

# 半边莲组织培养和快速繁殖

王广军<sup>1</sup>, 张彦妮<sup>2</sup>

(1. 中共黑龙江省委党校 黑龙江 哈尔滨 150080; 2. 东北林业大学 园林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:** 半边莲生长繁茂, 分枝多, 叶密集, 纤细隽美, 是花坛、园林镶边、组合盆栽和彩坛栽植的完美选择。近几年, 随着半边莲应用价值的不断发掘, 对半边莲的培养和繁殖越发引起人们重视。试验运用组织培养技术, 以 MS 为基本培养基, 通过比较附加不同种类和浓度的植物生长调节物质 (2, 4-D、NAA、6-BA) 对半边莲茎段和叶片愈伤组织诱导和分化的影响, 筛选出了适宜的培养基配方, 获得了生长良好的愈伤组织和完整的半边莲再生植株, 建立了一个半边莲快速繁殖程序。结果表明, 外植体在 MS+0.5 mg/L 2, 4-D 上可诱导愈伤组织; 在培养基 MS+0.3 mg/L 6-BA 上可以诱导愈伤组织分化出腋芽; 在培养基 MS+0.7 mg/L NAA 上可诱导无根系植株短期内产生大量根系, 形成完整植株。移栽后成活率可达 85%。

**关键词:** 半边莲; 组织培养; 愈伤组织

**中图分类号:** S 604<sup>+</sup>.3; S 681.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)05-0209-02

半边莲 (*Lobelia chinensis*) 又称为细米草、瓜仁草、急解索, 是桔梗科半边莲属多年生草本花卉, 因其植株低矮, 分枝多, 叶密集, 纤细隽美, 是花坛、园林镶边、组合盆栽和彩坛栽植的完美选择。喜湿, 稍耐荫, 也适用于较阴湿处作观赏草坪。半边莲盛花期时, 成千上万的小花簇拥在枝头, 繁茂的花簇把整个植株包裹得严严实实, 十分漂亮。

目前, 对半边莲组织培养的研究仅见于王连平、刘强等对半边莲 (*Lobelia Chinensis* Lour.) 离体茎段再生进行了研究。此外, 日本学者 Ishimara 等 (1992) 对与半边莲同科的植物 *Lobelia inflata* 进行了组培发根的研究。随着半边莲应用价值的逐渐发掘, 人们越来越重视半边莲的繁殖以及栽培品种的不断更新。目前国内花卉市场上只有半边莲的种子和播种穴盘苗供应, 国外一些专利无性扦插繁殖的品种在国内很难见到, 常规育种方法繁育半边莲已经不能满足人们日益增长的需求。因而用植物组织培养技术研究半边莲的离体快速繁殖, 品种更新和大规模工厂化生产, 尽快满足人们日益增长的需求就显出其优越性了。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料来源于东北林业大学花卉研究所温室种植的半边莲。

### 1.2 试验方法

先用自来水冲洗选取的植物材料, 然后用洗衣粉水浸泡和冲洗 15 min 左右。再在超净工作台用 0.1% 升汞 (HgCl<sub>2</sub>) 消毒 7 min。处理后用无菌水冲洗 3~4 次。经过表面灭菌的材料用无菌滤纸将水吸掉。再用解剖刀切取茎尖下的茎段及叶片, 通常几毫米大小, 切去茎段两端因消毒而坏死的切口, 茎段保留长度为 4~6 mm; 将叶片边缘剪切, 然后, 将材料用枪式镊子接种到不同培养基上进行培养。培养温度为 (25±1) °C, 光照时间为 16 h, 光照强度为 2 000~3 500 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 愈伤组织的诱导

在以茎段为外植体时, 茎段在培养 8~12 d 后, 茎段两端产生愈伤组织, 翠绿色, 少数为白色, 直径 0.3~0.5 cm。培养 10~15 d 后, 培养基中茎段两端切口处少数愈伤组织白色, 呈球体状, 直径 0.8~1.3 cm。以 MS 2 培养基的茎段愈伤组织最明显、最大, 尤其是 2, 4-D 浓度为 0.5 mg/L (表 1)。此外, 从表 1 可看出, 随着 2, 4-D 浓度的增加, 茎段的出愈率先增加, 在 2, 4-D 浓度为 0.5 mg/L 时达到最大, 然后, 随着 2, 4-D 浓度的增加而降低。愈伤组织的生长情况在 2, 4-D 浓度为 0.5 mg/L 时最好。

在诱导叶片愈伤组织培养基中, 培养 7~12 d 后, 叶片变为淡灰色, 水渍状, 无明显愈伤组织产生。培养 14~18 d 后叶片周边膨胀, 有淋巴状愈伤组织产生, 颗粒状, 浅绿色, 直径 0.1~0.4 cm。培养 16~23 d 后叶片愈伤组织呈颗粒状, 直径 0.5~1.0 cm。同样, 随着 2, 4-D 浓度的增加, 叶片的出愈率先增加, 在 2, 4-D 浓度为 0.5 mg/L 时叶片的出愈率达到最大 (表 2), 然后, 随着 2, 4-D 浓度的增加而降低。

第一作者简介: 王广军 (1974), 男, 工程师。E-mail: wgwjls@126.com.

收稿日期: 2008-01-16

表 1 不同浓度 2, 4-D 对茎段愈伤组织诱导和生长的影响 (15 d)					
2, 4-D 浓度 /mg · L <sup>-1</sup>	接种茎段数/ 个	产生愈伤组织块数/ 个	出愈率 /%	愈伤组织颜色	生长状况
0.1	48	34	70.83	翠绿色 无光泽 直径 0.3~0.7 cm	++
0.3	41	36	87.80	翠绿色 无光泽 少数白色, 直径 0.5~0.9 cm	+++
0.5	45	41	91.10	翠绿色 无光泽 0.7~1.3 cm	++++
0.7	47	37	78.72	翠绿色 无光泽 少数白色, 直径 0.6~1.0 cm	++

注 生长一般++, 生长较好+++ , 生长最好++++。下表同。

表 2 不同浓度 2, 4-D 对叶片愈伤组织诱导和生长的影响 (25 d)					
2, 4-D 浓度 /mg · L <sup>-1</sup>	接种叶片数/ 个	产生愈伤组织块数/ 个	出愈率 /%	愈伤组织颜色	生长状况
0.1	45	34	75.55	翠绿色 无光泽 直径 0.5~0.7cm	++
0.3	43	35	81.39	翠绿色 无光泽 少数白色, 直径 0.6~0.9 cm	+++
0.5	47	42	89.36	翠绿色 无光泽 直径 0.7~1.0cm	++++
0.7	46	37	80.43	翠绿色 无光泽 少数白色, 直径 0.5~0.7cm	+++

2.2 不定芽的形成

试验愈伤组织再分化形成再生植株的方式为先产生芽, 后在茎的基部长根。培养过程中发现 在MS 3 培养基上的外植体愈伤组织分化最明显。接种于培养基中的茎段愈伤组织在 18~25 d 后, 开始产生不定芽, 芽体长度为 1.5~2.6 cm, 分化率随 6-BA 浓度的增加先增加后减少(表 3)。此外, 从表 3 中可看出茎段愈伤组织的分化以 6-BA 0.3 mg/L 培养基产生的不定芽最多, 生长最快。每个茎段产生不定芽 6~12 个。

接种于 MS 3 培养基中的叶片愈伤组织 27~32 d 开始产生不定芽, 与茎段产生的不定芽相似, 叶片愈伤组织产生的不定芽也为白色, 芽体长度为 0.8~2.5 cm, 分化率随 6-BA 浓度的增加先增加后减少, 每个叶片产生不定芽 4~7 个(表 4)。同样, 叶片愈伤组织的分化以 6-BA 0.3 mg/L 培养基产生的不定芽最多, 生长最快。

表 3 不同 6-BA 浓度对茎段不定芽体诱导和生长的影响 (25 d)					
6-BA 浓度 /mg · L <sup>-1</sup>	接种茎段数/ 个	芽体数量/ 个	分化率 /%	芽体长度/ cm	芽体长势
0.1	46	39	84.78	1.5~2.0	+++
0.3	56	52	92.85	2.5~3.0	++++
0.5	43	37	86.05	1.7~2.4	+++
0.7	50	41	82.00	1.8~2.6	++

表 4 不同 6-BA 浓度对叶片不定芽体诱导和生长的影响 (35 d)					
6-BA 浓度 /mg · L <sup>-1</sup>	接种叶片数/ 个	芽体数量/ 个	分化率 /%	芽体长度/ cm	芽体长势
0.1	51	42	82.35	0.8~1.4	+++
0.3	56	49	87.50	1.2~2.5	++++
0.5	47	38	80.85	1.5~2.1	+++
0.7	46	35	76.08	1.4~1.9	++

2.3 不定芽生根诱导

接种茎段在 MS 0 和 MS 1 培养基上培养 30~35 d 后就可形成完整植株, 高度 5~10 cm。叶片在 MS 0 和 MS 1 培养基上培养 37~42 d 后就可形成完整植株, 高为 4~7 cm。培养 30~43 d 后在 MS 2 和 MS 3 培养基接种的茎段形成无根系不完整植株, 高度 6~9 cm。培养 40~48 d后在 MS 2 和 MS 3 培养基接种的叶片形成无根系不完整植株, 高度 5~8 cm。

培养基中无根系的不完整植株如不继代到生根培养基中生根培养, 将无法继续生长。因此将 MS 2 和 MS 3 中无根系的不完整植株继代到 MS 4 中进行生根培养。在培养 38~47 d 后, 茎段无根系不完整植株开始生根, 根系细长, 白色, 并且随着 NAA 浓度的增加, 根系生长逐渐增多, 根长逐渐增长, 以 NAA 0.7 mg/L 根系生长最多、最长, 长度为 3~4.5 cm(表 5)。

在培养 46~57 d 后, 叶片的不完整植株开始生根, 白色, 纤细, 长度为 2~3.6 cm, 并与接种茎段的不定芽生根状况相似, 接种叶片不定芽产生的根系随着 NAA 浓度的增加逐渐增多, 根长逐渐增长, 以 NAA 0.7 mg/L根系生长最多、最长, 长度为 2.5~4.0 cm(表 6)。

表 5 不同 NAA 浓度对接种茎段生根的影响 (55 d)					
NAA 浓度 /mg · L <sup>-1</sup>	欲生根茎段数/ 个	生根茎段数/ 个	生根率 /%	生根长度/ cm	生根长势
0.1	94	75	79.78	2.6~3.2	++
0.3	97	79	81.44	3.0~3.8	++
0.5	88	80	90.90	3.2~4.0	+++
0.7	97	92	94.84	3.0~4.5	++++

表 6 不同 NAA 浓度对接种叶片生根的影响 (45 d)					
NAA 浓度 /mg · L <sup>-1</sup>	欲生根叶片数/ 个	生根叶片数/ 个	生根率 /%	生根长度/ cm	生根长势
0.1	96	78	81.25	2.5~3.0	++
0.3	99	83	83.83	2.7~3.5	++
0.5	94	85	90.92	3.2~3.7	+++
0.7	92	89	96.73	3.3~4.0	++++

2.4 练苗驯化及移栽

半边莲试管苗是在无菌、有营养供给、适宜光照和温度、近 90%的相对湿度环境条件下生长的, 因此, 在生理、形态等方面都与自然条件生长的半边莲很大差异。所以必须通过练苗, 使它们逐渐地适应外界环境, 从而在生理、形态、组织上发生相应变化, 使之更适于自然环境, 这样才能保证试管苗顺利移栽成功。

试验在半边莲试管苗根长为 3~5 cm 时, 去掉三角瓶的透气膜, 光照强度减为 1 000 lx 左右, 进行练苗。经过 10 d 练苗后, 用自来水洗掉小苗根部残余培养基洗净, 分别移栽到盛有腐殖土的花盆中, 保证空气湿度在 80%以上, 放置于荫凉处 3~5 d, 移栽到苗圃中, 成活率为 85%。