

## 牛耳朵的离体培养和快速繁殖

温放\* 李湛东 张启翔

北京林业大学园林学院, 北京 100083

### *In vitro* Micropropagation of *Chirita eburnea* Hance

WEN Fang\*, LI Zhan-Dong, ZHANG Qi-Xiang

College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

**1 植物名称** 牛耳朵(*Chirita eburnea* Hance)。

**2 材料类别** 幼叶及花梗。

**3 培养条件** (1) 花梗诱导不定芽分化培养基: MS+6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> (单位下同)+NAA 0.1; (2) 幼叶诱导不定芽分化培养基: MS+6-BA 1.0+NAA 0.1; (3) 生根培养基: 1/2MS 或 1/2MS+0.5% 活性炭(两者无显著区别)。上述培养基均加入 3% 蔗糖和 0.7% 琼脂, pH 6.0, 培养温度(24±3)℃; 在愈伤组织形成、芽分化和生根的过程中, 光照时间 12 h·d<sup>-1</sup>; 光强 26~30 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> (汤正辉等 2005a, b)。

#### 4 生长与分化情况

**4.1 材料处理** 取牛耳朵幼嫩叶片及花梗, 用自来水和毛笔清除表面污物, 之后放入盛满水的 200 mL 烧杯, 加入 3~5 滴洗洁精, 轻轻震荡 15 min, 流水冲洗 30 min。在超净工作台上, 以 75% 乙醇消毒 15 s, 无菌水冲洗 1 次, 然后加入 0.1% HgCl<sub>2</sub> 使之浸没材料, 同时加入 3 滴吐温, 轻轻震荡 4~5 min, 再以无菌水冲洗 5~6 次。将叶片分成约 0.5 cm×1 cm 的小块, 花梗切成 1~1.5 cm 的小段, 接入诱导愈伤组织培养基中。

**4.2 愈伤组织和不定芽的诱导** 花梗在培养基(1)中启动时间最短, 约 13 d, 诱导愈伤组织频率达 80%, 嫩叶在培养基(2)中启动时间需要 14 d, 诱导愈伤组织频率约为 73%。2 种外植体约 30 d 后在致密的翠绿色愈伤组织上出现不定芽。采用花梗作为外植体, 培养基为 MS+6-BA 0.5+NAA 0.1, 能够获得较为满意的结果。愈伤组织出现后 2 周, 大部分切口处出现不定芽。此时可无需特殊培养基, 不定芽丛即可在原瓶继续分化增殖, 但是在原瓶容易生长拥挤造成分化不良和玻璃化。将不定芽切下, 转到新的培养基(1)上, 即可继续增殖。

**4.3 生根培养** 选择高约 1 cm、生长健壮的不定芽苗接种到培养基(3)上, 一苗一瓶。1 周后可见叶片明显增大, 根开始发生; 一般 2 周内陆续出叶 2~3 对, 根 4~5 条。5 周后生根率达 95% 以上。培养基(3) 2 种配方的生根效果无显著差别。另外, 在实验中可观察到不定芽直接在原培养基上生根, 数量并不比转至生根培养基上的少, 因此, 在生产上可以直接在原瓶中生根, 但苗分化数量太多往往导致苗大小不一, 易玻璃化。

**4.4 炼苗及移栽** 将健壮生根苗小心自三角瓶中取出, 用 25℃ 温水浸泡以除去根部剩余培养基。栽培基质为 50% 珍珠岩+50% 蛭石(经高压灭菌)。加盖塑料薄膜保持空气湿度, 2 d 浇水 1 次, 保持基质湿润。3 周后长势稳定, 可每天掀开薄膜少许, 逐渐在 6 d 内完全揭去薄膜。更换培养土, 配比为: 草炭土 3 份+粗河砂 1 份+园土 1 份, 成活率 100%。

**5 意义与进展** 牛耳朵属苦苣苔科唇柱苣苔属, 花色天蓝, 花梗高耸, 开花时间长, 观赏价值高, 适应能力强, 有一定的室内观赏盆花开发价值。用离体快繁技术有可能步入大规模化生产。此种的组织培养快速繁殖未见报道。

#### 参考文献

- 汤正辉, 石雷, 陈维伦, 苗琛, 李振宇(2005a). 半蒴苣苔的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 41 (3): 333  
汤正辉, 石雷, 陈维伦, 苗琛, 李振宇(2005b). 台闽苣苔的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 41 (4): 497

收稿 2006-04-01 修定 2006-05-25

资助 北京林业大学自选课题资助基金(04YL005)和农业部农业基因资源保护与种质创新利用研究基金(2004BA525B11)。

\* E-mail: cozia@126.com, Tel: 010-62391363