

不同激素配比对离体地灵(*Stachys floridana* Schuttl. ex Benth)芽增殖的影响*

郭月霞, 郭东伟, 李春莲, 陈耀锋, 任慧莉

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 研究了不同激素单独或混合使用对地灵芽增殖的影响。结果表明, 6-BA 与 KT 配合使用可诱导茎段产生大量不定芽, 但不定芽聚集短缩, 难以进一步发育成芽苗。单独使用低质量浓度(0.5 mg/L 以下) 6-BA 或 KT 能够使地灵茎段得到有效增殖, 其中 KT 的效果优于 6-BA, KT 对试管芽增殖影响比 6-BA 温和, KT 1.5 mg/L 时仍未出现玻璃化现象。生长素与细胞分裂素混合使用时能够明显促进芽苗的生长, 在含有 0.5 mg/L IAA 的 MB 培养基中添加 1.0~1.5 mg/L 的 KT, 增殖系数达 4.20~4.67, 为地灵芽增殖的有效激素质量浓度配比。

[关键词] 地灵; 芽苗增殖; 激素; 快繁技术

[中图分类号] Q 813.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)08-0053-04

地灵(*Stachys floridana* Schuttl. ex Benth), 又称银条, 为唇形科水苏属多年生宿根草本植物, 主要分布于华北、华南等荒地、田间及草丛湿地上, 北美、日本也有分布^[1,2]。地灵肥大的肉质根茎中含有丰富的水苏糖(80 g/kg 干重)。水苏糖属低聚半乳糖, 纯品为白色粉末, 甜度为蔗糖的 22%, 无任何不良口感和异味, 是一种能显著促进双歧杆菌增殖的功能性低聚糖, 被誉为“超强双歧因子”^[3,4]。

在我国地灵一直处于半野生状态, 人工栽培面积很小, 长期的自然选择使其具备了很好的抗逆性, 且栽培技术简单、产量高^[2,5]。这些优良性状使地灵成为理想的水苏糖生产原料, 因此, 加大地灵的生产规模, 提高地灵块茎生产量是当前水苏糖产业开发的当务之急。但地灵通过播种地下茎进行无性繁殖, 繁殖系数低, 种源匮乏, 同时, 长期的无性繁殖使地灵不同程度的携带、累积病毒, 引起种性退化, 给生产带来极大风险。为此, 本课题组从 2000 年开始对地灵的试管快繁技术进行了系统的研究, 以期建立一个成本低、效率高、技术路线可行的工厂化快繁体系, 为水苏糖的开发和产业化提供相关的理论依据。本文研究了培养基中不同激素配比对离体地灵芽增殖的影响, 以期地为地灵试管繁殖技术的系统研究积累资料。

1 材料与方法

选用本实验室经根茎诱导培育的试管苗, 在无菌条件下将带两个叶片, 2~3 cm 的茎段按形态学方向接入附加不同种类和质量浓度激素的 MB 培养基中, 激素处理分别为: 1.0 mg/L 的 6-BA 中分别附加 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L 的 KT; 0.01, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L 的 KT 或 BA 单独使用; IAA 0.5 mg/L 中分别添加 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L 的 KT 和 KT 1.5 mg/L 中分别添加 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L 的 IAA。每瓶接种 3 个茎段, 重复 10 次。接种后置于 26~28 ℃, 2 000~3 000 lx, 16 h/d 光照条件下培养。分别于接种后 3, 5, 10, 15, 25 d 观察不定芽的增殖和生长状况, 30 d 后观察统计增殖芽数、苗高、玻璃化苗数及褐变苗数。

2 结果与分析

2.1 6-BA 和 KT 配合使用对地灵芽增殖的影响

观察发现, 6-BA 和 KT 配合使用能够有效诱导地灵茎段不定芽的产生, 接种后 3~4 d 地灵茎段休眠芽开始萌动生长, 同时茎段切口边缘形成可见愈伤组织; 6~7 d 休眠芽附近不断产生不定芽体, 并进一步发育成短缩的小苗, 形成丛生的不定芽团, 不

* [收稿日期] 2003-12-16

[基金项目] 科技部成果转化项目子项目(2001-(567)-24)

[作者简介] 郭月霞(1956-), 女, 陕西长安人, 实验师, 主要从事农业生物技术研究。

定芽产生的数量随培养基中 KT 质量浓度的升高而增加, 但不定芽更加短缩, 难以进一步分化生长成芽苗。由表 1 可以看出, 在 MB+ 6-BA 1.0 mg/L + KT 1.0 mg/L 和 MB+ 6-BA 1.0 mg/L + KT 1.5 mg/L 的培养基上, 不定芽玻璃化率分别为 4.4% 和

11.6%, 在 MB+ 6-BA 1.0 mg/L + KT 1.5 mg/L 培养基上还出现 13.2% 的褐变。表明较高质量浓度 6-BA 和 KT 配合不利于地灵芽增殖, 虽然诱导不定芽的数量较多, 但不定芽聚集短缩, 增加了进一步分离增殖或生根时的操作难度。

表 1 6-BA 和 KT 配合使用对地灵芽增殖的影响

Table 1 Effect of coordinate usage of 6-BA and KT on proliferation of <i>S tachys floridana</i> Schuttl ex Benth bud					
6-BA/(mg · L ⁻¹)	KT/(mg · L ⁻¹)	接种数 Inoculated No	不定芽数 A dventitious bud No	玻璃化率/% V itrification	褐变率/% B rowning
1.0	0.1	30	51	0.0	0.0
	0.5	30	61	0.0	0.0
	1.0	30	114	4.4	0.0
	1.5	30	138	11.6	13.2

2.2 6-BA 和 KT 单独使用对地灵芽增殖的影响

表 2 结果表明, 单独使用 6-BA 对地灵茎段休眠芽的萌发和不定芽的诱导有显著促进作用。6-BA 在 0.01~0.1 mg/L 时, 主要促进休眠芽的发育生长, 0.1 mg/L 6-BA 时平均苗高为 2.6 cm, 远高于 0.01 mg/L (1.6 cm)。随培养基中 6-BA 质量浓度的增高, 地灵芽苗通过萌发休眠芽和产生不定芽两种途径增殖, 且产生不定芽的比例随激素质量浓度升高而增加, 在 1.5 mg/L 时增殖系数达到 6.13, 但同

时有 20.6% 的芽苗发生了玻璃化, 表明 6-BA 虽然能够诱导地灵休眠芽的发育和不定芽的产生, 但在较高质量浓度时对芽苗的进一步分化不利。为了保证地灵的固有种性及商品苗的质量, 认为 6-BA 诱导芽增殖的适宜质量浓度为 0.1~0.5 mg/L, 这时的增殖系数为 2.97~3.40, 幼苗高度 1.8~2.6 cm, 有利于进一步的分离操作。6-BA 诱导的试管苗见图 1。



图 1 6-BA 诱导的试管苗
Fig. 1 Tube seedling induced by 6-BA



图 2 KT 诱导的试管苗
Fig. 2 Tube seedling induced by KT

表 2 6-BA 和 KT 单独使用对地灵芽增殖的影响

Table 2 Effect of single usage of 6-BA and KT on proliferation of <i>S tachys floridana</i> Schuttl ex Benth bud						
激素 Homone	质量浓度/(mg · L ⁻¹) Concentration	接种数 Inoculated No	增殖芽数 Budding No	增殖系数 P roliferation index	平均苗高/cm A verage height	玻璃化率/% V itrification
6-BA	0.01	30	46	1.53	1.6	0
	0.1	30	89	2.97	2.6	0
	0.5	30	102	3.40	1.8	0
	1.0	30	153	5.10	0.9	6.5
	1.5	30	184	6.13	0.2	20.6
KT	0.01	30	30	1.00	2.2	0
	0.1	30	41	1.37	2.8	0
	0.5	30	58	1.93	3.2	0
	1.0	30	92	3.07	3.1	0
	1.5	30	139	4.63	2.3	0

表 2 结果还表明, KT 对地灵芽增殖也有一定影响, 随增殖培养基中 KT 质量浓度的增高, 增殖效

率稳定提高,KT 由 0.01 mg/L 增加到 1.5 mg/L,芽增殖系数也由 1.00 增加到 4.63,而 KT 对芽苗生长高度的影响呈先升高后降低的趋势,在 0.5 mg/L 时芽苗最高,达 3.2 cm。说明 KT 对地灵芽增殖和生长的影响比 6-BA 温和,且适用范围广,产生的幼苗健壮。KT 诱导的试管苗见图 2。

2.3 KT 和 IAA 配合使用对地灵芽增殖的影响

表 3 结果表明,在 KT 与 IAA 配合使用的 8 种培养基上,均诱导出了大量的生长健壮的试管苗(图 3),但不同质量浓度组合的芽增殖系数和试管苗生长情况有一定差异。MB+ IAA 0.5 mg/L + KT 0.5

mg/L 和 MB+ IAA 0.1 mg/L + KT 1.5 mg/L 组合,诱导增殖苗最高,分别为 3.12 和 3.73 cm,但增殖系数相对较低。MB+ IAA 0.5 mg/L + KT 1.5 mg/L 和 MB+ IAA 2.0 mg/L + KT 1.5 mg/L 组合,增殖系数和平均苗高均较低,表明 KT 和 IAA 最低质量浓度组合和最高质量浓度组合都不利于芽的增殖。综合考虑,在保持合理的增殖系数条件下,按照商品苗的质量要求,选用 MB 培养基中附加 0.5 mg/L IAA 和 1.0~1.5 mg/L KT 较为理想,可以获得增殖系数在 4.20~4.67,苗高适当,生长健壮的试管苗。

表 3 IAA 与 KT 配合使用对地灵芽增殖的影响

Table 3 Effect of coordinate usage of IAA and KT on proliferation of <i>S tachys floridana</i> Schuttl ex Benth bud					
IAA/(mg·L ⁻¹)	KT/(mg·L ⁻¹)	接种数 Inoculated No	增殖芽数 Budding No	增殖系数 Proliferation rate	平均苗高/cm Average height
0.5	0.5	30	78.3	2.61	3.12
	1.0	30	131.7	4.39	2.44
	1.5	30	126	4.20	2.25
	2.0	30	111.7	3.72	1.82
0.1	1.5	30	113.3	3.78	3.73
0.5		30	140	4.67	2.84
1.0		30	98.3	3.28	2.60
2.0		30	86	2.87	2.37



图 3 KT 与 IAA 配合诱导的试管苗

Fig. 3 Tube seedling induced by coordinated usage of KT and IAA

3 讨 论

不同种类的细胞分裂素刺激细胞分裂存在基因型上的差异。在苹果、葡萄、桃和草莓茎尖培养中 0.2~2 mg/L 6-BA 增殖效果比同质量浓度的 KT 好^[6]。以 6-BA, BA 和 KT 诱导杖藤芽增殖时发现,6-BA 对增殖芽数、丛芽率和母芽高均有显著作用,而 2,4-D 仅对增殖芽数有显著影响^[7]。在含 2,4-D 的培养基中添加 0.2 mg/L 6-BA 或 KT 会使玉米胚性愈伤组织的诱导频率和质量下降,KT 能促进绿苗的分化,但质量浓度过高会使丛生苗分化过多^[8]。本研究中,6-BA 与 KT 配合使用能够刺激茎段产生大量不定芽,这些不定芽高度聚缩形成不定

芽团,只进行不断的分裂增殖,很难延伸生长,直至营养成分供应不足时褐变、枯死,部分培养物还发生玻璃化现象,所以 6-BA 和 KT 配合使用不利于地灵芽的有效增殖。6-BA 或 KT 在 0.5 mg/L 水平下单独使用时,主要诱导茎段休眠芽萌发生长,随激素质量浓度的升高,茎段的增殖方式转向以产生不定芽为主,芽体高度集中短缩,其中 6-BA 在 0.1 mg/L 时平均苗高 2.6 cm,增殖系数 2.97;1.5 mg/L 时增殖系数达到 6.13,但平均苗高仅 0.2 cm,且有 20.6% 的芽发生了玻璃化,表明 6-BA 虽然能够诱导地灵休眠芽的发育和不定芽的产生,但在较高质量浓度时对芽的进一步分化不利。前人研究表明^[9],通过休眠芽方式再生植株能够比其他方

式有低的变异频率,此外,过于密集短缩的芽体也增加了随后操作的难度,所以单独使用 6-BA 时,质量浓度应控制在 0.1~0.5 mg/L。在 KT 中,增殖系数与激素浓度表现与 6-BA 相似,平均高度较高,无玻璃化产生,说明 KT 对地灵芽增殖的影响比 6-BA 温和,且适用范围广,产生的幼苗健壮,是较为理想的芽增殖细胞分裂素。

植物激素对生长和分化的调控是各种激素综合作用的结果,同一质量浓度不同种类的生长素用于矮牵牛的离体培养,IAA 引起愈伤组织的有限生长,NAA 促进大量生根,2,4-D 则促进胚状体的产生^[10]。为了弥补不同激素在组培时的缺陷,对激素的配合使用也进行了广泛研究,结果发现大多数情况下激素的配合使用都能取得比单独使用较好的培养效果。以银杏叶片为材料,在 MS 培养基中添加

1 mg/L NAA 和 0.1 mg/L KT 能够诱导愈伤组织形成,单独使用 KT 和 2,4-D 则不能诱导产生愈伤组织^[6]。姚军等^[11]研究表明,激素配合培养基上侧芽萌动生长并形成新稍,比单独使用细胞分裂素的培养基增殖效率提高了 3~4 倍,75% 形成有效稍。从辣椒无菌苗上切下的子叶,接种到含有 1 mg/L IAA 和 2 mg/L 6-BA 的 MS 培养基上可分化成芽,若以 NAA 代替 IAA,则芽的分化受到抑制,只产生愈伤组织;以 KT 代替 BA,芽分化同样受到抑制,而以生根为主^[6]。本研究结果表明,1.0~1.5 mg/L KT 与 0.5 mg/L IAA 混合使用,地灵试管苗的增殖效果比单独使用好,增殖系数为 4.20~4.67,苗高适宜,是地灵芽增殖的有效方式。至于其他种类激素的配合是否具有比 KT 和 IAA 更好的增殖效果,还有待进一步试验证实。

[参考文献]

- [1] 郭东伟,刘长安,陈耀锋,等.地灵试管克隆繁育研究[A].朱德麟.植物组培与脱毒快繁技术[C].北京:中国科学技术出版社,2001.223-226
- [2] 张玉梅,张菊平,李电涛.偃师银条高产栽培技术[J].河南农业科学,2003,(8):27.
- [3] 宋俊梅,丁霄霖.双歧杆菌最新研究进展[J].食品与发酵工业,1997,23(3):56-58
- [4] 胡学智.寡糖研究进展[J].工业微生物,2000,(3):44-49
- [5] 王勤,罗林会.草石蚕的组培与快繁[J].特种经济动植物,2003,(8):24
- [6] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.47-56
- [7] 曾炳山,刘英,许煌灿,等.6-BA、BA、2,4-D 对杖藤组培增殖的影响[J].广西植物,2003,23(1):49-51
- [8] 张红梅,刘小红,张红伟,等.不同杂种优势类群玉米幼胚愈伤组织的诱导及植株再生特性的研究[J].西北植物学报,2004,24(1):50-55
- [9] 崔凯荣,戴若兰.植物体细胞胚胎发生的分子生物学[M].北京:科学出版社,2000.152-157
- [10] 潘瑞炽,李玲.植物生长发育的化学控制[M].广州:广东高等教育出版社,1999
- [11] 姚军,张燕玲,林荣.浩浩芭的组织培养[J].广西植物,1996,16(1):73-76

Effect of coordinate usage of different hormone on bud proliferation of *S tachys floridana* Schuttl ex Benth

GUO Yue-xia, GUO Dong-wei, LI Chun-lan, CHEN Yao-feng, REN Hui-li

(College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The result of experiment shows that the single or mingle usage of hormone can cause different effects on seedling proliferation. The simultaneous usage of 6-BA and KT can induce rhizoma of *S tachys floridana* Schuttl ex Benth to produce lots of adventitious buds, but it is disadvantageous for further differentiation, growth and developing of the adventitious bud. The stem of *S tachys floridana* Schuttl ex Benth can get efficient proliferation under lower concentration of 6-BA or KT. The effect of KT is milder and has not vitrification superiors to that of 6-BA. The mingle usage of cytokinins and auxins can improve growth of seedling. The generation rate is 4.20-4.67 on the MB medium containing 0.5 mg/L IAA supplemented with 1.0-1.5 mg/L KT. The hormone concentration ratio is efficient for seedling proliferation of *S tachys floridana* Schuttl ex Benth.

Key words: *S tachys floridana* Schuttl ex Benth; seedling and bud proliferation; hormone; proliferation technique