

三七景天离体快繁技术研究

张 莹，陶佩琳，高政平

(徐州生物工程职业技术学院,江苏 徐州 221006)

摘要:以三七景天嫩叶为外植体,进行了离体快繁技术研究。结果表明:愈伤组织诱导最佳培养基是:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L;芽诱导最佳培养基是:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L;芽增殖最佳培养基是:MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。组培苗生根的最佳培养基是:MS+NAA 0.3 mg/L+活性炭 1.6 g/L。

关键词:三七景天;离体快繁;愈伤组织诱导;芽诱导

中图分类号:S 567.23⁺⁶ 文献标识码:A 文章编号:1001—0009(2013)07—0134—03

三七景天(*Sedum aizoon*)属景天科景天属多年生肉质草本植物。三七景天药用价值较高,因其株型低矮,整齐美观,且耐粗放管理,近年来被广泛用于城市绿化当中。目前,对三七景天的研究主要集中在园林应用、引种和扦插繁殖上^[1~3],对其离体快繁的研究鲜有报道,而对药用红景天的离体快繁研究^[4~5]比较多。该试验以三七景天的嫩叶作为外植体,对其离体快繁技术进行了研究,以期为实现三七景天的组织培养工厂化育苗提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物材料为三七景天的嫩叶,于2012年3月26日采自徐州生物工程职业技术学院苗圃地。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的选择与处理 选择健壮、无病虫害的三七景天作为母株,剪取3~5 cm长的嫩梢。先用洗衣粉水洗净后拿到超净工作台上灭菌,首先用75%的酒精浸泡30 s,用无菌水冲洗2遍,再用0.1%的升汞浸泡4 min,用无菌水冲洗5遍,备用。

1.2.2 愈伤组织的诱导 将嫩叶切成5 mm见方的小块,接种在附加不同浓度的6-BA(1.0、2.0、3.0 mg/L)与NAA(0.1、0.3、0.5 mg/L)的培养基上。每配方接入100块外植体,3次重复。30 d后,观察并统计愈伤组织的诱

导率及特征。愈伤组织诱导率(%)=愈伤组织块数/接种外植体块数×100%。

1.2.3 芽的诱导 选择生长较好的愈伤组织,切成5 mm见方的方块,接种在6-BA(1.0、1.5、2.0 mg/L)和NAA(0.1、0.2、0.5 mg/L)不同浓度配比的芽诱导培养基上。每处理接种100块愈伤组织,3次重复。30 d后统计芽诱导率及生长状态。芽诱导率=出芽的块数/愈伤组织块数×100%。

1.2.4 芽的增殖 当芽长至高3 cm时,将其剪下转接至芽增殖培养基上以诱导从生苗,培养基为添加不同浓度6-BA(1.0、1.5 mg/L)与NAA(0.1、0.2、0.5 mg/L)的组合,每配方20瓶,每瓶接1株,30 d后观察并记录增殖结果。

1.2.5 生根培养 在基础培养基中分别添加3个浓度的NAA(0.1、0.3、0.5 mg/L)。30 d后统计生根率和根的特征。生根率(%)=生根苗数/接种苗数×100%。

1.2.6 培养条件 该试验所用培养基均以MS为基本培养基,在其中加入蔗糖30 g/L,琼脂5 g/L,根据不同需要附加6-BA、NAA和活性炭1.6 g/L,pH值为5.8。在培养室中进行培养,光照强度1 600~2 000 lx,光照时间12 h/d,培养温度24~26℃。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

在培养30 d后,外植体膨大,向上拱起,愈伤化。由表1可知,6-BA的浓度是诱导愈伤组织的关键,当6-BA为2.0 mg/L时,愈伤组织的分化率平均值最高,达78%。6-BA与NAA的比例在4:1~7:1的范围内时,愈伤组织诱导率较高。诱导愈伤组织的最佳培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L,其愈伤组织的诱导率最高,达86%(图1)。

第一作者简介:张莹(1985-),女,硕士,助教,研究方向为园林植物栽培。

责任作者:高政平(1963-),男,本科,副教授,研究方向为园林植物与景观营造。

基金项目:徐州市科技立项课题资助项目(ZZD1109)。

收稿日期:2012-12-18

表 1 6-BA 和 NAA 对叶片愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effect of 6-BA and NAA on callus induction

序号	激素配比/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		愈伤组织 诱导率/%	愈伤组织状态
	6-BA	NAA		
1	1.0	0.1	12	淡黄色,较软,较少,分布在切口附近
2	1.0	0.3	15	淡黄色,透明,较软,分布在切口上下
3	1.0	0.5	0	无愈伤组织,有细根分化
4	2.0	0.1	68	淡黄色,透明,略紧密,生于外植体上下表层
5	2.0	0.3	82	淡黄色,透明,较软,生于外植体上下表层
6	2.0	0.5	86	淡褐色,透明,松软,生于外植体上下表层
7	3.0	0.1	43	绿色,致密,较硬,生于切口周围
8	3.0	0.3	76	黄绿色,致密,生于切口周围
9	3.0	0.5	79	淡褐色,透明,较软,生于外植体上下表层

2.2 芽的诱导

在愈伤组织块接入芽诱导培养基中 10 d 后,芽开始分化,芽在原配方中经过 20 d 后,长至 3 cm 左右高。由表 2 可知,当 6-BA 浓度为 1.5 mg/L 时,诱导率最高,平均达 63%,每块愈伤组织分化芽的数量也最高,平均 6.9 个。6-BA 与 NAA 的比值越大,诱导率越高,并且在部分培养基上,愈伤组织直接分化出完整植株,但植株间不易分离,且根细弱,无法继续生长。MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 是诱导芽的最佳配方(图 2)。

表 2 6-BA 和 NAA 对芽诱导的影响

Table 2 Effect of 6-BA and NAA on shoot induction

序号	激素配比/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		芽诱导 率/%	每块愈伤组织 出芽数/个	苗的状态
	6-BA	NAA			
1	1.0	0.1	62	3.2	细高,叶小,节间长
2	1.0	0.2	60	3.4	健壮,叶大而厚,节间正常
3	1.0	0.5	50	5.2	矮小,分枝多,叶小
4	1.5	0.1	68	5.9	细高,叶小深绿,节间长
5	1.5	0.2	66	6.6	粗高,叶深绿且厚,节间短
6	1.5	0.5	55	8.4	矮粗,叶小且黄绿,分枝多
7	2.0	0.1	62	5.3	细高,叶小,节间长
8	2.0	0.2	61	7.2	细高,叶大而厚,节间正常
9	2.0	0.5	57	7.8	健壮,矮小,叶小,节间短

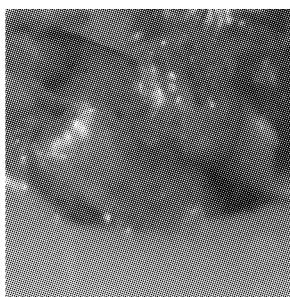


图 1 叶片诱导愈伤组织

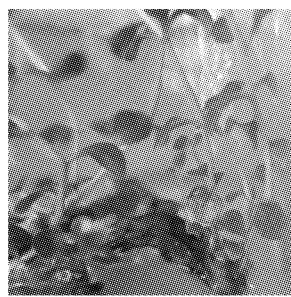


图 2 愈伤组织诱导芽

2.3 芽的增殖

芽接入增殖培养基 30 d 后,其增殖情况见表 3。NAA 的浓度对芽增殖的影响较大,当 NAA 的浓度为 0.1 或 0.2 mg/L 时,芽增殖后发育成带根的丛生幼苗,而 NAA 的浓度为 0.5 mg/L 时,增殖丛生苗无根系或有少量根。因此,芽增殖的最佳培养基为 MS+6-BA

1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,其增殖系数为 7.3,再生幼苗低矮健壮,根系发达(图 3~4)。

表 3 6-BA 和 NAA 对芽增殖的影响

Table 3 Effect of 6-BA and NAA on shoot proliferation

序号	激素配比/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		增殖率 /%	增值 系数	增殖苗的状态
	6-BA	NAA			
1	1.0	0.1	100	6.8	苗细高,叶深绿,节间长;根多,细长,褐色
2	1.0	0.2	100	7.3	苗粗壮,叶深绿,节间短;根多,短粗,白色
3	1.0	0.5	100	8.7	苗细弱,非常矮,叶色黄绿;几乎无根
4	1.5	0.1	100	6.7	苗高,叶深绿,节间长;根量大,细长
5	1.5	0.2	100	7.6	苗高,叶深绿,节间正常;根多,短粗,白色
6	1.5	0.5	100	8.1	苗细弱,矮小,叶色黄绿;根极少,细弱



图 3 幼苗增殖

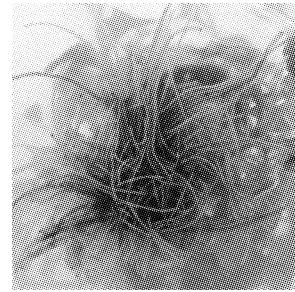


图 4 增殖苗的根

2.4 生根培养

当增殖的丛生苗高至 3~4 cm 时,将其进行切割。把带根的幼苗接入无激素的 MS 培养基中进行壮苗培养,把无根的或根稀少的植株接入生根培养基中。如表 4 所示,当 NAA 浓度为 0.1 mg/L 时,根量最多,但太细弱,当 NAA 浓度为 0.5 mg/L,根最长,但量少且细,因此,选择 MS+NAA 0.3 mg/L 的培养基作为生根培养基,其诱导的根量大且较粗(图 5)。

表 4 不同浓度 NAA 对生根的影响

Table 4 Effect of different concentrations of NAA on root induction

序号	NAA / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	生根率 /%	每株平均生 根数/个	根的生长情况
1	0.1	100	13.4	数量多,细长,白褐色,长 6 cm
2	0.3	100	9.2	数量多,长,粗,白色,长 3~4 cm
3	0.5	100	7.5	数量少,细长,褐色,长约 7 cm

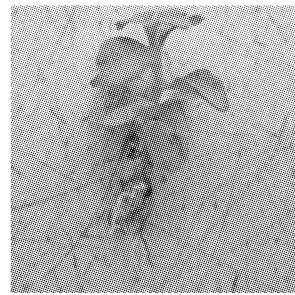


图 5 组培苗

2.5 试管苗的移栽

选择生长健壮的组培苗,将其培养瓶的封口膜取下,在无菌培养室内 24~26℃ 条件下练苗 2 d。然后取

出,洗净植株上的培养基,用0.1%多菌灵浸根,再移栽至已灭菌的基质(蛭石:草炭土=1:3)中。在常规养护下,移栽成活率可达到80%以上。

3 讨论与结论

该研究结果表明,当6-BA浓度在1~2 mg/L之间时,愈伤组织诱导率随6-BA浓度的增加而增高。诱导愈伤组织的最佳配方是:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L。6-BA与NAA的浓度比是芽诱导的关键,在比值较高时,较利于芽分化。芽诱导的最佳配方是MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L。此外,在部分6-BA与NAA的浓度比值较高的培养基上,愈伤组织可诱导出完整植株,说明有体细胞胚的发生,为进一步研究由叶片诱导胚性愈伤组织、体细胞胚途径奠定了基础。NAA的浓度是决定增殖效果的主要因素,当NAA的浓度为0.1或0.2 mg/L时,所增殖的幼苗健康并带

有根系。芽增殖的最佳培养基是MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。在不同浓度的NAA生根培养基中均可分化根,根诱导最佳的培养基是MS+NAA 0.2 mg/L。该试验还发现,在愈伤组织诱导、芽诱导以及芽增殖时均有根的发生,而且均与NAA的浓度相关。

参考文献

- [1] 孙丽萍.几种景天科植物扦插繁殖研究[J].北方园艺,2012(2):76-78.
- [2] 路洁,彭励,倪细炉,等.景天属5种景观地被植物抗旱能力的综合评价[J].中国农学通报,2011,27(4):108-114.
- [3] 龙双畏,郑伟,振宇,等.景天属植物在城市园林景观绿化中的应用[J].安徽农业科学,2009,37(11):5251-5253,5262.
- [4] 晏婴才,程治英,虞泓.云南野生红景天的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2005,4(13):341.
- [5] 胡挺松,马兰青,郭万里,等.长鞭红景天的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2004,40(3):335.

Studies on Rapid Propagation *in vitro* of *Sedum aizoon*

ZHANG Ying, TAO Pei-lin, GAO Zheng-ping

(Xuzhou Bioengineering Technical College, Xuzhou, Jiangsu 221006)

Abstract: Taking the new leaves of *Sedum aizoon* as explants, the rapid propagation *in vitro* of which was studied. The results showed that the optimal medium for callus induction was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L; the optimal medium for shoot induction was MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L; the optimal medium for shoot proliferation was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L; the optimal medium for rooting was MS+NAA 0.3 mg/L+AC 1.6 g/L.

Key words: *Sedum aizoon*; rapid propagation *in vitro*; callus induction; shoot induction

冬虫夏草是虫? 是草?

“冬虫夏草”与人参、鹿茸齐名,是我国的一种名贵药材。据现代科学测定,“冬虫夏草”含有虫草酸、虫草素、氨基酸、维生素B₁₂以及多种微量元素。在医学临幊上,它是极好的滋补强壮之药,因而有“功与人参同,价比人参高”的赞誉。

“冬虫夏草”的生长地局限于我国的青海、四川、西藏、云南等地区,产于海拔3 000~5 000 m的高寒草甸上。由于其严格的寄生性及特殊的生长环境,因此产量稀少,采集艰难,价格1 kg在6 000元左右。

“冬虫夏草”是虫还是草,历来为人们争论不休。有人说它是动物,可它头部却长着一棵草;有人说它是植物,可它的主体部分却是一条虫。为此,生物学家们通过不断的观察和研究,结果发现“冬虫夏草”其实是昆虫和真菌的结合体。原来,有一种绿蝙蝠蛾的幼虫,形似黄蚕,每年秋后要钻入地下冬眠。这时,冬虫夏草菌就侵入虫体,以吸收虫体营养为生,同时不断长出菌丝,最终导致幼虫死亡。接着虫体皮囊内逐渐充满了菌丝,并形成菌核。到第2年春夏之交,从虫体头部长出一根棒球状、紫铜色或褐色的新生命体“子座”(俗称“草尖”),并破土而出。人们因此误认为它是一棵草。

(摘自中国种植技术网)