

周晓燕,马彦玲,杨 涓. 芦苇组培快繁技术的研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):57-58,327.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.017

# 芦苇组培快繁技术的研究

周晓燕<sup>1</sup>, 马彦玲<sup>2</sup>, 杨 涓<sup>2</sup>

(1. 宁夏大学, 宁夏银川 750021; 2. 宁夏大学生命科学学院, 宁夏银川 750021)

**摘要:**以芦苇(*Phragmites communis* Trin.)为材料,取其带节的茎段作为外植体,采用组织培养的方法,用1/2MS培养基,添加不同浓度的NAA、6-BA、IBA,进行芦苇组培快繁技术的研究。结果表明,用带节的茎段作外植体,长度在1.5 cm左右,NAA浓度在0.3~0.5 mg/L之间,6-BA浓度在0.6~1.0 mg/L之间,均可长出侧芽,侧芽生长最佳的浓度配比是NAA 0.4 mg/L+6-BA 0.6~0.8 mg/L。在IBA浓度为1.0 mg/L、6-BA浓度为0~0.20 mg/L时,均有生根现象发生,生根状况最佳的浓度配比是IBA 1.0 mg/L+6-BA 0.04 mg/L。

**关键词:**芦苇;快繁技术;培养基;激素

**中图分类号:** Q943.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0057-02

随着环境保护事业的迅速发展,人们对湿地功能也有了广泛的认识。湿地作为“地球之肾”,担负着对地球自然水体的净化和处理功能。由于城市中天然湿地的逐渐减少和消亡,因此,人工湿地以其独到的优越性受到了越来越多的关注和发展。

近年来,宁夏人工湿地的数量和面积不断增加,如沙湖、阅海、鸣翠湖等景观湖泊已成为重要的风景区。同时,宁夏境内的人工湿地也存在富营养化的趋势,人工种植芦苇、香蒲等水生植物,既能满足湿地造景的需要,也能降低水体中的氮磷等营养盐的含量,可谓一举两得。芦苇、香蒲是宁夏银川平原本土植物,具有短期成型及快速成景等优点。

芦苇(*Phragmites communis* Trin.)是湿地最常见的挺水植物,为被子植物门单子叶植物纲禾本科水生植物。芦苇多生于低湿地或浅水中,生长在灌溉沟渠旁、河堤沼泽地、河溪边等多水地区。芦苇植株高大,地下有发达的匍匐根状茎,繁殖力强,生物量大,具有很强的环境适应能力,可以适应比较恶劣的环境条件<sup>[1]</sup>。芦苇对多种污染物抗性强,具有很好的水质净化作用,在湿地生态系统中发挥着重要作用,因而成为湿地种植的水生植物的优先选择<sup>[2]</sup>。自然生长的芦苇,以种子和根状茎繁殖。在造景绿化过程中,由于水生植物恢复生长要求较高,受环境制约因素较多,所有大多采用人工采挖及移栽的办法,目前,尚缺乏简便易行成本低廉的快速繁殖的方法。因此,探索芦苇的组培育苗方法是非常有必要的。组培技术的应用很广泛,很多种植物都实现了利用组培育苗的方法进行快繁。叶保君等在花叶芦竹组培试验中取材为秋季植

物茎秆的侧芽为外植体<sup>[3-8]</sup>,取材受季节和材料的限制,在春季不能进行有效组培快繁。本试验就茎段作为外植体,取材方便,不受季节限制,筛选合适的培养基和激素配比浓度使茎段在节处产生侧芽,进而生出新根形成组培苗,建立和优化芦苇的组培快繁技术体系,以期为芦苇的组培快繁生产提供操作流程和数据参考,为批量生产芦苇组培苗并应用于人工湿地建设和园林水景建设提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

取芦苇叶片、节间、节作为不同的外植体;选取1/2MS、MS、N6培养基作为培养基质。植物生长激素为6-BA、NAA、IBA。

### 1.2 方法

**1.2.1 培养基的筛选** 取夏季芦苇叶片,用清水冲洗干净,剪切成大小一致的小片,按如下方法消毒:(1)用无菌水洗3次;(2)用70%乙醇消毒30 s,无菌水冲洗3次;(3)0.1%氯化汞消毒5 min,无菌水冲洗5次<sup>[9]</sup>,冲洗过的外植体放在已灭菌的滤纸上吸干水分,然后分别接种到1/2MS、MS、N6 3种培养基上,控制环境条件,培养温度(25±2)℃,光照时间为12 h/d(下同),光强1 500~2 000 lx,光照12 h/d<sup>[9]</sup>。在此条件下培养,观察其生长状况。

**1.2.2 外植体的筛选** 取芦苇的叶片、带节的茎段分别作为不同的外植体,按如下方法消毒:(1)用无菌水洗3次;(2)用70%乙醇消毒30 s,无菌水冲洗3次;(3)0.1%氯化汞消毒5 min,无菌水冲洗5次,冲洗过的外植体放在已灭菌的滤纸上吸干水分,分别接种到1/2MS培养基上,控制环境条件,培养温度(25±2)℃,光强1 500~2 000 lx,光照12 h/d<sup>[9]</sup>。在此条件下培养,观察其生长状况。

**1.2.3 外植体消毒方法的筛选** 取夏季芦苇带节的茎段,用清水冲洗干净,剪切成大小一致小节,按如下方法消毒:(1)用无菌水洗3次,用70%乙醇消毒30 s,无菌水冲洗3次,再用0.1%氯化汞消毒5 min,无菌水冲洗5次。(2)用无菌水洗3次,用70%乙醇消毒40 s,无菌水冲洗3次,再用0.1%

收稿日期:2015-04-27

基金项目:宁夏回族自治区大学生创新创业训练计划(编号:20150199)。

作者简介:周晓燕(1987—),女,回族,宁夏银川人,硕士研究生,助教,从事生物化学与分子生物学研究。E-mail: shuxian1231@163.com。

通信作者:杨 涓,硕士,教授,主要从事植物生物学教学与研究。E-mail: tracy\_weiyang@163.com。

氯化汞消毒 7 min, 无菌水冲洗 5 次。(3) 用无菌水洗 3 次, 用 70% 乙醇消毒 20 s, 无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1% 氯化汞消毒 3 min, 无菌水冲洗 5 次。

冲洗过的外植体放在已灭菌的滤纸上吸干水分。以上 3 组处理材料分别接种在 1/2MS 培养基上, 控制环境条件, 培养温度 (25 ± 2) °C, 光强 1 500 ~ 2 000 lx, 光照 12 h/d<sup>[9]</sup>。在此条件下培养, 观察其生长状况。

1.2.4 不同浓度激素对比对芦苇侧芽分化的影响 取芦苇茎秆, 在节间处剪断, 剪成长约 1.5 cm 的小段。把节段放入烧杯中用自来水冲洗数次, 再倒入 70% 乙醇的烧杯中洗 30 s, 无菌水冲洗 3 次, 再放入 0.1% 氯化汞中洗 5min, 无菌水冲洗 5 次。把已经冲洗好的节段放在已经灭菌的滤纸上吸干水分, 备用。把准备好的材料接种在含有不同浓度激素的上述培养基上。控制环境条件, 培养温度 (25 ± 2) °C, 光强 1 500 ~ 2 000 lx, 光照 12 h/d<sup>[9]</sup>。在此条件下培养, 观察节段的侧芽生长情况。

1.2.5 不同浓度激素对比对芦苇生根的影响 取芦苇茎秆, 在节间处剪断, 剪成长约 1.5 cm 的小段。把节段放入烧杯中用自来水冲洗数次, 再倒入 70% 乙醇的烧杯中洗 30 s, 无菌水冲洗 3 次, 再放入 0.1% 氯化汞中洗 5 min, 无菌水冲洗 5 次。把已经冲洗好的节段放在已经灭菌的滤纸上吸干水分, 备用。把准备好的材料接种在含有不同浓度激素的上述培养基上。控制环境条件, 培养温度 (25 ± 2) °C, 光强 1 500 ~ 2 000 lx, 光照 12 h/d<sup>[9]</sup>。在此条件下培养, 观察外植体的生根情况。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对外植体生长的影响

以芦苇叶片为材料, 在相同培养条件下 3 种培养基中的的生长情况见表 1。结果表明, 1/2MS 培养基中的生长情况比其他 2 种培养基的培养效果好, 叶片相对较绿, 短期内无外植体死亡现象。N6、MS 中外植体均出现叶片干枯发黄, 可能原因是其培养基中大量元素的浓度过大, 使植物细胞的外压过大, 植物细胞失水死亡。表明 1/2MS 培养基中的离子浓度更适合芦苇外植体生长。

表 1 不同培养基上芦苇外植体生长状况	
培养基	生长状况
N6	叶片发黄, 叶边缘干枯
MS	叶片干枯, 部分死亡
1/2MS	叶片较绿, 无死亡现象

2.2 外植体的筛选

在节间、带节的茎段、叶片 3 种不同的外植体中, 只有带节的茎段可以长出侧芽, 节间、叶片均无分化现象, 没有愈伤组织产生, 原因可能是芦苇节中存在居间分生组织, 有利于形成愈伤组织, 有利于侧芽分化。

2.3 不同消毒方法对外植体生长的影响

从表 2 可以看出, 70% 乙醇 30 s、0.1% 氯化汞 5min 的消毒效果最佳。氯化汞本身是剧毒品, 尽管使用时稀释到很低的浓度, 对于植物细胞来说还是有很大伤害, 所以其清洗时间不宜过久, 但时间过短又达不到消毒的效果。每次氯化汞消毒完毕, 要用无菌水冲洗 5 次左右, 保证外植体清洗干净。

表 2 不同消毒方法对芦苇外植体生长的影响		
70% 乙醇消毒 时间 (s)	0.1% 氯化汞 消毒时间 (min)	试验现象
30	5	切口边缘轻微发黄, 轻微污染
40	7	茎段全部枯死, 部分污染严重
20	3	茎段少量枯死, 污染严重

2.4 不同浓度激素对比对芦苇侧芽分化的影响

把芦苇茎段材料接种在含有不同浓度激素的培养基上进行培养, 培养期间每天进行观察, 以培养 25 d 观察结果进行分析。

从表 3 可以看出, NAA 浓度在 0.3 ~ 0.5 mg/L 之间, 6-BA 浓度在 0.6 ~ 1.0 mg/L 都可以长出侧芽, 效果最好的是 NAA 0.4 mg/L + 6-BA 0.6 ~ 0.8 mg/L 的浓度配比。

表 3 不同激素浓度对比对芦苇侧芽生长的影响				
NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)	侧芽生长 速度	侧芽叶片 颜色	侧芽粗细
0.3	0.6	较慢	微黄	较细
0.3	0.8	较慢	微黄	较细
0.3	1.0	较快	微黄	较细
0.4	0.6	最快	正常绿色	最粗
0.4	0.8	最快	正常绿色	最粗
0.4	1.0	较快	微黄	较粗
0.5	0.6	较快	微黄	较粗
0.5	1.0	较慢	微黄	较细

2.5 不同浓度激素对比对芦苇生根的影响

在 IBA 浓度为 1.0 mg/L、6-BA 浓度为 0 ~ 0.20 mg/L 时均有生根现象发生, 生根状况最佳的浓度配比是 IBA 1.0 mg/L、6-BA 0.04 mg/L (表 4)。在此生根条件下, 所有节段均可产生侧芽, 并可在侧芽生出 15 d 左右出现生根现象, 即在这个浓度配比下, 外植体均是先分化长出侧芽, 然后在侧芽上长出新根。

表 4 不同激素浓度对比对芦苇生根的影响					
激素种类 (mg/L)		侧芽	平均根数 (条)	生长速度	根系状况
IBA	6-BA				
1.0	0	正常	0.75	较快	根须数少, 较细
1.0	0.04	正常	1.25	最快	根须数少, 最粗
1.0	0.08	正常	0.75	较快	根须数多, 较粗
1.0	0.12	正常	0.50	较慢	根须数少, 较细
1.0	0.16	正常	0.50	最慢	根须数少, 较细
1.0	0.20	正常	0.25	最慢	无根须, 最细

2.6 培养基的简化

为了降低成本以利于今后生产推广, 本研究在原培养基的基础上, 进行简化试验, 将配制培养基的蒸馏水改用自来水, 培养基中的蔗糖成分均可改为白砂糖, 但需适当加量, 试验结果无明显差异。高压锅对试验器具的灭菌时间可由原来的 40 min 减少至 20 min, 对试验结果无影响。

2.7 芦苇组培苗的移栽

当组培苗长到 6 ~ 7 cm 的时候, 根系能主动吸收环境中的营养和水分, 可以进行移栽。把组培苗移栽到含有腐殖质和沙土的花盆里, 注意保湿保温和光照。

- 血压中风作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(3): 204-205, 210.
- [5] 吴昊姝, 徐建华, 陈立钻, 等. 铁皮石斛降血糖作用及其机制的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(2): 160-163.
- [6] 郭洪波. 铁皮石斛(*Dendrobium candidum*)组培快繁及其抗癌作用的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2008.
- [7] 罗慧玲, 蔡体育, 陈巧伦, 等. 石斛多糖增强脐带血和肿瘤病人外周血 LAK 细胞体外杀伤作用的研究[J]. 癌症, 2000, 19(12): 1124-1126.
- [8] 张红玉, 戴关海, 马 翠, 等. 铁皮石斛多糖对 S180 肉瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 浙江中医杂志, 2009, 44(5): 380-381.
- [9] 黎 英, 赵亚平, 陈蓓怡, 等. 5 种石斛水提物对活性氧的清除作用[J]. 中草药, 2004, 35(11): 1240-1242.
- [10] 查学强, 王军辉, 潘利华, 等. 石斛多糖体外抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 90-93.
- [11] 鲍素华, 查学强, 郝 杰, 等. 不同分子量铁皮石斛多糖体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 123-127.
- [12] 白 音, 包英华, 金家兴, 等. 我国药用石斛资源调查研究[J]. 中草药, 2006, 37(9): 附 4-附 6.
- [13] 李 玲, 邓晓兰, 赵兴兵, 等. 铁皮石斛化学成分及药理作用研究进展[J]. 肿瘤药学, 2011, 1(2): 90-94.
- [14] 高正华, 杨兵勋, 陈立钻. 铁皮石斛的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2008, 25(S2): 692-695.
- [15] 高建平, 金若敏, 吴耀平, 等. 铁皮石斛原球茎与原药材免疫调节作用的比较研究[J]. 中药材, 2002, 25(7): 487-489.
- [16] 黄民权, 卢应京. 石斛愈伤组织培养物的药用前景探讨[J]. 中药材, 1998, 21(11): 543-545.
- [17] 金蓉鸾, 孙继军, 张远名. 11 种石斛的总生物碱的测定[J]. 南京药学院学报, 1981(1): 9-13.
- [18] 王令仪. 石斛多糖和生物碱测定及多糖抗衰老实验研究[D]. 遵义: 遵义医学院, 2009.
- [19] 辛 甜. 组培铁皮石斛的品质评价研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2011.
- [20] 徐 红, 刘 峻, 王峰涛, 等. 5 种石斛及其组织培养物对活性氧的清除作用[J]. 植物资源与环境学报, 2001, 10(2): 35-37.
- [21] 何铁光, 杨丽涛, 李杨瑞, 等. 铁皮石斛原球茎多糖 DCPPIa-1 的理化性质及抗肿瘤活性[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(4): 578-583.
- [22] 何铁光, 杨丽涛, 李杨瑞, 等. 铁皮石斛原球茎多糖 DCPPIa-1 对氧自由基和脂质过氧化物的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(3): 410-414.
- [23] 何铁光, 杨丽涛, 李杨瑞, 等. 铁皮石斛原球茎多糖粗品与纯品的体外抗氧活性研究[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1265-1269.
- [24] 辛 甜, 储智勇, 栾 洁, 等. 铁皮石斛胚状体对大鼠抗疲劳能力的影响[J]. 药学实践杂志, 2011, 29(1): 21-23.
- [25] 郭孟璧, 封良燕, 田茂军, 等. 人工培养铁皮石斛营养成分分析研究[J]. 云南化工, 2006, 33(2): 15-16, 43.
- [26] 尚喜雨. 多糖在不同来源不同部位铁皮石斛中的分布规律研究[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(13): 104-105.
- [27] 张冬青, 廖俊杰. 铁皮石斛试管培养物多糖含量测定[J]. 中药材, 2005, 28(6): 450-451.
- [28] 黎万奎, 胡之璧, 周吉燕, 等. 人工栽培铁皮石斛与其他来源铁皮石斛中氨基酸与多糖及微量元素的比较分析[J]. 上海中医药大学学报, 2008, 22(4): 80-83.
- [29] 孙 丹. 铁皮石斛圆球茎生物反应器培养及有效成分含量的分析[D]. 延吉: 延边大学, 2010.
- [30] 何铁光, 苏 江, 王灿琴, 等. 铁皮石斛不同来源材料多糖和氨基酸含量的比较[J]. 广西农业科学, 2007, 38(1): 32-34.
- [31] 王丽琼. 铁皮石斛快繁体系和细胞培养研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.
- [32] 李 莹. 铁皮石斛组培及次生代谢物积累规律的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2012.
- [33] 尚喜雨. 不同来源铁皮石斛不同部位生物碱的分布规律研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(23): 12441-12442.
- [34] 谢哲臻. 铁皮石斛试管苗再生体系及抗肿瘤活性研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2012.

(上接第 58 页)

### 3 讨论与结论

从本试验结果来看, 对于外植体的选择, 用带节的茎段作外植体, 最有利于长出侧芽的激素配比为 NAA 0.4 mg/L + 6-BA 0.6~0.8 mg/L。

有关芦苇快速繁殖技术的研究中还没有组织培养方面的报道, 本试验对芦苇的快繁技术进行了研究。促进侧芽分化的培养基和促进生根的培养基在激素配比上差异较大, 在侧芽分化后, 转移到生根培养基的过程中, 污染严重且过程不易操作, 试验结果表明, 在 IBA 浓度为 1.0 mg/L、6-BA 的浓度为 0~0.20 mg/L 时, 外植体均有生根现象发生, 生根状况最佳的是浓度配比为 IBA 1.0 mg/L、6-BA 0.04 mg/L。避免了在侧芽长出后更换培养基的步骤, 使过程更为简单容易操作。当试管苗长到 6~7 cm 的时候, 根系就能主动吸收外界环境中的营养和水分, 这时可以进行移栽, 把试管苗移栽到含有腐殖质和沙土的花盆里, 注意保湿保温和光照, 试管苗生长状况良好。移栽后炼苗和移栽大田的管理过程还需进一步试验研究。

### 参考文献:

- [1] Ye Z H, Baker A J, Wong M H, et al. Zinc, Lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by the common reed, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel[J]. Annals of Botany, 1997, 80: 363-370.
- [2] 卢广平, 陈宝智. 海新河综合治理方案研究[J]. 环境科学研究, 2005, 18(5): 45-48.
- [3] 叶保君, 李春玲. 花叶芦竹组织培养技术的研究[J]. 北京农学院学报, 1994, 9(1): 48-52.
- [4] 张树录. 禾本科植物组织培养中的体细胞胚胎发生[J]. 植物生理学通讯, 1985(6): 15-20.
- [5] 冉隆贤, 林雪坚, 文仕知, 等. 芦竹组织培养技术研究[J]. 中南林学院学报, 1998, 8(1): 49-52, 88.
- [6] 吴丽爽, 王晓萍. 水生观赏植物组织培养研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2008(5): 25-28.
- [7] 李根英, 黄承彦, 隋新霞, 等. 小麦不同外植体的组织培养效果研究[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(1): 21-25.
- [8] 陆维忠, 余建明, 吴鹤鸣, 等. 小麦幼穗、茎、节组织培养和植株再生[J]. 江苏农业学报, 1988, 4(1): 14-18.
- [9] 王 春, 张俊林, 范文锋, 等. 南天竹组培快繁技术[J]. 林业科技开发, 2011, 25(2): 85-88.