

蛇莓的组织培养与快速繁殖

薄 涛, 王子成

(河南大学 生命科学学院, 河南 开封 475001)

摘 要: 以蛇莓茎尖为外植体, 研究不同激素浓度和组合对蛇莓组织培养的影响。结果表明: 诱导培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L 时达到最佳效果; 最佳增殖培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.01 mg/L; 生根培养基使用 MS 时效果比较理想。

关键词: 蛇莓; 茎尖; 组织培养
中图分类号: S 567.23⁺9 文献标识码: A
文章编号: 1001-0009(2010)08-0147-02

蛇莓为蔷薇科蔷薇亚科蛇莓属多年生草本植物, 全株有柔毛。花期 4 月、果期 5 月。蛇莓全草可入药, 有一定的药用价值, 有清热、凉血、消肿、解毒功效。对热病、惊痫、咳嗽、吐血、咽喉肿痛、痢疾、痈肿、疔疮、蛇虫咬伤、火伤均有一定疗效。近年发现该植物中含有酚酸和三萜类成分, 具有显著的抗氧化和抗肿瘤等药理活性。目前蛇莓的研究主要集中在药理药性、药用价值、毒理毒性、化学成分研究, 园林应用及其组织快繁研究极少。而各种研究均需大量供试材料, 仅靠野生蛇莓不能满足需求, 并受到时间和地域等限制。现以蛇莓茎尖作为研究对象, 建立适当的组培体系, 使其能在短期内获得大量蛇莓幼苗, 而解决野生蛇莓试验材料不足和受时间地域限制的问题。

1 材料与方法

1.1 供试材料

取自河南宝天曼国家自然保护区野生蛇莓。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的处理与消毒 采集健壮匍匐茎, 用洗洁精清洗干净, 流水下冲洗 1 h, 在超净台上, 用 75% 酒精消毒 30 s, 再用升汞溶液消毒 7 min, 无菌水冲洗 5~6 次。用无菌滤纸吸干茎段表面的水分, 选取含有茎尖部分, 并只留 1 个茎尖, 接种到芽诱导培养基。

第一作者简介: 薄涛(1983-), 男, 在读硕士, 现主要从事遗传学研究工作。E-mail: botao233@163.com.
通讯作者: 王子成(1974-), 男, 博士, 副教授, 现主要从事表观遗传学研究。E-mail: wzc@henu.edu.cn.
基金项目: 河南省科技发展技术研究资助项目(092102110160)。
收稿日期: 2009-12-10

1.2.2 诱导培养 将灭菌成功的外植体分为 7 组, 分别接入加有 0.5~5.0 mg/L 6-BA 的 7 种 MS 诱导培养基中。每组 3 瓶, 每瓶接入 5 棵, 每瓶为 1 次重复。30 d 后观察诱导出的不定芽总数及其生长情况, 筛选合适的诱导培养基, 并在后续的培养中加以应用。

1.2.3 增殖培养 以 MS 为基本培养基。在基本培养基中附加 2.0 mg/L 6-BA 和 0.01~0.5 mg/L IBA 或 NAA。将诱导出的丛生芽在超净工作台上切分为只带有 1 个茎尖的试管苗, 接入增殖培养基。每组 3 瓶, 每瓶接入 5 棵, 每瓶为 1 次重复。30 d 后观察增殖培养后产生不定芽的总数, 计算繁殖系数, 筛选最佳的增殖培养基。

1.2.4 生根培养 选取生长健壮且长势一致的试管苗进行生根处理。要求苗高 2~3 cm, 每株带有 2~3 片叶。生根培养基为 MS、1/2MS 和 1/4MS, 共 3 种, 并附加 0.00~0.2 mg/L IBA。每组 3 瓶, 每瓶接入 5 棵, 每瓶为 1 次重复。30 d 后观察生根培养效果, 统计生根率、平均根长、平均根数和始生根天数(根长约为 1~2 mm 时录入), 筛选最佳的生根培养基。

1.3 培养条件

所有培养基均加 3% 蔗糖和 7.0 g/L 琼脂, pH 5.8。室内培养温度为(24±1)℃, 光照时间为 12 h/d, 光照强度为 30 μmol·m⁻²·s⁻¹。

2 结果与分析

2.1 不同 6-BA 浓度对外植体诱导的影响

从表 1 看出, 用 MS+2.0 mg/L 6-BA 培养基对蛇莓外植体进行诱导培养, 诱导的不定芽数明显优于其它培养基。当显著性水平为 0.05 时, 存在统计学意义。试验中观察发现, 在植株基部有愈伤组织存在, 从其基部发出新的幼苗。但随 6-BA 浓度的升高愈伤组织逐渐增大, 而不定芽数呈现先增加后减小的趋势。上述 7 种培养基, 在培养过程中均无玻璃化现象出现, 且生长势良好, 均可用于下步试验。

表 1 不同 6-BA 浓度对外植体诱导的影响

6-BA/ mg·L ⁻¹	平均不定芽数/ 个
0.5	11.33±1.54b
1.0	13.47±2.83b
1.5	17.07±2.60c
2.0	19.87±1.51d
3.0	12.60±3.02b
4.0	10.33±3.99ab
5.0	8.53±2.36a

2.2 不同激素浓度及组合对外植体增殖的影响

在不考虑所用激素 IBA 或 NAA 浓度时, IBA 对外植体的增殖效果要明显好于 NAA。从增殖能力看, IBA 和 NAA 都随浓度的增加而减小。虽然在使用 0.10 与 0.50 mg/L IBA 的增殖数值上存在差异, 但统计后发现不具有统计学意义, 二者不存在显著差异。另外, 实验

过程中发现,在使用 IBA 时能明显的诱导出大量匍匐茎,而 NAA 较少。使用 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.01 mg/L进行培养时,增殖系数能达到 9.47。在显著水平为 0.05 时,和其它培养基相比存在显著性差异,所以认为使用 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.01 mg/L 进行培养能达到明显的增殖效果。

表 2 6-BA 浓度 2.0 mg/L 条件下不同 IBA、NAA 浓度对外植体增殖的影响

处理/ mg · L ⁻¹	接种数/ 个	不定芽数/ 个	增殖系数
IBA 0.01	15	142	9.47e
IBA 0.05	15	94	6.27 ad
IBA 0.10	15	81	5.40c
IBA 0.50	15	85	5.67 ad
NAA 0.01	15	96	6.40d
NAA 0.05	15	81	5.40 bc
NAA 0.10	15	58	3.87b
NAA 0.50	15	33	2.20a

2.3 不同生根培养基对外植体生根的影响

从表 3 看出,相对其它植物而言蛇莓生根较为容易,所使用的生根培养基均能使蛇莓生根,且生根率均可到达 100%。从根长来看,MS+IBA 0.10 mg/L 生根培养基与 1/2MS+IBA 0.10 mg/L、1/2MS+IBA 0.20 mg/L 在显著性水平为 0.05 时存在显著性差异,与其它生根培养基无显著性差异。从根数来看,MS+IBA 0.10 mg/L 和 MS+IBA 0.20 mg/L 生根培养基与其它生根培养基在显著性水平为 0.05 时都存在显著性差,而二者之间不存在显著性差异。从生根天数来看,MS+IBA 0.20 mg/L 生根培养基与 MS、MS+IBA 0.05 mg/L、MS+IBA 0.10 mg/L、1/2MS、1/2MS+IBA 0.05 mg/L、1/4MS在显著性水平为0.05时存在显著性差异外,与其它生根培养基无显著性差异。综合根长、根数、生根天数及成本 4 个因素考虑,认为使用 MS 培养基就能够达到较为理想的生根效果。另试验观察发现,所有生根培养基根系诱导出的根系呈放射状,而且根密色白。

表 3 不同生根培养基对外植体生根的影响

处理/ mg · L ⁻¹	生根率	平均根长	平均根数	生根天数
	/ %	/ cm	/ 条	/ d
MS	100	4.15±0.92 ab	6.73±1.58b	6.53±2.72a
MS+0.05 IBA	100	3.84±0.71 ab	6.87±1.85b	7.60±2.20a
MS+0.10 IBA	100	4.23±0.82b	4.20±1.57a	7.67±2.13a
MS+0.20 IBA	100	3.76±1.18 ab	4.00±1.20a	12.07±5.91b
1/2MS	100	3.40±0.99 ab	6.13±1.68b	8.07±3.35a
1/2MS+0.05 IBA	100	3.48±1.30 ab	5.93±2.05b	7.87±1.88a
1/2MS+0.10 IBA	100	3.09±0.72a	5.60±1.55b	10.27±3.84 ab
1/2MS+0.20 IBA	100	3.09±0.65a	6.00±1.73b	10.13±3.27 ab
1/4MS	100	3.58±0.83 ab	6.53±1.55b	7.27±1.83a
1/4MS+0.05 IBA	100	3.67±0.81 ab	6.13±1.60b	9.00±2.62 ab
1/4MS+0.10 IBA	100	3.86±0.92 ab	6.47±2.20b	9.80±3.00 ab
1/4MS+0.20 IBA	100	3.82±0.59 ab	5.80±1.42b	9.27±3.35 ab

2.4 移栽

将已生根的试管苗连瓶置于室温练苗,3 d 后打开瓶盖,暴露于空气中,3 d 后取出试管苗,小心洗净根上附着的培养基,移栽至装有蛭石 :东北营养土=1 :1 的营养钵中,温度 20~24 ℃,空气相对湿度 50%~60%,每天上午 7:00,下午 18:00 对叶片喷水,保持叶片湿度。在生长 7 d 后开始有新根新叶出现,移栽至大田。移栽初始适当遮荫、喷水,避免温度过高叶片灼伤,造成移栽植株死亡。一般情况,移栽成活率可达 80%以上。

3 结论

细胞分裂素 6-BA 对形成愈伤组织和促进芽分化有较强作用,而在生根时有无激素对其影响不是十分显著。该试验中较为适合的芽诱导培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L;增殖培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.01 mg/L;生根培养基为 MS。其它激素及组合对蛇莓组培的影响还有待进一步深入研究。

参考文献

[1] 陈刚,薄秀娟,建德锋.草莓的组培生产技术[J].吉林蔬菜,2009(4): 15.
[2] 崔广荣,刘云兵,郭蕾娜.草莓增殖和生根壮苗培养基的筛选[J].中国农学通报,2003,19(6):210-215.
[3] 袁惠燕,谈建中,黄秀勤等.激素条件对不同草莓组培快繁效果的影响[J].苏州大学学报(自然科学版),2007,23(3): 75-79.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Duchesneae indicae*

BO Tao, WANG Zi-cheng

(Institute of Agricultural Biotechnology, Henan University, Kaifeng, Henan 475001)

Abstract: The shoot tips of *Duchesneae indicae* as explants were used. Effect on tissue culture of MS containing different content 6-BA, NAA and IBA were studied. The results indicated that the medium MS+6-BA 2.0 mg/L was suitable for introduction of callus or adventitious buds. The medium MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.01 mg/L was the best for multiplication. The optimum rooting medium was MS.

Key words: *Duchesneae indicae*; shoot tips; tissue culture