 的培养基上试管苗长势最好。其培养根茎的萌发生长率为 96%,平

均每株能生出 8.4 条根,根茎的长度为 2.4 cm,并且试管苗长势旺盛。这说明 MS+IBA 0.2+IAA 0.3+BA 0.2+GA₃ 0.5+蔗糖 20 g/L 的培养基是银线伞莎草根茎萌发生根培养的适宜培养基。

表 2 不同浓度激素对根茎生长的影响

BA /mg · L ⁻¹	GA ₃ /mg · L ⁻¹	萌发生长率 /%	生根条数 /株	平均根茎长度 /cm	试管苗 长势
0	0	0	0	0	—
0.2	0.1	65	3.7	1.3	++
0.2	0.5	96	8.4	2.4	++
0.2	1.0	72	8.8	2.6	+
0.2	1.5	20	5.2	0.9	+
0.4	0.1	67	2.1	0.6	++
0.4	0.5	51	2.6	1.6	+
0.4	1.0	12	1.3	1.7	+
0.4	1.5	0	0	0	—
0.6	0.1	0	0	0	—
0.6	0.5	0	0	0	—
0.6	1.0	0	0	0	—
0.6	1.5	0	0	0	—

2.4 根茎的萌发生根继代增殖培养

继代培养 5 代结果表明,继代培养 30 d 可生长成为 1 株生长旺盛、根系发达、根茎长 2.2 cm 的试管苗,平均每代的繁殖系数为 8.4。这说明以 MS+IBA 0.2+IAA 0.3+BA 0.2+GA₃ 0.5+蔗糖 20 g/L 为培养基,通过根茎的萌发生根继代增殖培养的方法,可以使银线伞莎草达到快速繁殖的目的。

2.5 试管苗的移栽

移栽后 30 d 统计其成活率分别为 89.5%和 92.6%。移栽成活后初期生长较缓慢,40 d 后开始迅速生长,90 d 时观察表明,与常规栽培的分株苗相比试管苗除了保持了茎叶原有白色条纹的特征外,还具有生长旺盛、根系发达的特点。

3 讨论

虽然目前已有莎草科植物培养研究的报道^[5],但迄今未见莎草科栽培变种组织培养及快速繁殖研究的报道。研究以银线伞莎草具有短茎的总苞片为材料,成功的进行了组织培养研究,并建立起快速繁殖技术,不仅为人们栽培所需大量种苗提供了可能,而且也证明采用现代植物无性繁殖手段,能使栽培变种(银线伞莎草是栽培中自然形成的变种)得到保存,加速在生产上的应用速度。

该研究中,采用根茎萌发生根继代培养的方法,平均每代(30 d)的繁殖系数为 8.4。按照这种繁殖速度,1 年能繁殖出 8.4¹² 个试管苗。这种方法的繁殖速度之快,完全能满足人们观赏栽培的需求。

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 11 卷. 北京: 科学出版社, 2006: 134-135.

海水胁迫下单叶蔓荆基因差异表达的初步分析

张家福, 关洪斌, 位建业, 史源, 王卫飞

(山东大学 威海分校海洋学院, 山东 威海 264209)

摘要:应用 cDNA-AFLP 技术,以单叶蔓荆为研究对象,对海水胁迫下单叶蔓荆叶片基因表达进行了分析。结果表明:通过 256 对引物组合的筛选,共分离得到 45 个差异表达的转录衍生片段(TDF),随机选取其中 10 个差异片段进行测序,并进行 Blast-x 分析。Blast-x 分析获得 5 个与已知片段知基因有较高的同源性,主要包括转录因子、与离子转运有关的蛋白、以及胁迫相关蛋白等的编码基因。并构建了单叶蔓荆在海水胁迫下的基因表达谱,从基因组水平上识别了一批受盐胁迫诱导或抑制表达、与耐盐相关的基因,这些新基因可用于耐盐的分子机理研究。

关键词:单叶蔓荆;海水胁迫;差异表达;cDNA-AFLP

中图分类号:Q 943.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)17-0152-03

近年来,国内利用 cDNA-AFLP 对植物基因差异性表达的研究较多,如对抗旱性、抗高温性、抗盐性等的研究。目前国内关于耐盐基因的研究主要是针对小麦的,而对于单叶蔓荆的研究还未见报道。该试验以单叶蔓荆为材料,利用 cDNA-AFLP 技术对单叶蔓荆海水胁迫

下的基因表达模式进行分析和比较,从转录水平分析单叶蔓荆耐盐碱的分子机制,为滨海盐碱地的绿化和可持续开发利用提供理论依据。并结合植物逆境生理学原理,通过提高耐盐的生理锻炼,来提高所选择品种的抗盐力,再利用 cDNA-AFLP 技术对所选品种进行基因差异表达分析,从转录水平分析所选品种的耐盐分子机制,进而寻找植物的遗传基因与个体发育中生理及生态的制约和影响关系。其中,cDNA-AFLP 是一种在转录水平研究基因表达的技术,因其具有灵敏度高,重复性好的特点,已经被广泛用于基因研究^[1-3]。

第一作者简介:张家福(1988-),男,福建厦门人,本科,现研究方向为药学。

通讯作者:关洪斌(1961-),男,博士,副教授,硕士生导师,研究方向为分子生物学和植物生理学教学及科研。

收稿日期:2010-05-12

[2] 北京林业大学园林系花卉教研组. 花卉学[M]. 北京:中国林业出版社. 1988:504-505.

[3] 张嵩岩,高杨,陈旸升,等. 徐长卿子叶组织培养及再生体系建立[J]. 亚热带植物科学,2009,39(1):45-48.

[4] 陈宝鑫,王晓旭,张倩怡,等. 白花紫露草的组织培养与植株再生[J]. 北方园艺,2009(6):84-86.

[5] 瞿萍梅,龙春林,程治英. 油莎豆的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2007,43(2):331.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Cyperus alternifolius* var. *striatus* Hort.

ZHOU Bo, XU Wei-qian, LI Na, XU Na, JIANG Chang-yang

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

Abstract: The bracts of *Cyperus alternifolius* var. *striatus* Hort. was used as materials to study on the tissue culture and rapid propagation. The results showed that the ideal medium for growing of bracts was 1/2MS+BA 0.4 mg/L+NAA 0.1 mg/L+sucrose 20~30 g/L, the ideal medium for rooting was 1/2MS+IBA 0.2 mg/L+IAA 0.3~0.4 mg/L+sucrose 20 g/L, the optimum medium for root culture and differentiation was MS+IBA 0.2 mg/L+IAA 0.3 mg/L+BA 0.2 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+sucrose 20 g/L. In the glasshouse, the tube seedlings could be easily transplanted. The botanical characters could be kept and grow vigorously.

Key words: *Cyperus alternifolius* var. *striatus* Hort.; tissue culture; rapid propagation