

扎尹尔马兜铃茎段组织培养试验*

程治英 王锦亮 吴玉芳

扎尹尔马兜铃 (*Aristolochia elegans* Most.), 花大形状似“鸟”点缀在心脏形的叶片中, 优美雅致, 且花期长具有观赏价值。80年底引入我所, 次年开花并结少量果实, 但当时种子不育。我组于82年初取茎段组织培养, 以期促使大量增殖, 为引种品种的保存和快速繁殖提供方法。“试管苗”无性繁殖系的生产用于观赏植物已有很多报道^(1、2、3、4), 但马兜铃的组织培养目前国内外未见报道。现将实验结果报道如下。

材料与 方法

取一年生马兜铃嫩茎用0.1%升汞消毒十分钟, 无菌水冲洗三次, 去叶后将茎切成1 Cm长的切段接种。基本培养基用Ms、N₆和White。附加成份有BA、KT、2, 4-D, IAA和NAA等植物激素, 糖浓度1—6%。室温培养(温度范围20°—29℃), 照光10小时, 光强2000 lux。

结 果 与 讨 论

一. 激素组合对茎段愈伤组织的诱导与芽的分化的影响

茎段培养在Ms培养基上, 5—8天便形成透明状愈伤组织(图片1), 诱导率较高(见表1), 慢慢又长出绿色瘤状愈伤组织(图片2), 这种愈伤组织8天后便开始分化芽。植物激素的种类、浓度和它们相互间的配合对茎段组织的脱分化和再分化起重要的调控作用, BA与IAA或NAA的组合再生丛芽; KT与IAA或NAA的组合分化单芽; BA与2, 4-D组合, 当2, 4-D浓度高时(0.5mg/l)是单芽, 当2, 4-D浓度较低时(0.05—0.2mg/l)是丛芽。值得注意的是当培养基中含有NAA和较高浓度的2, 4-D时(0.5mg/l), 愈伤组织17—25天便开始变褐, 这可能是茎段组织内源生长素含量高, 加了反而对生长不利。

二. 芽的增殖

* 刘道华参加了试验, 夏聚康摄制照片。

茎段一形成芽丛，便可以每月切割继代一次，能不断增殖下去，现已继代近三年，仍有分化芽丛的能力。基本培养基、对芽增殖有影响，我们将带芽的愈伤组织分别转接在Ms、M₉和White培养基上，附加BA2、2,4-D、0.05—0.2和BA2、IAA0.2—0.4 mg/l，平均每月芽增殖数Ms为38，N₉为33，而White培养基上的芽反而减少。这可能是Ms培养基上的N源（包括NO₃⁻和NH₄⁺）能满足繁殖体形成的需要，而White培养基中N源含量极低，不利于芽的增殖。

表一、不同激素组合对茎段愈伤组织诱导与分化的影响

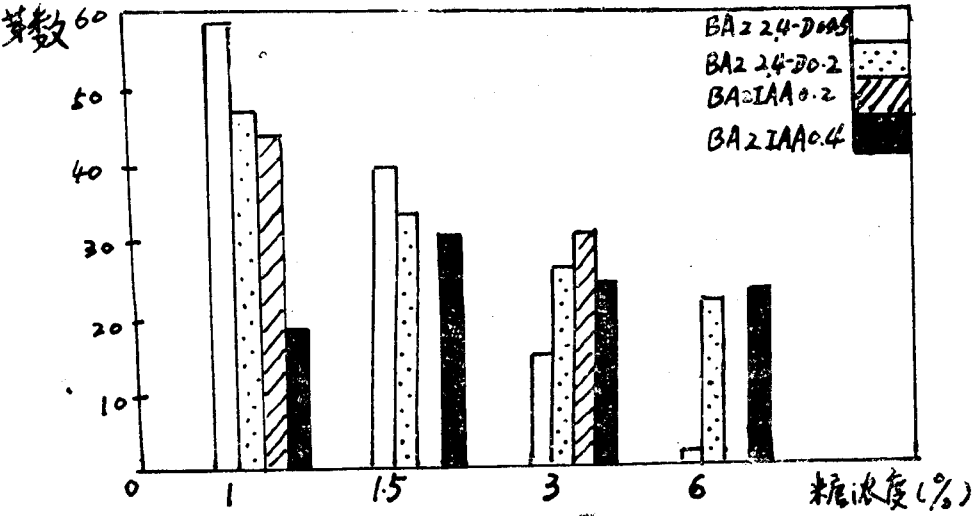
BM (mg/l)	总数	愈数	%	愈伤组织颜色	芽生长状况
BA2 NAA0.2	16	16	100	透明和绿色17天变褐	79天产生丛芽、淡黄色
KT2 NAA0.2	16	15	94	透明和绿色24天变褐	21天产生单芽、绿色
BA2IAA0.2	16	16	100	透明和绿色愈发达	24天产生丛芽、绿色
KT2IAA0.2	16	14	88	透明愈不发达24天变褐	17天产生单芽、绿色
BA2IAA0.4	16	16	100	透明和绿色	16天产生丛芽、绿包
BA2 2,4-D0.05	16	15	94	透明和绿色	67天产生丛芽、绿色
BA2 2,4-D0.2	12	12	100	透明和绿色	57天产生丛芽、绿色
BA2 2,4-D0.5	16	16	100	透明、25天变褐	42天产生丛芽,仅1—3芽/丛

此外糖浓度高低和激素配比也影响芽的增殖。将带芽的愈伤组织转接在糖浓度为1、1.5、3和6%的Ms培养基上，附加成份为BA2、2,4-D、0.05—0.2mg/l和BA2、IAA0.2—0.4mg/l。芽增殖情况见图1。由图可知：在试验范围内，随着糖浓度的降低芽增殖数增加，仅BA2IAA0.4mg/l的组合例外是1.5%的糖浓度芽增殖数最高。看来为了满足培养的植物细胞分化对营养和生理的要求，提供一定浓度的碳源是必要的。但同一组试验不同组合间所得结果不一致，这可能因为糖浓度对透性的影响会导致无机盐、外源调节剂的进入速度和进入量的不同，从而产生一系列次生影响，使试验结果不完全一致。

三. 苗的生长

为了促进芽长高成苗，我们将带丛芽的愈伤组织块转接到各种蔗糖浓度的加或不加

图1.糖浓度和激素对比对芽增殖的影响



激素的Ms培养基上，可以看出苗的生长也受植物激素的配比和糖浓度制约。（见表2）

表2、糖浓度及激素组合对苗生长的影响

项 目 BM (mg/l)	糖 浓 度 (%)				苗 生 长 状 况
	0	1.5	3	6	
MsBA2 2,4-D0.05	9	16	15	5	叶中等、色黄绿、叶片不伸展
Ms BA2 2,4-D0.20	1	43	34	14	叶小、色黄绿、叶片不伸展
MsBA2IAA0.40	0	64	27	22	叶小、色绿、叶片不伸展
Ms	27	29	5	4	叶片大、色黑绿、叶片长生正常

注：每处理接40块材料

由上表可知：适合苗生长的糖浓度为1.5%，成苗最高的培养基为MsBA2IAA0.4 mg/l。附加植物激素对苗的生长不利。由此可知苗的分化与苗的生长所需的培养条件是不完全相同的。

四.根的诱导

待苗高3—4 Cm, 有4—5片叶时, 切下无根苗转入生根培养基, 诱导生根。(见表3)。由表可知生根率与糖浓度成正比关系, 糖浓度为6%的Ms培养基根诱导率几乎是1.5%的两倍, 另外附加IAA0.4mg/l的培养基生根率的平均值稍高, 但它抑制叶片生长, 因此最适生根培养基应选含糖6%的Ms培养基。

表3. 生长素和糖浓度对诱导生根的影响

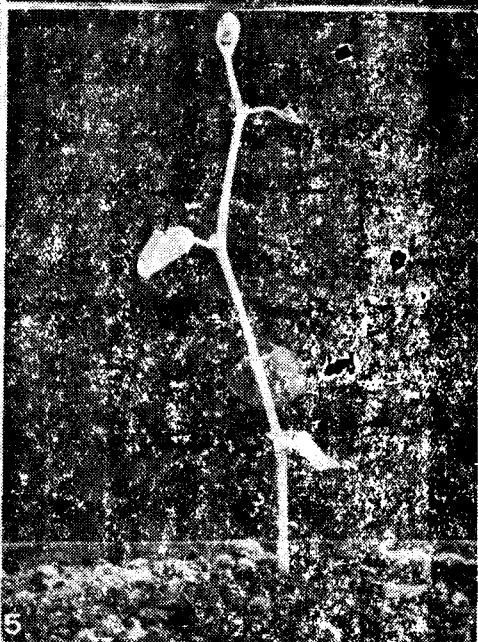
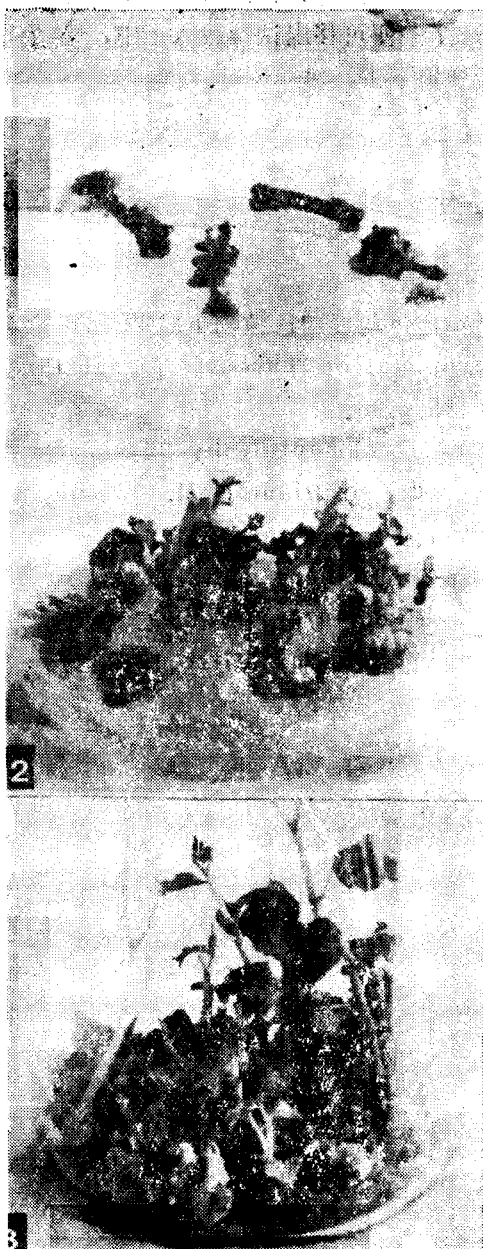
BM (mg/l)	糖浓度 (%)	总数	生根数	生根率 (%)		生根天数		苗生长状况
				最高	平均	最快	平均	
Ms2.4-D0.2	3.0	76	20	54	26	10	23	苗基部长愈伤组织叶小
MsIAA0.2	3.0	164	60	80	37	9	17	苗正常、叶片大
MsIAA0.4	3.0	57	30	83	53	17	22	苗正常、叶片中大
Ms	1.5	301	67	44	22	9	15	苗正常、叶片大
Ms	3.0	1240	418	66	34	9	11	苗正常、叶片大
Ms	6.0	298	124	86	42	9	14	苗正常、叶片大
Ms NAA0.2-1	3.0	76	23	50	30	17	34	苗枯死

五. 苗的移栽

当苗高5 Cm左右, 根1—7条时, 打开试管塞加强光照2—3天, 然后取苗用自来水冲洗掉粘在根上的琼脂, 便可种在花盆、塑料袋或竹篓内, 基质选用森林土。苗开始要避免阳光直射, 以后逐步加强光照, 成活率高达95%, 平均85%。当试管苗移出1个月左右便可定植田间, 只要开始注意管水、除草和防治地老虎, 几乎全部成活。

小 结

建立无性系进行快速繁殖, 关键问题是培养组织能再生完整植株。本试验达到这个目的。它的整个程序是将无菌的茎段外殖体接种在MsBA2、IAA0.2—0.4mg/l (糖3%) 上, 诱导产生愈伤组织和丛芽, 除留部份继代外, 其余带芽愈伤组织移到BA2 2.4-D0.05mg/l (糖1%) 上进行芽的增殖, 一个月左右, 移入BA2 IAA0.4mg/l



- 1、茎段及愈伤组织
- 2、瘤状愈伤组织及丛芽
- 3、丛芽及抽生的无根苗
- 4、完整的试管苗
- 5、刚移植成活的苗
- 6、移后30天小苗