

槭叶草离体快繁的研究

王克凤, 赵春莉, 陈立飞, 赵和祥, 董 然, 顾德峰

(吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:以槭叶草实生无菌苗为外植体, MS 培养基为基础, 通过添加不同种类和浓度的激素, 筛选出槭叶草组织培养的最适培养基。结果表明: 种子较好的灭菌时间为 0.1% 升汞 6 min; 增殖的最适培养基为 MS+6-BA 0.1 g/L+NAA 0.1 g/L, 其增殖倍数高达 5.1, 并且苗生长状态良好; 生根最适培养基为 1/2MS。

关键词:槭叶草; 实生苗; 组织培养

中图分类号:S 681.903.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)05-0135-02

槭叶草 (*Mukdenia rossii* (Oliv.) Koidz) 为虎耳草科槭叶草属多年生草本植物, 株高 10~30 cm, 产于东北长白山一带, 多生于海拔 300~900 m 的水边沟谷石崖上及江河边石砾上^[1]。其嫩叶是长白山人民广泛食用的特色野菜; 东北通化地区民间有用其根部水煎液口服, 据称心脏病病人服用后夜间睡眠良好; 同时槭叶草也是长白山良好的早春地被花卉, 是难得的集食用、药用与观赏为一体的植物资源^[2-3]。

虽然槭叶草可以用种子和分株法进行繁殖^[4-5], 但因其有限的分布区域及特殊的生长环境决定其资源的有限性, 加之近年来人们的随意采挖, 槭叶草数量急剧减少。现已被列入 1984 年国务院环境保护委员会公布的, 1987 年由国家环保局、中科院植物所修订的中国稀有濒危保护植物名录(II)中, 此名录系由中科院植物研究所编制, 虽尚未经批准发布, 但是依旧能够说明槭叶草的重要价值。组织培养技术是解决槭叶草快速繁殖的有效途径之一, 可为工厂化育苗提供理论依据, 亦可为其开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

材料来自吉林农业大学校园实验区, 5 月下旬收集槭叶草种子, 净种后放入 4℃ 冰箱备用。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌苗的获得 槭叶草种子细小, 大概为 1 mm 左右, 因此不能采用常规的外植体灭菌方式。需随机选取少量的槭叶草种子, 用滤纸包裹折成 2 cm² 大小。在无菌的条件下用 0.1% 升汞灭菌, 最后用无菌水冲洗 6~8 次, 打开滤纸包, 连同滤纸片一同接种于 MS+蔗糖

30 g+琼脂粉 6 g 培养基上。接种后逐日观察种子的萌发情况, 记录种子萌发后肉眼可见的时间。

1.2.2 不定芽的增殖 无菌植株长到 1.5~2.0 cm 左右时, 将其从瓶中取出, 切掉根后接种到增殖培养基中进行增殖培养。增殖的基本培养基为 MS 培养基, 其中添加不同种类及浓度的植物生长调节剂。每个处理 10 瓶, 每瓶 1 个外植体, 3 次重复, 于培养室内培养 30 d 后统计芽的增殖率。

1.2.3 根的诱导 当槭叶草的增殖苗长至苗高 > 2 cm 时, 将其分割切下成单株, 接种到生根培养中诱导生根。生根的基本培养基为 MS、1/2MS、1/4MS 及在 1/2MS 中添加不同浓度的 NAA(表 3)。试验每个处理 10 瓶, 每瓶 1 个外植体, 3 次重复, 20 d 后统计植株的生根率及平均根长。

1.2.4 练苗移栽 当试管苗的根长至 2~3 cm 时, 便可出瓶移栽。移栽前, 在常温自然光照条件下将瓶塞打开, 练苗 3~5 d。将槭叶草组培苗从瓶中慢慢取出, 洗去根上附着的琼脂培养基, 移植到已经配好的以草炭为基质的底直径为 5 cm 的小钵中, 上套塑料袋保湿。

2 结果与分析

2.1 不同灭菌时间对槭叶草种子萌发时间的影响

由表 1 可知, 在用 0.1% 升汞进行不同时间的灭菌时, 不同的灭菌时间对槭叶草种子萌发时间的影响是不同的。随着灭菌时间的增加, 种子萌发的时间也逐渐增长, 在处理 6 min 时, 种子萌发的时间最短为 4 d, 且污染率为 0。但是并不是随着灭菌时间的减少, 种子萌发的

表 1 不同灭菌时间对槭叶草萌发时间的影响

Table 1 Effect of different sterilization time on the time of seed germination of *Mukdenia rossii* (Oliv.) Koidz

灭菌时间 Sterilization time/min	萌发时间 Germination time/d	污染率 Rate of pollution/%
6	4	0
7	5	0
8	6	0
9	6	0

第一作者简介:王克凤(1985-), 女, 在读硕士, 现主要从事植物组织培养研究工作。

责任作者:顾德峰(1956-), 男, 教授, 现主要从事园林植物组织培养工作。E-mail: wkf2009@163.com。

基金项目:吉林省科学技术厅资助项目(20100259)。

收稿日期:2011-12-08

时间也逐渐缩短。当槭叶草种子的灭菌时间 <6 min时,种子萌发的时间也是4 d,且有污染的情况发生。

2.2 不同培养基对槭叶草不定芽增殖的影响

由表2可知,外植体基部开始形成幼芽,30 d后形成大量的丛生芽,在基本培养基MS中添加激素6-BA 0.1 mg/L和NAA 0.1 mg/L,槭叶草的增殖效果最好,增殖率高达5.1,随着细胞分裂素与生长素浓度比的增高,增殖芽的数量也增多,但是新植株的叶片出现细长、徒长等不健康状态,且丛生苗整体过于细弱,不适于继续增殖及生根移栽。当细胞分裂素的浓度高于0.1 mg/L时,植株的情况与高浓度激素比下生长的植株相似,均有大量的细弱丛生苗产生,不利于槭叶草的增殖。这说明在该试验所设计的激素浓度范围内,较高浓度的细胞分裂素及生长素比都不适合槭叶草的增殖继代培养。

表2 不同培养基对槭叶草不定芽增殖的影响

Table 2 Effect of different culture medium on proliferation of adventitious buds of *Mukdenia rossii* (Oliv.) Koidz

培养基 Culture medium	接种数量 Inoculation amount	增殖个数 Number of proliferation	增殖倍数 multiple	诱导情况 Situation of induction
6-BA NAA				
0.1 0.05	10	40	4.0	产生大量丛生苗,但整体过于细弱;整株有根
0.1 0.10	10	51	5.1	少有细弱丛生苗,多数植株健壮;整株有根
0.5 0.05	10	15	1.5	丛生苗过于细弱;无根
0.5 0.10	10	46	4.6	产生大量丛生苗,但整体细弱;有根
1.0 0.05	10	48	4.8	多数丛生苗过于细弱;无根
1.0 0.10	10	37	3.7	产生大量细弱丛生苗;有根

2.3 不同培养基对槭叶草生根的影响

由表3可知,以1/2MS培养基最佳,生根率高达97%。而一些报道中介绍的加入NAA利于植物生根^[6],在槭叶草中并不适合,在以1/2MS为基本培养基中无论加入浓度多大的NAA,都不利于槭叶草的生根,生根率皆为0。因此,诱导槭叶草的生根不需要加入NAA,只以空白的1/2MS培养基最佳。

2.4 试管苗的移栽

选择生长健壮且已生根的槭叶草试管苗(图1-a,b)出瓶移栽。1周后调查统计,其成活率高达90%,幼苗生长健壮,叶片明显变大、变绿,并有新叶长出(图1-c)。移栽过程中发现,在移栽的初期套袋以保持一定的空气湿

表3 不同培养基对槭叶草生根的影响

Table 3 Effect of different culture medium on rhizogenesis of *Mukdenia rossii* (Oliv.) Koidz

培养基 Culture medium	NAA /mg · L ⁻¹	生根率 Rooting rate/%	平均根长 Average root length/cm	生根状况 Situation of rooting
MS	0	85	1	根粗壮、短小
1/2MS	0	97	2~3	根粗壮,数量多,植株生长良好
1/4MS	0	70	1	根系不发达,多为气生根
1/2MS	0.1	0	0	无根
1/2MS	0.5	0	0	无根
1/2MS	1.0	0	0	无根

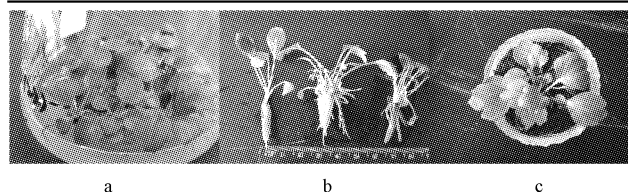


图1 槭叶草试管苗(a,b)及移栽幼苗(c)

Fig. 1 Test tube plantlet(a,b) and seedling transplanted(c) of *Mukdenia rossii* (Oliv.) Koidz

度,槭叶草试管苗移栽就较易成活。

3 小结

从槭叶草种子的萌发时间及污染情况来看,最适的灭菌时间为6 min;槭叶草不定芽增殖的最适培养基为MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L。该条件增殖倍数达5.1,且苗生长状态良好,能够满足快繁的目的;生根的适宜培养基为1/2MS,且不加入NAA;当试管的根长2~3 cm时,常温自然光条件下练苗3~5 d,移栽成活率高达90%。

参考文献

- [1] 王文采. 中国长白山植物资源志[M]. 北京: 中国林业出版社, 2010.
- [2] 柏广新, 崔成万, 王永明. 中国长白山野生花卉[M]. 北京: 中国林业出版社, 2003.
- [3] 黄弘轩, 任同庆, 韩文志. 槭叶草对兔心房肌的正性肌力作用[J]. 吉林医学院学报, 1988, 2(2): 21-23.
- [4] 李爱民, 李昌禹, 路文鹏. 槭叶草的繁殖[J]. 特种经济动植物, 2008 (7): 40.
- [5] 宫敬俐. 槭叶草驯化栽培技术研究[D]. 北京: 中国农业科学研究院, 2007.
- [6] 刘敏. 花卉组织培养与工厂化生产[M]. 北京: 地质出版社, 2002.

Study on Rapid Propagation *in vitro* of *Mukdenia rossii* (Oliv.) Koidz

WANG Ke-feng, ZHAO Chun-li, CHEN Li-fei, ZHAO He-xiang, DONG Ran, GU De-feng
(College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: The experiment was based on MS culture media and *Mukdenia rossii* (Oliv.) Koidz. Used explants were from seedlings of the germination seeds *in vitro*. An appropriate culture medium was obtained via regulating the concentrations of cytokinin and auxin. The optimal sterilization method for seeds *Mukdenia rossii* (Oliv.) Koidz was 1% HgCl₂ 6 min. The propagation coefficient of 5.1 times indicated that MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L was the optimal culture medium for subculture proliferation. The best rooting medium was 1/2MS. The survival rate of the plantlets was shown to be up to 97%.

Key words: *Mukdenia rossii* (Oliv.) Koidz; seedling; tissue culture