

沙芥茎尖培养及腋芽萌发和增殖的影响因素

康立茹, 石 岭, 张启莉, 田荣伟, 张东辉, 郝梦洁

(内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古 呼和浩特 010019)

摘 要:以沙芥无菌实生茎尖为外植体,探索了光照强度对茎尖培养的影响,研究了植物生长调节剂 6-BA 与 IBA 的不同浓度组合对沙芥幼苗短缩茎腋芽诱导和腋芽增殖的影响,同时研究了消毒方法对田间沙芥萌动腋芽增殖的影响。结果表明:最适宜茎尖分生组织生长的光照强度为 3 600 lx;最佳诱导腋芽萌发并进行伸长生长的植物生长调节剂组合为 6-BA 5.0 mg/L, IBA 0.5~1.0 mg/L,腋芽诱导率达 93.3%~96.7%,平均诱导芽数为 4.2~4.3;最适宜腋芽增殖的植物生长调节剂浓度组合为 6-BA 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L,丛生芽诱导率达 93.1%,增殖系数达 3.44;田间的萌动腋芽经 70%酒精浸泡 3~5 s 与 0.1%升汞震荡 10~12 min,二者交叉消毒效果最理想,污染率为 10%,成活率达到 85%,褐化率只有 20%,但外植体生长缓慢,生长周期长,增殖率极低,不适宜进行增殖培养。

关键词:沙芥;茎尖分生组织;腋芽;诱导;增殖

中图分类号:S 54 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)19-0107-06

沙芥(*Pugionium cornutum*)属十字花科 2 年生草本植物^[1],是生长于我国内蒙古、陕西、甘肃、宁夏等省区的

草原沙地、半流动沙地、荒漠或半荒漠地带^[2]的一种典型沙生旱生植物。生态环境的恶化,使得生长在干旱环境下的野生沙芥属植物结实率低,物种濒临灭绝,而沙芥现已表露出的营养^[3]、饲用^[4-5]、生态和药用^[6-8]等开发利用价值,对其野生资源的保护以及沙芥属植物的生物产量和品质提出了更高的要求。目前,人工栽培^[9]技术虽已形成一套完整的体系,但人工栽培少且沙芥生长周

第一作者简介:康立茹(1989-),女,硕士研究生,研究方向为园艺植物遗传育种与生物技术。E-mail:kangliru891210@163.com.

责任作者:石岭(1960-),男,博士,硕士生导师,研究方向为园艺植物遗传育种与生物技术。

收稿日期:2014-05-19

Study on Screening of Optimal Culture Substrate for Young Tissue Culture Seedlings of *Phyllitis japonica*

ZHAO Chao¹, DONG Ran¹, GU De-feng¹, YAN Hai-yan¹, HUANG Xiang-tong²

(1. College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 2. Changbai Mountain Academy of Sciences, Erdaobaihe, Jilin 133613)

Abstract: Taking one-year-old tissue culture seedlings of *Phyllitis japonica* as the experimental material, the adaptability of *P. japonica* in the 7 kinds of culture substrate were studied. The 7 treatments were mixture of peat, hill-skill soil, garden soil, mushroom residue and perlite at the different volume ratio respectively, [T1(CK1):peat, T2(CK2):hill-skill soil, T3 V(garden soil):V(peat)=2:1, T4 V(garden soil):V(hill-skill soil)=2:1, T5 V(garden soil):V(hill-skill soil):V(mushroom residue)=2:1:1, T6 V(peat):V(hill-skill soil):V(mushroom residue)=2:1:1, T7 V(peat):V(perlite):V(mushroom residue)=2:1:1]. The experiment was conducted in terms of its leaf length, leaf width, leaf area and chloroplast pigment content in different substrate formulas, then evaluated them by subordinate function. The results showed that, T1 had the highest comprehensive evaluation value, followed by T3, T6, T2, T5, T4 and T7. However, T3 was considered as more suitable for substrate promotion of young tissue culture seedlings of *Phyllitis japonica* due to the limited resources of peat.

Keywords: *Phyllitis japonica*; tissue culture seedling; young seedling; culture substrate

期长,并不能满足人们日益增长的消费需求。因此,有关提高繁殖系数的繁种技术基础理论及组织培养快繁体系的建立亟待深入和加强。

现选取沙芥属植物的模式种、我国特有种沙芥^[10]为试验材料,拟通过对沙芥茎尖分生组织培养^[11]获得无根植株后,添加植物生长调节剂 6-BA 和 IBA 打破茎尖苗的顶端优势^[12],采取潜在腋芽^[13]诱导和腋芽增殖的方式扩大芽的群体,以期达到快速繁殖的目的。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以人工培育的沙芥种子为试验材料。2011 年 5 月播种于鄂尔多斯市鄂托克前旗毛盖图,2012 年 10 月采收种子。选取籽粒饱满大小均一的沙芥种子,浸种消毒^[14]后接种于 B5 培养基,待子叶充分展开第一真叶微露时切取茎尖作为茎尖培养外植体。沙芥种子浸种催芽后播种,植株生长至 8~12 片真叶,剥去真叶留下带有腋芽和茎尖的短缩茎,消毒灭菌后切取带有一小块基板的腋芽进行增殖培养^[15]。

1.2 试验方法

1.2.1 不同光照强度对沙芥茎尖分生组织生长状况的影响 子叶充分展开、第一真叶微露的无菌实生苗,沿子叶叶柄基部剪掉 2 片子叶,剪去上胚轴约 1 cm 以下部分,得到 1 cm 左右的茎尖外植体,按生长极性的方向接种于培养基上,1 个外植体/瓶。光照强度设 3 个处理:1 800、3 600、5 500 lx(GTOP-280B 光照培养箱,光照强度 0~5 500 lx 三级可调),每处理 10 瓶,重复 3 次。培养 20 d 后统计茎尖苗茎高、茎粗、真叶数、褐化外植体数、基部生长愈伤组织外植体数等相关指标,并观察外植体生长状况。

1.2.2 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对沙芥茎尖苗腋芽诱导的影响 将 20 d 左右苗龄的健壮茎尖苗(4~6 片真叶),切去真叶后的短缩茎按生长极性方向接种,1 个外植体/瓶。以 B5 为基本培养基,添加不同浓度组合的 6-BA 和 IBA,其中 6-BA 浓度设 3 个水平:1.0、3.0、5.0 mg/L,IBA 浓度设 3 个水平:0.1、0.5、1.0 mg/L,二因素做正交组合,共 9 个处理,每处理 10 瓶,3 次重复,以不加任何植物生长调节剂的 B5 培养基为对照进行试验,20 d 后统计诱导出腋芽的外植体数、诱导出腋芽数、第一腋芽诱导所需天数等相关指标,观察腋芽及外植体生长状况。

1.2.3 腋芽增殖培养 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对沙芥腋芽增殖生长的影响:切取具有一定生长量的腋芽,按生长极性方向接种于培养基中,1 个外植体/瓶。以 B5 为基本培养基,添加含有不同浓度组合的植物生长调节剂 6-BA 和 IBA,其中 6-BA 设 3 个水平:1.0、3.0、5.0 mg/L,IBA 设 3 个水平:0.1、0.5、1.0 mg/L,二因素正交组合共 9 个处理,每处理 10 瓶,重复 3 次,以不添加

任何植物生长调节剂的 B5 培养基为对照进行试验,20 d 后统计增殖丛生芽外植体数、增殖芽数、外植体真叶数等相关指标并进行数据分析,比较各处理结果,找到最适宜腋芽增殖生长的植物生长调节剂浓度组合。0.1% 升汞不同消毒时间对沙芥腋芽增殖生长的影响:将带有腋芽的田间植株短缩茎经 70% 酒精冲洗 3~5 s,无菌水震荡清洗 1 次,0.1% 升汞震荡消毒,升汞消毒时间设 6 个处理:3、6、8、10、12、15 min。消毒后无菌水震荡清洗 5~7 次,切下带有一小块基板的腋芽,接种于腋芽增殖培养基中,4 个外植体/瓶,每处理接种 5 瓶。培养过程中统计污染外植体数、成活外植体数、褐化外植体数等指标,并在培养 20 d 后观察腋芽生长及增殖情况。

1.2.4 培养基及培养条件 培养基:茎尖接种在 B5+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L+30 g/L 蔗糖+6 g/L 琼脂的培养基^[11]。腋芽诱导和腋芽增殖培养基均以 B5+30 g/L 蔗糖+6 g/L 琼脂为基本培养基,分别添加 6-BA 和 IBA 的不同浓度正交组合。各培养基用 1 mol/L NaOH 和 1 mol/L HCl 调 pH 值至 6.0,121℃ 高压蒸汽灭菌 20 min 后凝固备用。培养条件:外植体接种后,置于 GTOP-280B 光照培养箱中培养。培养温度为(25±0.5)℃;茎尖培养在 3 种不同光照强度处理下,腋芽诱导和腋芽增殖培养的光照为茎尖生长最适宜的光照强度;各培养阶段光照时数均设为 12 h/d。

1.3 项目测定

培养 20 d 后统计外植体存活数、污染数、褐化数、诱导腋芽外植体数、诱导腋芽数、增殖丛生芽外植体数、增殖丛生芽数以及各培养阶段外植体生长状况等指标。 $\text{成活率}(\%) = \text{成活外植体数} / \text{接种外植体数} \times 100\%$, $\text{诱导率}(\%) = \text{萌发腋芽外植体数} / \text{接种外植体数} \times 100\%$, $\text{污染率}(\%) = \text{污染外植体数} / \text{接种外植体数} \times 100\%$, $\text{褐化率}(\%) = \text{褐化外植体数} / \text{接种外植体数} \times 100\%$, $\text{繁殖倍数} = \text{外植体增殖丛生芽总数} / \text{萌发丛生芽外植体数}$ 。

1.4 数据分析

采用 Excel 2003 软件进行统计分析,腋芽诱导率和丛生苗诱导率不服从正态分布,对其做反正弦的数据转换后,采用 SAS 9.0 软件进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同光照强度对沙芥茎尖分生组织生长状况的影响

由表 1 可知,光照强度对沙芥茎尖分生组织培养的影响主要表现在外植体的褐化、玻璃化、愈伤组织的生长,以及茎尖苗的生长状况等方面。在 1 800 lx 光照强度下培养的茎尖苗多表现为植株矮小、细弱,培养 20 d 后玻璃化苗比例达到 61.9%,外植体基部产生愈伤组织的比例达到 57.1%。处理 2、3 的茎尖分生组织,玻璃化苗和基部愈伤组织苗比例减少至 3.3% 和 6.7%,但光

照强度在 5 500 lx 时,褐化苗比例增至 63.3%,导致植株间生长差异较大,且叶片尖端有干枯黄化现象。在 3 600 lx 左右的光照强度下培养的茎尖,茎尖苗生长整齐、健壮,平均茎高最大达到 1.4 cm,此光照强度是沙芥茎尖生长最适宜的光照强度(图 1)。

2.2 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对沙芥腋芽诱导的影响

从表 2 可以看出,各处理及对照培养基中外植体均有腋芽萌发并进行伸长生长。但对照培养基外植体腋芽诱导率仅为 10%,腋芽萌发慢,且芽苗细弱;而 9 种处理的腋芽诱导率均高于对照,其中处理 6、9 的腋芽诱导率高达 96.7%和 93.3%,平均诱导腋芽数为 4.2 个和 4.3 个,腋芽萌发较快且芽苗健壮,由此可见一定浓度的植物生长调节剂可以促进腋芽的诱导和生长。

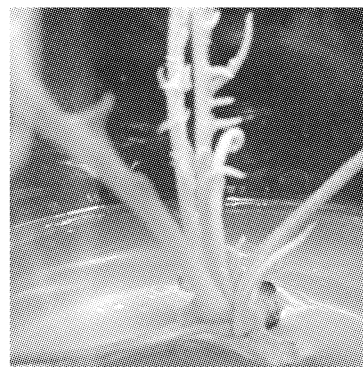


图 1 光照强度为 3 600 lx 时的茎尖苗

Fig. 1 Light intensity was 3 600 lx for seedling stem tip

表 1 不同光照强度对沙芥茎尖分生组织生长状况的影响

Table 1 Effect of different light intensity on growth status of apical meristem of *P. cornutum*

处理 Treatment	光照强度 Light intensity/lx	接种数 Inoculation number/个	玻璃化率 Vitrification rate/%	褐化率 Browning rate/%	出愈率 Callus rate/%	平均茎高 Average stem height/cm	平均茎粗 Average stem thickness/cm	平均叶长 Average leaf length/cm	平均叶数 Average leaf number/片
1	1 800	30	61.9	9.5	57.1	0.7	0.5	5.6	4
2	3 600	30	3.3	16.7	6.7	1.4	0.8	6.7	5
3	5 500	30	3.3	63.3	6.7	1.3	0.8	6.3	5

注:培养周期为 20 d。下同。

Note: Growth period was 20 days. The same as below.

表 2 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对腋芽诱导的影响

Table 2 Effect of different concentration combination of 6-BA and IBA on shoot inducement

处理 Treatment	浓度 Concentration /(mg · L ⁻¹)		接种数 Inoculation number /个	诱导率 Induction rate/%	诱导均芽数 Average induction axillary number /个
	6-BA	IBA			
0(CK)	0	0.0	30	10.0	2.3
1	1.0	0.1	30	63.3	2.4
2	3.0	0.1	30	70.0	2.2
3	5.0	0.1	30	80.0	1.1
4	1.0	0.5	30	56.7	2.9
5	3.0	0.5	30	76.7	3.1
6	5.0	0.5	30	96.7	4.2
7	1.0	1.0	30	53.3	2.0
8	3.0	1.0	30	73.3	3.3
9	5.0	1.0	30	93.3	4.3

由表 3 可知,对各处理的腋芽诱导率做反正弦的数据转换后进行方差分析和多重比较,9 种处理的腋芽诱导情况可分为 2 类。处理 6、9 为第 1 类,2 个处理间腋芽诱导率无显著差异,但诱导率均显著的高于其它各处理,其中处理 9 的腋芽诱导率极显著高于处理 5、8、2、1、4、7,处理 6 的腋芽诱导率极显著的高于处理 5、8、2、4、1、7;另一类包括处理 3、5、8、2、1、4、7,其它各处理间诱导率未达到显著水平。

从腋芽诱导个数及诱导出腋芽的生长状态来看(表 4),处理 9 和 6 的腋芽诱导个数多达 4 个以上(几乎每一叶腋处的腋芽均萌发生长),且腋芽生长整齐,叶片伸展

表 3 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对腋芽诱导率的显著性分析

Table 3 Significant analysis of axillary bud induction rate treated by different concentration combination 6-BA and IBA

处理 Treatment	浓度 Concentration /(mg · L ⁻¹)		诱导率转 换后均值 Average induction rate	0.05 显著水平 Significant level at 0.05	0.01 显著水平 Significant level at 0.01
	6-BA	IBA		0.01 < P < 0.05	P < 0.01
6	5.0	0.5	83.855	a	A
9	5.0	1.0	81.145	a	AB
3	5.0	0.1	63.930	b	ABC
5	3.0	0.5	61.220	bc	BC
8	3.0	1.0	59.213	bc	C
2	3.0	0.1	56.997	bc	C
1	1.0	0.1	52.775	bc	C
4	1.0	0.5	48.846	bc	C
7	1.0	1.0	46.923	c	C

注:同一列中不同小写字母表示差异达到显著水平(0.01 < P < 0.05),不同大写字母表示差异达到极显著水平(P < 0.01)。下同。

Note: The different lowercase letters after data in the same vertical row show significant difference at 0.01 < P < 0.05 level, the different capital letters show significant difference at P < 0.01 level. The same as below.

浓绿,芽苗健康健壮。其中,处理 9 的腋芽诱导个数与处理 6 的相比未达到显著水平,但与其它各处理间差异达到极显著水平;处理 6 腋芽诱导个数显著高于处理 8、5、4、1、2、7、3,极显著高于处理 5、4、1、2、7、3。虽然处理 4、5、8 的腋芽诱导所需时间较处理 6、9 稍提前,但是腋芽萌发后有不同程度的生长缓慢细弱,腋芽生长不整齐,叶片卷曲,叶色浅,甚至叶尖干黄的现象。综合分

表 4 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对腋芽诱导个数的显著性分析

Table 4 Significant analysis of axillary bud induction number treated with different concentration combination of 6-BA and IBA

处理 Treatment	浓度 Concentration (mg · L ⁻¹)		诱导芽数 Induction axillary number/个	0.05 显著水平 Significant level at 0.05	0.01 显著水平 Significant level at 0.01
	6-BA	IBA		0.01 < P < 0.05	P < 0.01
9	5.0	1.0	4.37 ± 0.6	a	A
6	5.0	0.5	4.17 ± 0.2	a	AB
8	3.0	1.0	3.37 ± 0.4	b	BC
5	3.0	0.5	3.13 ± 0.4	bc	CD
4	1.0	0.5	2.90 ± 0.3	bcd	CDE
1	1.0	0.1	2.43 ± 0.3	cde	CDE
2	3.0	0.1	2.20 ± 0.3	de	DE
7	1.0	1.0	2.10 ± 0.6	e	E
3	5.0	0.1	1.07 ± 0.06	f	F

析,诱导沙芥茎尖苗产生腋芽的最佳植物生长调节剂浓度为 6-BA 5.0 mg/L, IBA 0.5~1.0 mg/L。

2.3 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对沙芥腋芽增殖生长的影响

由表 5 可知,对照培养基中外植体接种 7~8 d 生长状况与其它各处理没有明显差异,随着培养时间的延长,外植体则表现出芽体矮小,真叶数少,生长缓慢,新增殖芽数少的生长状况;而添加植物生长调节剂的各处理中沙芥腋芽的丛生苗诱导率均高于对照,其中处理 6、9 的丛生苗诱导率分别为 96.7% 和 93.1%。就增殖系数来看,处理 1、4、5、6、7、8、9 的增殖倍数高于对照,处理 9 的增殖倍数最高,达到 3.44(图 2)。可见,一定浓度的植物生长调节剂有利于沙芥腋芽增殖。

表 5 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对腋芽增殖的影响

Table 5 Effect of different concentration combination of 6-BA and IBA on shoot multiplication

处理 Treatment	浓度 Concentration (mg · L ⁻¹)		接种数 Inoculation number/个	丛生苗诱导率 Induction rate/%	增殖倍数 Proliferation times
	6-BA	IBA			
0	0	0.0	30	4.8	1.00
1	1.0	0.1	30	11.5	1.67
2	3.0	0.1	30	13.0	1.00
3	5.0	0.1	30	16.0	0.00
4	1.0	0.5	30	73.1	1.74
5	3.0	0.5	30	65.5	2.26
6	5.0	0.5	30	96.7	2.55
7	1.0	1.0	30	32.0	1.63
8	3.0	1.0	30	64.3	1.72
9	5.0	1.0	30	93.1	3.44

丛生芽诱导率数据转换后进行方差分析,由表 6 可知,处理 6 与 9 之间的丛生芽诱导率差异不显著,处理 6 与其它处理间丛生芽诱导率差异显著,与处理 5、8、7、3、2、1 的丛生芽诱导率存在极显著差异;处理 9 与处理 4 丛生芽诱导率差异不显著,与处理 5、8、7、3、2、1 差异显著。

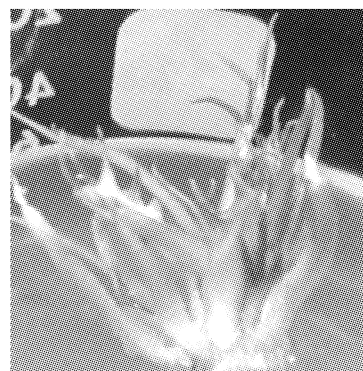


图 2 处理 9 中诱导产生的丛生芽

Fig. 2 Shoot clusters induced on the treatment 9 medium

表 6 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对丛生苗诱导率的显著性分析

Table 6 Significant analysis of shoot clusters induction rate treated with different concentration combination of 6-BA and IBA

处理 Treatment	浓度 Concentration (mg · L ⁻¹)		诱导率转 换后均值 Average induction rate	0.05 显著水平 Significant level at 0.05	0.01 显著水平 Significant level at 0.01
	6-BA	IBA		0.01 < P < 0.05	P < 0.01
6	5.0	0.5	90.000	a	A
9	5.0	1.0	81.145	ab	AB
4	1.0	0.5	64.461	bc	ABC
5	3.0	0.5	54.606	cd	BCD
8	3.0	1.0	53.364	cd	BCD
7	1.0	1.0	34.729	de	CDE
3	5.0	0.1	23.501	e	DE
2	3.0	0.1	17.045	e	E
1	1.0	0.1	15.469	e	E

由表 7 可知,处理 9 的腋芽增殖系数最大,与处理 6、8、5 腋芽增殖倍数无显著差异,与处理 4、7、1、2、3 之间存在显著性差异;处理 6 与处理 8、5、4、7 之间无显著性差异,与处理 1、2、3 之间差异极显著。可见 6-BA 浓度在 3.0~5.0 mg/L, IBA 浓度在 0.5~1.0 mg/L 均可用于沙芥腋芽的增殖培养。但观察沙芥增殖培养过程中丛生芽的生长状况,处理 9 中的丛生芽芽体粗壮,叶片伸展,生长正常;处理 6 丛生芽较细弱,芽叶片基部稍皱缩,似缺水萎蔫状态。综合观察和分析,处理 9 (6-BA 5.0 mg/L + IBA 1.0 mg/L) 是相对最适宜的沙芥腋芽增殖的植物生长调节剂组合。

2.4 0.1% 升汞不同消毒时间对沙芥田间腋芽增殖的影响

由表 8 可知,处理 4 和处理 5,即 70% 酒精浸泡 3~5 s 与 0.1% 升汞震荡消毒 10 min 和 12 min 对田间腋芽(图 3)交叉消毒灭菌效果最好,处理 5 中污染率最低为 10%,成活率达到最大 85%,褐化率只有 20%,与处理 4 相比无明显差异,且 2 个处理的腋芽较其它各处理生长正常,芽体绿色。观察其增殖生长状况,培养 40 d 的芽苗只有 4~5 片叶面积小于 0.5 cm² 的真叶,与取自诱导培养基中诱导的腋芽相比,腋芽自身生长缓慢,且产生极少的新生丛芽,不适宜作为外植体进行腋芽的增殖培养。

表 7 6-BA 和 IBA 不同浓度组合对沙芥腋芽增殖的显著性分析

Table 7 Significant analysis of shoot proliferation treated by different concentrations combination 6-BA and IBA

处理 Treatment	浓度 Concentration / (mg · L ⁻¹)		接种数 Inoculation number /个	增殖倍数 Proliferation times	0.05 显著水平 Significant level at 0.05	0.01 显著水平 Significant level at 0.01
	6-BA	IBA			0.01<P<0.05	P<0.01
9	5.0	1.0	30	2.97±0.2	a	A
6	5.0	0.5	30	2.77±0.1	a	AB
8	3.0	1.0	30	2.27±0.4	ab	ABC
5	3.0	0.5	30	1.97±0.1	abc	ABC
4	1.0	0.5	30	1.73±0.1	bc	ABC
7	1.0	1.0	30	1.40±0.1	bc	BC
1	1.0	0.1	30	1.17±1.0	c	CD
2	3.0	0.1	30	1.00±1.0	c	CD
3	5.0	0.1	30	0.00±0.0	d	D

表 8 0.1%升汞不同消毒时间对腋芽增殖的影响

Table 8 Effect of different disinfection time with 0.1% HgCl₂ on shoot proliferation

处理 Treatment	消毒时间 Disinfection time/min	接种数 Inoculation number/个	成活率 Survival rate/%	污染率 Contamination rate/%	褐化率 Browning rate/%	诱导率 Induction rate/%	增殖倍数 Proliferation times
1	3	20	45.0	85.0	5.0	0.0	0.00
2	6	20	65.0	50.0	10.0	0.0	0.00
3	8	20	80.0	10.0	5.0	10.2	1.17
4	10	20	75.0	15.0	25.0	10.0	1.10
5	12	20	85.0	10.0	20.0	13.8	1.24
6	15	20	70.0	10.0	45.0	0.0	0.00



图 3 田间腋芽外植体

Fig. 3 The field axillary as explants

3 讨论

该试验首次采用沙芥茎尖分生组织培养,再诱导茎尖腋芽萌动并进行伸长生长,通过诱导腋芽增殖产生丛生芽苗的试验方法,成功地建立起增殖倍数大于3的沙芥芽再生体系,填补了沙芥高效再生体系研究方面的空白。丛生芽苗的诱导产生,为沙芥芽苗生根培养提供大量材料,为建立完整成熟的沙芥离体快繁体系提供试验依据及理论基础。目前已有马铃薯、香蕉、苹果、草莓、葡萄、非洲菊和百合等近百种植物用这种腋芽增殖的方法实现离体快速繁殖^[16]。

在沙芥茎尖分生组织培养过程中发现,光照强度为3 600 lx时沙芥茎尖长势最好,并且一定程度上能适应5 500 lx的强光而较正常生长。有些植物茎尖组织培养建立再生体系时,较强的光照更利于茎尖再生,如在多花黑麦草茎尖培养时,光照强度6 000 lx条件下培养有

59%的茎尖再生植株,而暗培养时只有34%的茎尖再生,而有些植物茎尖在较弱的光照甚至是完全黑暗条件下培养时再生率较高,如天竺葵茎尖培养时就需要一个完全黑暗的时期^[16]。沙芥茎尖生长所需光照强度远远强于大多数植物的茎尖培养所适宜的1 000~2 000 lx的光照强度,这些生长条件需求的差异性,可能是长期进化过程中对其生存环境的一种适应性表现。

大多植物有明显的节和节间的区别,植物组织培养腋芽的诱导过程多是以带节茎段为外植体,通过诱导节部的腋芽萌发生长得腋芽。沙芥在营养生长期茎极度短缩且没有分支,叶序2/6式^[13],即使在体式显微镜下切割带节茎段也极易切伤相邻叶腋处的腋芽,大大的影响腋芽的诱导和成活。该试验尝试将带有多个节的较长茎段或整个去叶的短缩茎为诱导腋芽发生的外植体,设计6-BA和IBA不同浓度组合的多种处理,结果发现6-BA和IBA对启动腋芽发生、增殖起到关键作用,并在一定范围内促进腋芽再生,其中接种在添加6-BA 5.0 mg/L,IBA 0.1~0.5 mg/L的B5培养基中的外植体腋芽诱导率高,诱导数目大,芽生长正常,是进一步进行腋芽增殖生长的好材料。

切割生长健壮沙芥腋芽接种在含有不同浓度的6-BA和IBA的增殖培养基中进行增殖培养,9种处理均可不同程度的诱导丛生芽的发生,真叶数增加4~5片形成从外观上看上去有多片莲座叶状的小植株,且分离丛生芽接种到相同的新鲜培养基上,腋芽能够正常的进行伸长生长并诱导产生新鲜丛生芽。其中处理9的增殖倍数达3.44,增殖生长周期为20 d左右。若增殖倍数按3计算,每个腋芽1年大约可以增殖3¹⁸⁰倍,经生根锻炼移栽成活后即可得到3¹⁸⁰株沙芥苗。尽管该试验的增

殖系数达到了 3.44,但这与多数植物的增殖系数比较还很小,尚且不能满足沙芥原材料的大量需求。另外在培养的过程中发现,各处理接种外植体的茎高几乎没有增加,这可能是顶端优势被打破后,外植体吸收的养分大部分转运至腋芽以促进腋芽的萌发和生长,而外植体自身的伸长生长受到了一定的限制,这与自然条件下打破顶端优势后植株的生长状况^[12]是一致的。为提高沙芥腋芽增殖系数,改善丛生芽生长状况,找到适宜的生长素和细胞分裂素的种类和浓度及适宜的培养条件,还需大量试验和进一步探索。

为探索田间萌动腋芽能否提高沙芥增殖系数或缩短增殖培养周期,在田间取外植体进行组织培养试验。取自田间外植体用于组织培养关键问题就是对外植体的杀菌消毒处理。通过杀菌剂的杀菌作用获得既不会污染,又没有药物残留伤害的生长正常的外植体是组织培养的第一步。经试验分析得出,采用 70%酒精浸泡 3~5 s,0.1%升汞震荡 10~12 min 的方法进行交叉消毒可以得到较理想的效果,腋芽能够正常生长且污染率较小。但从腋芽增殖方面分析,腋芽自身生长非常缓慢,培养 40 d 时腋芽真叶数只增加了 1~2 片,叶面积只有小于 0.5 cm² 大小,且没有增殖产生新芽,所以田间腋芽并不适宜作为腋芽增殖的外植体。

该试验成功的诱导出沙芥腋芽,并获得增殖系数大于 3 的增殖丛芽,沙芥茎尖分生组织培养是目前沙芥离体快繁的最佳再生体系。但腋芽的伸长生长较缓慢,对更适宜腋芽增殖并进行伸长生长的植物生长调节剂种类和浓度的进一步探索至关重要;另外,丛生芽苗的诱导生根、生根苗锻炼移栽等步骤还在探索中。通过腋芽诱导途径建立沙芥离体快繁体系,完整成熟的培养过程有待于完善。

Influence Factors of Meristem Culture,Shoot Induction and Multiplication of *Pugionium cornutum*

KANG Li-ru,SHI Ling,ZHANG Qi-li,TIAN Rong-wei,ZHANG Dong-hui,HAO Meng-jie
(College of Agronomy,Inner Mongolia Agricultural University,Hohhot,Inner Mongolia 010019)

Abstract: Taking aseptic seed-derived plantlets as explants, effect of light intensity on meristem culture, effect of concentration of 6-BA and IBA on shoot inducement and multiplication of *P. cornutum* and effect of disinfection method on filed explants were also studied. The results showed that the optimum light intensity for culturing apical meristem of *P. cornutum* was 3 600 lx; the optimum medium of stem segments explants the basal B5 medium supplemented with 5.0 mg/L 6-BA and 0.5~1.0 mg/L IBA, the generation rate was 93.3%~96.7% and the average number of buds induction was 4.2~4.3; the highest shoot proliferation rate of 3.44 times was obtained on the medium of B5+6-BA 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L, shoot clusters induction rate could reach 93.1%; a 30 seconds disinfection time with a 70% alcohol solution, and then 0.1% HgCl₂ for 10~12 minutes were the best disinfection method. The contamination rate was 10%, the survival frequency reached to 85%, browning rate was only 20%. However for longer growth periods and lower shoot proliferation capacity, these explants were not suitable for the propagation of *P. cornutum*.

Keywords: *Pugionium cornutum*; apical meristem; axillary; induction; proliferation

参考文献

- [1] 赵一之. 蒙古高原的特有属及其基本特征[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版), 1997, 28(4): 548.
- [2] 马毓泉. 内蒙古植物志[M]. 3 版 2 卷. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1990: 612-616.
- [3] 赵一之. 沙芥属的分类校正及其区系分析[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版), 1999, 30(2): 197-199.
- [4] 郝丽珍, 翟胜, 贾晋, 等. 沙芥营养生长规律及叶片解剖结构的研究[J]. 华北农学报, 2004, 19(4): 66-69.
- [5] 曹晓明. 沙区食用植物-沙芥的开发利用[J]. 中国水土保持, 1994(3): 48-49.
- [6] 富象乾. 内蒙古饲用植物名录[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1990.
- [7] 陈默君, 贾慎修. 中国饲用植物[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 1116-1117.
- [8] 中国药材公司. 中国中药资源志要[M]. 北京: 科学出版社, 1994: 455.
- [9] 冉先德. 中华药海(下册)[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1993: 919.
- [10] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 1162.
- [11] 张凤兰, 郝丽珍, 王萍, 等. 蒙古高原沙芥属野菜的种类资源考察及利用现状[C]. 全国蔬菜和薯类种质资源研究与利用研讨会论文集, 2006.
- [12] Wickson M, Thimann K V. The Antagonism of Aucin and Kinetin in Apical Dominance[J]. Physiol Plant, 1958, 11: 62.
- [13] 李丁仁, 孙尚忠, 李爽, 等. 沙芥植物学形态与解剖结构的研究[J]. 宁夏农林科技, 2008(2): 1-2.
- [14] 张睿, 魏安智, 杨途熙. 沙芥愈伤组织培养的初步研究[J]. 西北林学院学报, 2005, 20(3): 84-86.
- [15] Kuo C G, Tsay J S. Propagating Chinese cabbage of Axillary Bud Culture[J]. Horticulture Science, 1997, 12(5): 456-457.
- [16] 巩振辉, 申书兴. 植物组织培养[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 64.