

# 不同植物生长调节剂对橡胶草组培苗 不定芽分化和生根的影响

陈 菲, 沈 光, 曲彦婷, 李 黎, 韩 辉, 熊 燕

(黑龙江省科学院 自然与生态研究所, 湿地与生态保育国家地方联合工程实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘 要:**以橡胶草为试材, 研究不同植物生长调节剂(6-苄氨基腺嘌呤, 简称 6-BA; 萘乙酸, 简称 NAA)对橡胶草组培苗不定芽分化和生根的影响。结果表明:不同 6-BA 和 NAA 激素配比对橡胶草组培苗不定芽分化影响差异显著, 诱导不定芽分化的最佳培养基为 MS+6-BA  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; NAA 对橡胶草组培苗生根有明显促进作用, 最佳生根培养基为  $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**关键词:**橡胶草; 组织培养; 不定芽分化

**中图分类号:**S 576 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)19-0095-04

植物生长调节剂是培养基中的关键物质, 用量虽然微小, 但其作用很大, 根据组织培养的目的、外植体的种类、器官的不同和生长表现来确定植物生长调节剂的种类、浓度和比例关系, 可以调节植物组织的生长发育进程、分化方向和器官发生, 植物生长调节物质对植物组织培养起着决定性作用, 也是培养基的“秘诀”<sup>[1]</sup>。

橡胶草(*Taraxacum koksaghyz* Rodin)属菊科蒲公英属多年生宿根草本植物, 其根中含有 2.89%~27.89%的橡胶<sup>[2-3]</sup>, 被公认为是世界上三大天然橡胶植物之一<sup>[2-3]</sup>。同时橡胶草可以作为模式植物对橡胶生物合成进行研究, 所以橡胶草具有重要的科研和经济价值。

自从 2005 年以来, 世界各国不断加大了对橡

胶草的研发投入。目前国内学者对橡胶草的研究仍处于初级阶段, 在引种驯化、繁殖栽培、橡胶检测及提取、提取设备等方面开展了一系列工作<sup>[4]</sup>。国外学者在橡胶草的栽培、影响橡胶合成的因素、分子遗传转化等方面做了相关研究<sup>[5-6]</sup>。

该研究以橡胶草组培苗为试材, 利用正交实验设计探讨 6-BA 与 NAA 及二者交互作用对橡胶草不定芽分化的影响, 研究不同 NAA 浓度对橡胶草组培苗生根的影响。该试验是在橡胶草无菌培养建立的基础上进行的, 橡胶草经无菌培养的建立和初代培养的启动生长后, 进入继代培养和快速增殖阶段, 以期在橡胶草的组培再生体系和遗传转化体系的建立奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为橡胶草初代培养启动生长的组培苗, 由黑龙江省科学院自然与生态研究所组培室提供。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 继代增殖培养基的筛选

以 MS 为基本培养基, 添加不同浓度的 6-BA 和 NAA 作为分化激素, 采用正交设计 2 因素 3

**第一作者简介:**陈菲(1977-), 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向为园林植物育种与栽培及相关生物技术应用。E-mail: zyscf@126.com.

**责任作者:**曲彦婷(1976-), 女, 博士研究生, 研究员, 研究方向为园林植物育种与栽培及相关生物技术应用。E-mail: 290971992@qq.com.

**基金项目:**哈尔滨市科技创新人才资助项目(2015RQQXJ090)。

**收稿日期:**2017-06-20

水平,研究不同种类和不同浓度的外源激素对橡胶草不定芽分化的影响,筛选出适于橡胶草继代增殖的培养基配方。不同激素配比详见表1,共9个处理,每处理3次重复,培养30 d后统计不定芽分化率。分化率(%)=(分化的愈伤组织数/接种的愈伤组织数)×100。

表1 正交实验因素及水平

Table 1 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平 Level	因素 Factors	
	6-BA/(mg·L <sup>-1</sup> )	NAA/(mg·L <sup>-1</sup> )
1	1.0	0.1
2	2.0	0.2
3	3.0	0.3

### 1.2.2 生根培养基的筛选

以1/2MS和MS为基本培养基,添加不同浓度NAA,共计10个处理(表2),研究NAA对橡胶草生根的影响,筛选出适于橡胶草生根培养的培养基配方。20 d后统计生根率。生根率(%)=(生根的苗数/所有生根处理的苗数)×100。

表2 不同生根培养基

Table 2 Different root mediums

编号 Number	培养基 Culture medium /(mg·L <sup>-1</sup> )	编号 Number	培养基 Culture medium /(mg·L <sup>-1</sup> )
1	MS+0.1 NAA	6	1/2MS+0.1 NAA
2	MS+0.2 NAA	7	1/2MS+0.2 NAA
3	MS+0.3 NAA	8	1/2MS+0.3 NAA
4	MS+0.4 NAA	9	1/2MS+0.4 NAA
5	MS+0.5 NAA	10	1/2MS+0.5 NAA

### 1.2.3 培养条件

继代和生根培养基均以MS为基本培养基,添加蔗糖30 g·L<sup>-1</sup>,琼脂粉5.5 g·L<sup>-1</sup>,pH 5.8~6.0,高压灭菌锅121℃灭菌20 min,培养温度(25±2)℃,光照强度1 500~2 000 lx,每天光照16 h。

### 1.3 数据分析

运用对比试验统计方法处理数据,差异显著性分析采用Duncan's的新复极差法(SSR)。试验数据处理采用DPS软件进行分析,3个水平处理之间用Duncan's测验作显著性分析,不同的小写字母表示差异达到P<0.05水平。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素配比对橡胶草不定芽分化的影响

将愈伤组织接种到分化培养基上,进行组织

和器官的分化,形成不定芽。不定芽的产生与培养基中生长素和细胞分裂素的比例有关,在二者配合使用的情况下,橡胶草不定芽分化的情况也各不相同。

由表3可知,6-BA与NAA及二者交互作用对橡胶草不定芽分化的影响均达到显著水平;最优培养基为培养基4号。

表3 正交实验不同培养基橡胶草的分化系数

Table 3 Design of orthogonal experiment design

编号 Number	6-BA	NAA	6-BA× NAA	空列 Empty column	分化系数 Differentiation
1	1	1	1	1	2.06
2	1	2	2	2	3.34
3	1	3	3	3	3.56
4	2	1	2	3	5.76
5	2	2	3	1	4.17
6	2	3	1	2	3.67
7	3	1	3	2	3.40
8	3	2	1	3	2.89
9	3	3	2	1	2.67
K <sub>1</sub>	3.375	3.165	3.293	3.015	
K <sub>2</sub>	2.975	3.935	4.015	2.875	
K <sub>3</sub>	3.245	3.675	3.185	3.295	
R	0.40	0.77	0.83	0.42	

由表4可以看出,9种不同激素配比的培养基对橡胶草不定芽分化的影响存在较大的差异。4号培养基配方不定芽增殖分化情况最好,分化率最高。在MS+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>培养基中,不定芽分化快,丛生芽多,生长状况好,而且增殖迅速,分化率可达89.7%。

### 2.2 不同培养基对橡胶草生根的影响

选取相同培养条件下株高2~3 cm的健壮小苗转接到不同配方的生根培养基中。从表5可以看出,在NAA浓度相同的情况下,在1/2MS培养基中生根效果好,生根率高,要优于MS培养基。试验表明,NAA对橡胶草组培苗生根有促进作用,将不同浓度的NAA附加到1/2MS培养基中,在NAA浓度为0.2 mg·L<sup>-1</sup>时,橡胶草生根情况最好,生根率最高,可达93.3%,可知橡胶草的最佳生根培养基为1/2MS+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>。

表 4 不同浓度配比的 6-BA 和 NAA 对不定芽分化的影响

Table 4 Effect of different concentration of 6-BA and NAA on adventitious bud differentiation

编号 Number	6-BA /(mg · L <sup>-1</sup> )	NAA /(mg · L <sup>-1</sup> )	不定芽分化情况 Bud differentiation	生长势 Growth vigor	分化率 Differentiation rate/%
1	1.0	0.1	芽分化少,生长缓慢	*	21.3
2	1.0	0.2	不定芽分化慢,有少量芽分化	* *	36.6
3	1.0	0.3	有少量芽分化,生长状况不好	* *	43.3
4	2.0	0.1	不定芽分化快,丛生芽多且生长状况好,增殖快	* * * * *	89.7
5	2.0	0.2	不定芽分化快,丛生芽多,生长较好	* * * *	73.3
6	2.0	0.3	不定芽分化较快,生长状况较好	* * *	56.6
7	3.0	0.1	不定芽分化较快,丛生芽多且生长状况好	* * * *	75.6
8	3.0	0.2	不定芽分化较快,生长状况较好	* * *	53.3
9	3.0	0.3	不定芽分化慢,生长不好	* *	43.3

表 5 不同浓度的 NAA 对生根的影响

Table 5 Effect of different concentration of NAA on root differentiation

编号 Number	培养基 Culture medium	NAA /(mg · L <sup>-1</sup> )	生根情况 Rooting status	生根率 Rooting rate/%
1	MS	0.1	生根少	31.3
2	MS	0.2	苗弱,生根较多	56.6
3	MS	0.3	苗细弱,生根较多	53.3
4	MS	0.4	生根较少	46.7
5	MS	0.5	苗弱,生根较少	43.3
6	1/2MS	0.1	苗健康,生根较多	75.6
7	1/2MS	0.2	苗健壮,根粗壮,根系发达	93.3
8	1/2MS	0.3	苗健康,根系较多	83.3
9	1/2MS	0.4	苗健康,生根较多	67.6
10	1/2MS	0.5	苗弱,根细长	53.3

3 结论与讨论

以 MS 为基本培养基,添加不同浓度的 6-BA 和 NAA,研究不同激素配比的培养基对橡胶草不定芽分化的影响;以 MS 和 1/2MS 为基本培养基,研究添加不同浓度 NAA 对橡胶草生根的影响。结果表明,MS+6-BA 2.0 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg · L<sup>-1</sup>培养基不定芽分化最好,分化率为 89.7%;在 1/2MS+NAA 0.2 mg · L<sup>-1</sup>培养基中,生根率最高,可达 93.3%。该研究通过橡胶草组织培养各个阶段最佳培养基的筛选,建立稳定而高效的橡胶草组织培养与快速繁殖体系,为

橡胶草的离体保存技术研究提供技术支持,为橡胶草的遗传转化研究奠定基础。

在植物组织培养中,细胞分裂素与生长素的比值控制器官发育模式,若增加生长素浓度,有利于根的形成;增加细胞分裂素浓度则促进芽的分化<sup>[7]</sup>。如何控制好这个配比,找到二者的最佳比值,是课题组一直致力研究。

参考文献

[1] 巩振辉,申书兴.植物组织培养[M].2版.北京:化学工业出版社,2015:41-42.  
[2] MOOIBROEK H,CORNISH K. Alternative sources of natural rubber[J]. Appl Microbiol Biotechnol,2000,53(4):355-365.  
[3] van BEILEN J B,POIRIER Y. Establishment of new crops for the production of natural rubber[J]. Trends in Biotechnology, 2007,25(11):522-529.  
[4] 龚祝南,张卫明,刘常宏,等.中国蒲公英属植物资源[J]. 中国野生植物资源,2001,20(3):9-14.  
[5] SCHMIDT T, HILLEBRAND A, WURBS D. Molecular cloning and characterization of rubber biosynthetic genes from *Taraxacum koksaghyz*[J]. Plant Molbiol Rep,2010(28):277-284.  
[6] WAHLER D,GRONOVER C S, RICHTER C. Polyphenol-oxidase silencing affects latex coagulation in *Taraxacum* species [J]. Plant Physiology,2009,151:334-346.  
[7] 李永文,刘新波.植物组织培养技术[M].北京:北京大学出版社,2007.

Effects of Different Plant Growth Regulators on Adventitious Bud Differentiation and Rooting in Tissue Culture Seedlings of *Taraxacum koksaghyz*

CHEN Fei, SHEN Guang, QU Yanting, LI Li, HAN Hui, XIONG Yan

(Institute of Natural Resources and Ecology, HAS., National and Provincial Joint Engineering Laboratory of Wetlands and Ecological Conservation, Harbin, Heilongjiang 150040)

## 盐生植物大穗结缕草种子萌发特性及其对盐旱胁迫的响应

赵丽萍<sup>1,2</sup>, 姚志刚<sup>1</sup>, 谢文军<sup>2</sup>, 刘俊华<sup>1</sup>

(1. 山东省黄河三角洲野生植物资源开发利用工程技术研究中心, 山东 滨州 256600;

2. 山东滨州学院 生物工程学院, 山东 滨州 256603)

**摘 要:**以大穗结缕草为试材,研究了光照/黑暗、温度、盐胁迫和干旱胁迫对大穗结缕草种子萌发特性的影响。结果表明:种子萌发为非需光种子,种子萌发最适温度范围为25~30℃;当NaCl浓度为100 mmol·L<sup>-1</sup>时,大穗结缕草种子最终萌发率与对照无显著差异,但种子发芽势和活力指数与对照有明显差异。当浓度为150~200 mmol·L<sup>-1</sup>时,显著抑制大穗结缕草种子的萌发。种子耐盐临界浓度和极限浓度分别为144.12、244.12 mmol·L<sup>-1</sup>;随着干旱胁迫程度的增加,萌发进程所用时间增长,最终萌发率也显著下降,50 g·L<sup>-1</sup> PEG模拟干旱胁迫对种子萌发无显著影响,种子的耐旱临界浓度和极限浓度分别为90.95、155.05 g·L<sup>-1</sup>。综上所述,大穗结缕草种子在萌发期表现出一定的抗盐性和抗旱性。

**关键词:**大穗结缕草;种子萌发特性;盐旱胁迫

**中图分类号:**S 551<sup>+</sup>.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)19-0098-06

大穗结缕草(*Zoysia macrostachya* Franchet, Sav.)属禾本科虎耳草亚科结缕草属多年生低矮草本植物,又名江茅草,区别于同属其它种的特征是其花序基部有叶鞘包被<sup>[1]</sup>,因果穗和种子均较一般结缕草大而得名。大穗结缕草在中国主要

分布在辽宁、山东及江浙等地沿海海拔0.5~2.0 m的潮沟两侧,常在滨海盐土带形成海滩原生群落,所在生境土壤pH 8.5~9.5<sup>[2-3]</sup>,其耐盐能力强,属盐生植物<sup>[4]</sup>。

大穗结缕草具有发达的根茎,能形成结构良好、富有弹性的草坪,适用于足球场、高尔夫球场等运动场草坪的建植,随着次生盐渍化土壤的增多以及盐碱地区草坪建植的需要,人们对耐盐草坪草的需求日益增长,大穗结缕草具有的天然抗盐性受到人们的青睐,将会成为盐碱地区建植草坪的优良草种选择。

**第一作者简介:**赵丽萍(1979-),女,山东广饶人,本科,副教授,现主要从事植物资源与抗逆生理研究工作。  
E-mail:zhaoliping\_bz@163.com

**基金项目:**山东省自然科学基金资助项目(ZR2010CL010);滨州学院科研基金资助项目(BZXYL1001)。

**收稿日期:**2017-04-05

**Abstract:** *Taraxacum koksaghyz* was used as the experimental material, effects of different plant growth regulators on adventitious bud differentiation and rooting in tissue culture seedlings of *Taraxacum koksaghyz* were studied. The results showed that effects of different plant growth regulators were significantly different. The best culture medium of differentiation of adventitious buds was MS+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>. And NAA was significant for the root induction of *Taraxacum koksaghyz*. The best culture medium of rooting was 1/2MS+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>.

**Keywords:** *Taraxacum koksaghyz*; tissue culture; adventitious bud differentiation