

轮生香茶菜的组织培养和快速繁殖

陈 刚¹, 李 玲²

(1. 肇庆学院 生命科学学院, 广东 肇庆 526061; 2. 华南师范大学 生命科学学院, 广东 广州 510631)

摘 要:以轮生香茶菜带腋芽的茎段为外植体, 研究植物激素对轮生香茶菜丛生芽及不定根分化的影响, 建立了轮生香茶菜的快速繁殖体系。结果表明:带腋芽幼嫩茎段以 MS+6-BA 2.0 mg/L 培养基诱导率最高, 达 100%; 生根培养以 1/2 MS + IBA 1.0 mg/L 培养基生根率最高, 达 100%。

关键词:轮生香茶菜; 三倍体植株; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号:S 681.03.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)07-0205-03

轮生香茶菜(*Plectranthus verticillatus*)是唇形科(Lamiaceae)香茶菜属(*Plectranthus*)南非本土生长的草本植物, 主要生长在南非比勒陀利亚地区。全株深绿色, 叶对生, 锯齿边菱形; 茎四棱柱形; 花数朵簇生枝顶, 花白色^[1], 以观花观叶为主, 极具观赏价值。与南非花卉育种学家合作, 获得三倍体杂交品种^[2], 其叶片长, 花型大、数量增多, 提高了观赏性。由于三倍体植株具有不育的特点, 不会造成外来物种的入侵。因此, 开展无性繁殖, 就成为解决轮生香茶菜三倍体种苗及推广的重要途径。该研究初步探索了此花卉新品种组织培养快速繁殖的有效方法, 以期为该新品种的大规模培养提供技术资料, 为进一步研究其价值奠定基础, 同时填补了国内外尚无此种植物研究记录的空白。

1 材料与方法

1.1 试验材料

轮生香茶菜(*Plectranthus verticillatus*)来自南非比勒陀利亚地区。

1.2 培养基及培养条件

丛生芽诱导培养基: (1)MS; (2)MS+6-BA 1.0 mg/L(单位下同); (3)MS+6-BA 2.0。生根培养基: (4)1/2MS; (5)1/2MS+IBA 0.2; (6)1/2MS+IBA 0.5; (7)1/2MS+IBA 1.0。上述培养基均加入 3.0%蔗糖, 0.7%琼脂, pH 5.8~6.2, 另外(1)、(2)和(3)号培养基还添加 200 mg/L 水解酪蛋白。培养温度(26±1)℃, 光照时间为 16 h/d, 光照强度约 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

第一作者简介: 陈刚(1974-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为植物细胞工程。E-mail: chengang@zqu.edu.cn。

通讯作者: 李玲。E-mail: lilin502@126.com。

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(003062); 肇庆学院自然科学研究资助项目(0651)。

收稿日期: 2008-03-20

1.3 外植体的灭菌

选取轮生香茶菜带腋芽的茎段, 每段带有 1~2 个茎节, 至少带有 1 片叶片, 自来水冲洗 0.5~1 h 后, 75% 的酒精浸泡约 30 s, 转入 0.1% 升汞溶液(每升加 2~3 滴吐温-80)中灭菌 5 min, 无菌水冲洗 5~6 次后备用。

1.4 丛生芽的诱导

切下 1.0~2.0 cm 轮生香茶菜的带腋芽的茎段分别接种到丛生芽诱导培养基(1)~(3)中, 21 d 统计外植体丛生芽诱导率、增殖率和高度。

1.5 不定根的形成

将培养瓶中至少带 2 片真叶的小苗接种于(4)~(7)培养基中, 10 d 及 20 d 后统计外植体生根情况。

1.6 移栽

小苗长至 6~8 cm 时, 将培养瓶塞旋松, 置于 25~30℃ 温室中练苗。2 d 后将小苗从培养瓶中取出, 去除根上的培养基, 移入沙土和蛭石(3:1)的混合基质中。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

轮生香茶菜带腋芽茎段接种于培养基上能继续生长, 逐渐长大。其中(2)和(3)号培养基诱导丛生芽时间相近, 第 7 天均产生肉眼能辨的芽点, 培养 21 d 时(3)号培养基中外植体丛生芽诱导率达到 100%。(1)号培养基丛生芽诱导率则非常低, 21 d 时诱导率仅为 15.4%, 与(2)和(3)号培养基丛生芽诱导率有明显的差异, 可见 6-BA 对轮生香茶菜芽分化的作用显著(表 1)。观察发现, 外植体诱导丛生芽的高度与数量则成反比, 即外植体上分化芽越少, 其生长速度越快。

2.2 不定根的形成

小苗接种到生根培养基上 5 d 即可观察到根的形成。从表 2 可以看出, 培养 10 d 时, 添加有 IBA 的(5)、(6)和(7)培养基即可 100% 的诱导不定根的形成。而接

种在(4)培养基上的小苗生根率则较低, 10 d 时生根率仅为 45%(表 2)。从表 3 可以看出, 培养 20 d 时(4)培养基上的小苗生根率仅提高 15%左右。从表 2 和表 3 也可以看出, 添加 IBA 的培养基上平均生根数明显高于(4)培养基的结果。并且表现出 IBA 浓度高低和平均根长有一定关系, 但并不成正比, 侧根的数量也有相似结果。说明 IBA 对轮生香茶菜不定根的诱导效果明显, 其诱导的不定根粗且长, 数量多。

表 1 不同浓度 6-BA 对分化芽的影响(21 d)

编号	6-BA / mg · L ⁻¹	分化芽率 / %	总芽数 / 个	增殖率	芽高度/ cm
(1)	0	15.44±13.49	5	0.14	2.0~5.0
(2)	1.0	95.54±6.33	108	2.17	2.0~4.0
(3)	2.0	100	106	2.59	1.5~3.0

表 2 1/2MS 与添加 IBA 培养基对生根的影响(10 d)

编号	IBA/ mg · L ⁻¹	生根率/ %	平均生根个数	平均根长/ cm	侧根
(4)	0	44.55±13.08	2.80±0.36	0.4	少
(5)	0.2	100	3.96±1.44	1.2	多
(6)	0.5	100	3.78±0.68	0.7	较多
(7)	1.0	100	4.26±1.53	2.2	多

表 3 1/2MS 与添加 IBA 培养基对生根影响(20 d)

编号	IBA/ mg · L ⁻¹	生根率/ %	平均生根个数	平均根长/ cm	侧根
(4)	0	59.82±10.94	3.34±0.48	0.8	少
(5)	0.2	100	7.03±1.70	2.6	多
(6)	0.5	100	6.96±0.89	2.0	较多
(7)	1.0	100	7.82±1.12	3.2	多

2.3 移栽

选取生根培养 20 d 以上的再生植株, 按上述方法进行移栽, 成活率可达到 98%以上。

3 讨论

香茶菜属植物的组织培养和快速繁殖常用培养基为 MS 培养基, 也有少数采用 MT 培养基^[3], 激素应用方面, 见报道的有 6-BA、NAA、2, 4-D、6-BA、IBA 和 CPPU 等^[4]。该试验采用 MS 添加 6-BA 诱导不定芽, 用 1/2 MS 添加 IBA 诱导不定根, 均获得成功。建立的离体培养再生体系稳定性好, 繁殖周期短, 培育新品种能在短期内适应大规模培养, 对轮生香茶菜三倍体种苗的保存及生产中的快繁有一定的参考意义。

3.1 丛生芽的诱导

在组织培养过程中, 如何选择合适的、最易表达全能性的部位是决定培养体系成功建立的前提之一^[5]。黄群声等^[6]研究表明, 用线纹香茶菜的嫩枝条进行快速繁殖比用幼叶好。闫志刚等^[7]研究也表明, 带腋芽茎段是较好的材料。该试验以带腋芽茎段为外植体也取得了很好的效果。

6-BA 和 NAA 是香茶菜属植物诱导不定芽最常用

的 2 种激素, 丁兰等^[8]的试验表明, MS 培养基附加适宜浓度的 6-BA 和 NAA (或 IAA, 2, 4-D) 均能诱导芽的产生, 较低浓度的 6-BA 与较低浓度的 NAA (或 IAA) 的激素配比, 诱导单一芽形成; 较高浓度的 6-BA 与较低浓度的 NAA (或 IAA) 的激素配比, 诱导丛生芽产生。该试验结果表明, 在仅使用 6-BA 2 mg/L 的情况下即可 100% 诱导丛生芽的形成。贺红等^[3]在进行溪黄草的离体培养和快速繁殖时发现, 单个外植体诱导芽的数量与 6-BA 浓度有关, 附加 6-BA 能增加成芽数量, 但 6-BA 浓度继续增加, 出芽数反而下降。胡博等^[9]研究发现, 在 4-PU 浓度为 0.25 mg/L 的 1/2MS 培养基上的 *P. hilliardiae* hybrid 分化芽诱导效果较好, 芽增殖倍数为 3.2。无激素的培养基也可诱导不定芽的产生, 芽增殖倍数为 1.4。该试验中(2)和(3)号培养基的芽增殖倍数最高, 分别达到 2.17 和 2.59, 无激素的培养基芽增殖倍数仅为 0.14。

3.2 不定根的形成

黄群声等^[6]在线纹香茶菜组织培养试验中发现, 在改良的 1/2 MS 培养基中, 不加生长素不能诱导无菌苗生根。该试验中, 单纯使用 1/2 MS 培养基也能诱导出不定根, 生根率较低, 这说明香茶菜属中不同种植物对培养基盐浓度的适应能力不同。胡博等^[9]的研究表明 IBA 对 *P. hilliardiae* hybrid 不定根的诱导明显优于 NAA, 其诱导的不定根较粗壮, 数量多; NAA 诱导的不定根细而短。试验附加不同浓度的 IBA 均可 100% 诱导出不定根。在 IBA 1.0 mg/L 时诱导效果最好, 根的质量最佳, 说明适当浓度的 IBA 对试管苗不定根形成有很好的促进作用。

参考文献

[1] Iita. Cassava in tropical Africa. A reference manual[M]. International Institute of Tropical Agriculture 1990; 12-16.
[2] Birts G J Li L. Polyploid breeding of wild south african *Plectranthus* (Spurflowers) as new flowering pot plants[M]. *Acta Horticultura* 2007.
[3] 贺红, 冼建春, 肖省娥. 溪黄草离体培养和快速繁殖[J]. *中草药* 2001, 32(3): 255-256.
[4] 张亚兰, 何秀霞. 蓝萼香茶菜的组培快繁[J]. *植物杂志*, 2001(1): 26.
[5] 潘瑞焱, 施和平, 李玲. 植物细胞工程[M]. 广州: 广东高等教育出版社 2006.
[6] 黄群声, 关瑞爱, 陈玉梅. 四种植物生长调节剂对线纹香茶菜组织培养的影响[J]. *亚热带植物科学* 2003, 32(1): 26-29.
[7] 闫志刚, 胡东南, 吴庆华. 等. 三叶香茶菜的组织培养及植株再生[J]. *植物生理学通讯* 2006, 42(5): 919.
[8] 丁兰, 吕军旺, 汪义卿. 总序香茶菜的组织培养与快繁研究[J]. *中草药*, 2005, 36(1): 115-117.
[9] 胡博, 陈刚, Birts G. 等. *Plectranthus hilliardiae* hybrid 的组织培养与快速繁殖[J]. *亚热带植物科学* 2006, 35(1): 64.

黑果枸杞染色体核型分析

陈海魁, 曹君迈, 任 贤, 黄素平, 张 爽

(西北第二民族学院 生命科学系, 宁夏 银川 750021)

摘 要: 采用染色体常规制片法, 结合显微摄影技术对黑果枸杞染色体进行检测分析, 结果表明: 黑果枸杞染色体数为 $2n=24$, 核型公式是 $2n=24=20m+2sm+2m(sat)$, 全组染色体总长度为 $86.88\ \mu\text{m}$, 长臂总长 $49.44\ \mu\text{m}$, 核型不对称系数(AS.K%)为 56.9% , 总体积为 $127.58\ \mu\text{m}^3$ 。

关键词: 黑果枸杞; 染色体; 核型分析

中图分类号: S 793.9 文献标识码: A 文章编号: 1001—0009(2008)07—0207—03

黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr) 系茄科(Solanaceae) 枸杞属(*Lycium* L.) 植物^[1], 棘刺灌木, 高20~50 cm, 多分支, 枝条斜生或横卧地面, 白或灰色, 长成之字形曲折, 浆果, 紫黑色, 球状, 无毒, 有甜味, 稀顶端稍凹, 直径4~6 mm。其味甘, 性平, 清心热, 用于治疗心热病, 心脏病, 月经不调, 停经等病症。种子肾形褐色。花果期5~10月, 是我国西北荒漠地区一种特有的、亟待开发的野生植物, 分布于山西北部、宁夏、甘肃、青海、新疆、西藏等省^[2]。

目前, 国内外关于对黑果枸杞的研究报道不多, 取得的成果比较少, 其染色体核型分析的研究也未见文献报道。通过开展黑果枸杞核型分析的研究, 了解黑果枸杞细胞的染色体数目、形态、核型及其他相关信息, 对探索物种遗传机制、亲缘关系与进化、远缘杂种的鉴定等都有重要价值。

第一作者简介: 陈海魁(1980-), 男, 甘肃民勤人, 本科, 助教, 研究方向为植物生态学。E-mail: haikui2000@hotmail.com。

基金项目: 西北第二民族学院2007年基金资助项目(2007Y047)。

收稿日期: 2008—02—13

1 材料与方法

1.1 材料

供试黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr)种子采自甘肃民勤县。

1.2 方法

1.2.1 试验方法 选取饱满的种子放在培养皿中, 用70℃的水浸泡15 min后置于27℃的气候箱中5 d待胚根长至0.3~0.5 cm时于上午9~10时切取胚根; 在室温下用0.05%的秋水仙素处理4 h, 用蒸馏水冲洗2~3次后用卡诺固定液处理4~12 h, 放入60℃, 1 mol/L的盐酸中解离15 min, 将材料放在载玻片上, 切取根尖部位1~2 mm, 用45%改良苯酚品红染液染色; 当根尖着色后, 盖盖玻片并压片, 吸取多余染液, 镜检。选取具有染色体分散良好, 核相较好, 符合分析要求的片子, 冰冻法揭片, 干燥后用中性树胶封片, 然后进行显微摄影及分析。

1.2.2 计算方法 细胞核型分析按我国1984年8月第1届全国植物染色体学术讨论会上由李懋学、陈瑞阳所作的“关于植物核型的分析标准化问题的标准”, 对染色体进行计数、配对、排列、测量、计算、列表、绘制核型模式

Tissue Culture and Rapid Propagation of Triploid Crossbred *Plectranthus verticillatus*

CHEN Gang¹, LI Ling²

(1. College of Life Science, Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526061, China; 2. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510631, China)

Abstract: Using stems with axillary buds of *Plectranthus verticillatus* as explants, the effect of different hormones on shooting and rooting was studied. Rapid propagation system of *P. verticillatus* was established. The results indicated that the explants had a high inducement at the medium of MS + 6-BA 2.0 mg/L, the rate was 100%. On the medium of 1/2MS+IBA 1.0 mg/L, the rooting rate was 100%.

Key words: *Plectranthus verticillatus*; Triploid crossbred Tissue culture; Rapid propagation