# 蜂斗叶的组织培养与快速繁殖

李 岩 徐 娥 李柏龄 李兴汉
(丹东农业科学院 118109)

**摘 要** 通过组织培养,蜂斗叶(*Petasites japonicus* Miq.)的叶柄和地下茎切段在 MS + BA 2mg/L 的分化培养基上诱导出愈伤组织,并进一步分化出芽丛,切下 2～3cm 高的芽,移入 1/2 MS + NAA 0.1mg/L 的生根培养基中,生根率达 100 %。以再生苗的叶片或叶柄为外植体,在分化培养基上很快便可再形成愈伤组织并分化出芽。

**关键词** 蜂斗叶(水 ) 组织培养

蜂斗叶(*Petasites japonicus* Miq.)又名水 ,具有较高的经济价值和营养价值。丹东地区于 40 年代由日本引入(日文名:フキ)并栽培,但到目前为止,种植面积只有 1.3hm$^2$,在我国南方福建等地区栽培面积稍大,有 15～20hm$^2$。蜂斗叶的食用部分为叶柄,每 667m$^2$ 产量 1 000～1 500kg。产品加工成罐头后出口日本。为了解决蜂斗叶自然繁殖速度较慢、种源缺少的问题,笔者对蜂斗叶进行了组织培养技术的研究。通过组织培养,大大提高了蜂斗叶的繁殖速度。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试材料为当地栽培的蜂斗叶苗。

### 1.2 试验方法

1.2.1 消毒 分别剪取叶片、叶柄、地下茎和根,经自来水冲洗干净后用 75 %酒精消毒 10 秒钟,然后用 0.1 % $HgCl_2$ 消毒 5 分钟,再经无菌水清洗 5 次并浸泡 30 分钟,取出后用无菌滤纸吸干表面水分,接种到含不同激素的 MS 固体分化培养基上培养。

1.2.2 愈伤组织诱导及芽分化 将叶片剪成 1cm$^2$ 的小块,叶柄、地下茎和根分别切掉两端被杀伤的组织,然后切成 1cm 长的小段。为了比较茎的表层与内部组织的再分化能力,将地下茎分成 1.5mm 厚的表层和心部两部分,将不同的外植体分别接种在含不同激素的芽分化培养基上,在 23～25 ℃的温度条件下进行光照培养,每天光照 12 小时。基本培养基为 MS 固体培养基,附加不同组合的激素:①BA 6mg/L(单位下同) + IAA 2;②BA 6 + $GA_3$ 1 + IAA 2;③BA 2 + IAA 0.5;④BA 2;⑤KT 2 + IAA 0.5;⑥KT 2[1]。每 20 天更换一次培养基。

1.2.3 诱导生根 再生芽具有明显的直立茎。当再生芽长到 2cm 高时,将芽从基部切下,移入生根培养基中诱导生根。生根培养基采用 ①1/2 MS;②1/2 MS + NAA 0.5;③1/2 MS + NAA 0.2;④1/2 MS + NAA 0.1[2]。培养条件同上。

1.2.4 快速繁殖 为了加快蜂斗叶苗的繁殖速度,采用了以下办法:①缩短更换培养基的时间,减小瓶内培养密度;②以再生芽的叶片为外植体,接种到分化培养基上,再诱导愈伤组织形成和芽分化;③切割再生芽的茎段,使每一茎段带有一侧芽或顶芽,移入分化培养基中培养,使每一个茎段的侧芽或顶芽发育成一个无菌幼苗。

收稿日期:1997 - 04 - 24;修回日期:1997 - 06 - 16。



© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体的选择

通过培养发现,叶片和根经 $HgCl_2$ 消毒 5 分钟后全部死亡,如缩短消毒时间,使外植体不被杀死,则培养过程中全部被污染。而叶柄经 5 分钟消毒后,两端约有 1cm 被杀死,中间部分也有明显的褐化,说明其表层细胞也有部分被杀死,尽管如此,在培养过程中仍有个别外植体发生污染。地下茎的情况基本相同。因此,选择叶柄和地下茎作为外植体较为合适。

### 2.2 不同激素组合对外植体分化的影响

在外植体培养后 30 天观察,叶柄切段没有明显变化,地下茎的表层稍向外反卷,说明其靠近内部的细胞已开始分裂和生长,地下茎的心部颜色转绿并稍有膨胀。60 天后观察,叶柄切段的两端和侧面以及茎段表层切块的边缘开始长出愈伤组织,茎段心部的四周稍有隆起,但无愈伤组织形成,具体情况见表。

表 外植体在不同培养基上形成愈伤组织情况比较

| 外植体数(个) | 培养基 | 污染和死亡数 | 形成愈伤组织数 | 愈伤组织发生率(%) |
|---|---|---|---|---|
| 叶柄 10 | ① | 0 | 9 | 90 |
| | ② | 1 | 8 | 89 |
| | ③ | 1 | 8 | 89 |
| | ④ | 1 | 9 | 100 |
| | ⑤ | 0 | 8 | 80 |
| | ⑥ | 0 | 9 | 90 |
| 茎表层 10 | ① | 1 | 9 | 100 |
| | ② | 0 | 10 | 100 |
| | ③ | 3 | 7 | 100 |
| | ④ | 0 | 10 | 100 |
| | ⑤ | 2 | 6 | 75 |
| | ⑥ | 0 | 9 | 90 |

注:愈伤组织发生率是指形成愈伤组织的外植体数占成活外植体数的百分数。

从表中可看出,外植体在不同激素组合的分化培养基上愈伤组织发生率无明显差异,叶柄和地下茎的表层都能被诱导出愈伤组织。在所有含 BA 的培养基上,外植体所形成的愈伤组织,坚硬致密,呈绿色或暗绿色,有些呈紫红色,状态优于在含 KT 培养基上形成的愈伤组织,因此在之后的培养过程中,全部采用 MS + BA 2 作为芽分化培养基。将愈伤组织连同外植体一起继续培养,愈伤组织生长十分缓慢,在愈伤组织块上逐渐形成一些球状小颗粒。培养到 120 天左右,少数的球状颗粒上开始分化出绿色的根,135 天左右,在没有分化出根的球状颗粒上开始分化出芽,并逐渐长成无根幼苗。由此可见,每一个球状颗粒就是一个球形胚。在之后的培养过程中,愈伤组织一方面分化出芽,一方面自身也在不断地增殖,且生长速度明显加快,不再有根的分化,而地下茎的心部经过长时间的培养后,虽然也长出少量的愈伤组织,但经过 8 个月的培养仍未能分化,其原因尚不清楚。

### 2.3 不同激素条件对生根的影响

将再生芽移到 4 种生根培养基上,两周后观察,差异较明显:在 ①号培养基中,生根率不足 40 %,且根较细;在 ②、③、④号培养基中,生根率均达 100 %,但在 ②③号培养基中,幼芽生根数较少,多畸形,茎的基部易产生愈伤组织,再生根与茎的连接不紧密,易脱落,可能是激素浓度偏高所致,移栽后不易成活;而 ④号培养基中,幼芽生根较为正常,多且健壮。待根系较发达后移栽到花盆中,成活率可达 90 %以上,待苗高达到 10cm 后,再移栽到大田,极易成活,其性状未见变异,生长情况正常。

### 2.4 影响快速繁殖的主要因素

影响快速繁殖的主要因素有两点:一是培养密度;二是更换培养基的时间。培养密度过大,一方面造成营养竞争和光合作用受影响,另一方面愈伤组织块过大,愈伤组织上部分化出的芽从吸收养分明显受到愈伤组织的阻隔,再生芽细弱,叶片小且发黄,转移到



© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

生根培养基后即使能生根,移栽后也很难成活。因此当分化的芽丛生长较紧密时,需将芽丛连同愈伤组织进行分割,转移到新的培养基中,但愈伤组织块也不宜太小,否则会影响愈伤组织芽的分化速度。更换培养基的时间以2～3周一次为宜,如较长时间不更换培养基,则愈伤组织在生长和分化过程当中会产生一些代谢物,部分死亡的愈伤组织会释放出一些有害物质使培养基变至褐色,使芽的分化和生长明显受到抑制。在更换培养基时应清除死亡的愈伤组织,此外由于培养时间过长,会导致愈伤组织分化出根,从而影响芽的分化。按上述方法培养,每1个月蜂斗叶的芽数便可增殖1倍以上。利用再生幼苗的叶片或叶柄诱导愈伤组织形成和芽分化,一个月左右即可形成新的再生芽,比最初从田间取材诱导培养出再生芽的速度明显要快,用此方法可根据需要使芽数在1个月内增加数倍。配合切割茎段进行繁殖,根据再生芽大小可将一个芽切成2～3个茎段,经过30～40天,每个茎段的顶芽或侧芽便可长成一个无根幼苗,因此通过切割茎段的方法进行繁殖,每40天便可使芽数增殖到原来的2.5倍左右。同时由于组织培养不受季节限制,因此通过组织培养进行繁殖的速度比田间繁殖速度要快几百倍。

## 3 结论

利用蜂斗叶的叶柄和地下茎在MS+BA 2的芽分化培养基上能较好地诱导出再生芽,再生芽在1/2 MS+NAA 0.1的生根培养基上能够形成较正常的根系,移栽到土壤后生长正常;通过缩短更换培养基的时间,减小培养密度,利用再生苗的叶进行再诱导以及切割茎段等手段,可使其繁殖速度比田间繁殖提高几百倍。

### 参考文献


1 王玉文,杨美珠,潘乃　等. 甜椒的离体再生及基因转化. 植物基因工程研究. 北京大学出版社,1992,381～388

2 吴　琦,韩碧文. 花生(*Arachis hvpogaea* L.)胚芽的离体培养. 实验生物学报,1983(16):119～131


**Rapid Propagation of** Petasites japonicus **by Tissue Culture**


Li Yan, Xu E, Li Bailing et al. (Dandong Academy of Agricultural Sciences 118109)



**Abstract** Butterbur is a kind of vegetable with high economic value. The petioles and tubers were cultured on MS + 2mg/L BA media to produce callus and shoots. When the shoots grow to 2～3cm high, they were transplanted on 1/2 MS + 0.1mg/L NAA rooting media. By using the leaf blade or petiole of regenerated buds as explant, callus and buds were produced more quickly.



**Key words** Butterbur, Tissue culture





© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net