

不同因素对蟛蜞菊茎段组织培养的影响

邓红梅, 周 天, 韩寒冰, 马 超

(茂名学院 化学与生命科学学院, 广东 茂名 525000)

摘 要:以蟛蜞菊茎段作为外植体进行组织培养, 探讨不同的激素配比、不同生长素的浓度、不同的无机盐和有机物浓度、不同的 pH、不同的蔗糖浓度对蟛蜞菊茎段芽分化的影响。结果表明: 不同的激素配比、不同生长素的浓度、不同的无机盐和有机添加物浓度、不同的 pH、不同的蔗糖浓度对蟛蜞菊茎段芽的诱导和生长会产生较大的影响; 诱导蟛蜞菊茎段芽分化的最适培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L+蔗糖 3.0 % pH 5.5~6.0 之间, 在此条件下蟛蜞菊生长良好, 芽丛数量多。

关键词: 蟛蜞菊; 组织培养; 茎段; 植物激素

中图分类号: S 682.2⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)11-0104-04

蟛蜞菊(*Wedelia chinensis* (Osbeck.) Merr.) 又称马兰、田边菊等。不仅具有较好的食用^[1]、观赏价值, 而且在药用价值上有较为突出的一面。蟛蜞菊含三十烷酸(Melissic acid), 二十四烷酸(Lignoceric acid), 豆甾醇(Stigmasterol), 豆甾醇葡萄糖苷(Stigmasterol glucoside), 左旋-贝壳杉烯酸(Kaur-16-en-19-oic acid)。叶含蟛蜞菊内酯(Wedelolactone; C₁₆H₁₀O₇), 并含有异黄酮类化合物。味微苦、甘, 性凉。清热解毒, 凉血散瘀, 凉血平肝。具有抗癌作用和杀菌作用。主治感冒发热、咽喉炎、扁桃体炎、腮腺炎、白喉、百日咳、气管炎、肺炎、肺结核咯血、鼻衄、尿血、传染性肝炎、痢疾、痔疮、疗疮肿毒、外用治疗疮疖肿, 是一种疗效好的中草药^[2-3]。研究蟛蜞菊快速繁殖技术, 可为植物组织培养技术在农业和医药业快速发展提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

蟛蜞菊取材于茂名学院花卉园地。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的灭菌和培养条件 选取生长健壮的蟛蜞菊茎段部分, 用自来水反复冲洗干净, 在超净工作台上将蟛蜞菊茎段放入 70% 酒精浸泡 10~30 s 后, 再用 2% 次氯酸钠浸泡 10~15 min, 用无菌水洗 3~5 次。剪成 2 cm 左右, 接种于培养基上。培养温度 26~28 ℃、光照度 1 000~2 000 lx、光照时间 10 h/d。

1.2.2 培养基的配制 以 MS 为基本培养基, 分别设计

6 组不同激素配比 6-BA (6-苄基腺嘌呤) 2.0 mg/L+NAA ((α -萘乙酸) 0.2 mg/L、6-BA 2.0 mg/L+IBA (吲哚丁酸) 0.2 mg/L、6-BA 2.0 mg/L+IAA (吲哚乙酸) 0.2 mg/L、KT (6-呋喃甲基腺嘌呤) 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L、KT 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L、KT 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L。每组 10 个重复, 每瓶接种 2 个茎段, 做好标记(下同)。考察不同激素对比对蟛蜞菊茎段芽的诱导和生长的影响。以 MS 为基本培养基, 添加 2.0 mg/L 6-BA。设计 2 种生长素: 第 1 组分别加入 0.8、0.4、0.2 IBA; 第 2 组分别加入 0.8、0.4、0.2 NAA。考察不同生长素浓度对蟛蜞菊茎段芽的诱导和生长的影响。以 MS 为基本培养基, 添加 6-BA 2.0 mg/L 和 IBA 0.2 mg/L, 蔗糖浓度分别为 0.0%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%、6.0%。考察不同蔗糖浓度对蟛蜞菊茎段芽的诱导和生长的影响。配制培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L+3% 蔗糖+0.7% 琼脂, 分别调 pH 至 4.0、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0, 考察不同 pH 值对蟛蜞菊茎段芽的诱导和生长的影响。配制 MS 和 1/2MS 2 种基本培养基, 分别添加的 6-BA 2.0 mg/L 和 IBA 0.2 mg/L。考察无机盐浓度和有机物对蟛蜞菊茎段芽的诱导和生长的影响。

2 结果与分析

2.1 不同激素对比对蟛蜞菊茎段不定芽生长的影响

从表 1 和图 1 可见 附加 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L、6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L、6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L 的 6-BA 组合诱导出的芽丛数量都远远超过附加 MS+KT 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L、MS+KT 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L、MS+KT 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L 的 KT 组合。虽然 KT 组合诱导出的芽体数量不多, 但却易于成为比较茁壮和大棵的试管

第一作者简介: 邓红梅(1965-), 女, 本科, 讲师, 现从事生物技术方面的教学和研究工作。E-mail: dhm005@126.com。

基金项目: 广东省茂名市科学计划基金资助项目(2008A019)。

收稿日期: 2006-06-10

苗, 叶子、茎都明显粗大。 试验还发现, 在 6-BA 激素组 却要在第 8 天才能生成芽体。
合中, 接种后培养的第 4 天已开始出现芽体, 而 KT 组合

表 1 不同激素对比对菊花茎段芽分化和生长情况

培养基配方及序号 激素浓度单位/ mg/ L	处理 材料数/ 个	第 4 天情况	第 8 天情况	第 25 天情况
(1)MS+6-BA 2.0+NAA 0.2	20	9个茎段上长出 1~2 个芽体	成活茎段均长出 4~6 个芽体的芽丛 叶片较小, 芽体较弱小	成活茎段均长出 9~15 个芽体的芽丛。叶 片较小, 芽体较弱小
(2)MS+6-BA 2.0+IAA 0.2	20	7个茎段上长出 1~2 芽体	成活茎段均长出 3~5 个芽体的芽丛 叶片较小, 芽体较弱小	成活茎段均长出 7~13 个芽体的芽丛。叶 片较小, 芽体较弱小
(3)MS+6-BA 2.0+IBA 0.2	20	9个茎段上长出 1~2 个芽体	成活茎段均长出 5~7 个芽体的芽丛 叶片较小, 芽体较弱小	成活茎段均长出 9~15 个芽体的芽丛。叶 片较小, 芽体较弱小
(4)MS+KT 2.0+NAA 0.2	20	无芽体生成	6个茎段长出 1 芽体	成活茎段均长出 1~2 芽体, 叶片较大, 芽 体较粗壮
(5)MS+KT 2.0+IAA 0.2	20	无芽体生成	6个茎段长出 1 芽体	成活茎段均长出 1~2 芽体, 叶片较大, 芽 体较粗壮
(6)MS+KT 2.0+IBA 0.2	20	无芽体生成	5个茎段长出 1 芽体	成活茎段均长出 1~3 芽体, 叶片较大, 芽 体较粗壮

6-BA 组合:



MS+6-BA 2.0+NAA 0.2



MS+6-BA 2.0+IAA 0.2



MS+6-BA 2.0+IBA 0.2

KT 组合:



MS+KT 2.0+NAA 0.2



MS+KT 2.0+IAA 0.2



MS+KT 2.0+IBA 0.2

图 1 不同激素对比对麒麟菊芽丛生长的影响(第 25 天拍下的照片)

2.2 不同生长素浓度对麒麟菊茎段不定芽生长的影响

从表 2 看出, 在生长素浓度相同情况下, IBA 提高了出芽率, 且苗的生长状况也比 NAA 要好。在相同生长素的情况下, 浓度为 0.2 mg/L 的效果最好, 表明 IBA 与 6-BA 的比值越小越适合麒麟菊芽丛的诱导和生长。

2.3 蔗糖浓度对麒麟菊茎段不定芽生长的影响

从图 2 可见, 适合麒麟菊生长的蔗糖浓度在 2.0%~4.0%之间, 最适生长浓度为 3.0%, 在这个浓度

表 2 不同浓度的生长素对芽丛生长的影响

培养基/ mg · L ⁻¹	接种 数量/ 个	出芽 率/ %	叶片 大小	生长 速度
MS+0.8 NAA+2.0 6-BA	20	27	++	+
MS+0.4 NAA+2.0 6-BA	20	44	++	++
MS+0.2 NAA+2.0 6-BA	20	58	+++	+++
MS+0.8 IBA+2.0 6-BA	20	34	++	+
MS+0.4 IBA+2.0 6-BA	20	46	++	++
MS+0.2 IBA+2.0 6-BA	20	66	+++	+++

注: “+”表示叶片小、叶色(绿色)浅、脆性小、生长速度慢, “+++”速度快, “++”居中。

范围内, 蟛蜞菊的生长速度最快、芽丛的诱导数量最多; 在 4.0%~7% 范围内, 蟛蜞菊的生长速度则随浓度的增

加而下降; 同样, 在 2.0% 以下, 蟛蜞菊也会因蔗糖浓度的减少而生长受阻。

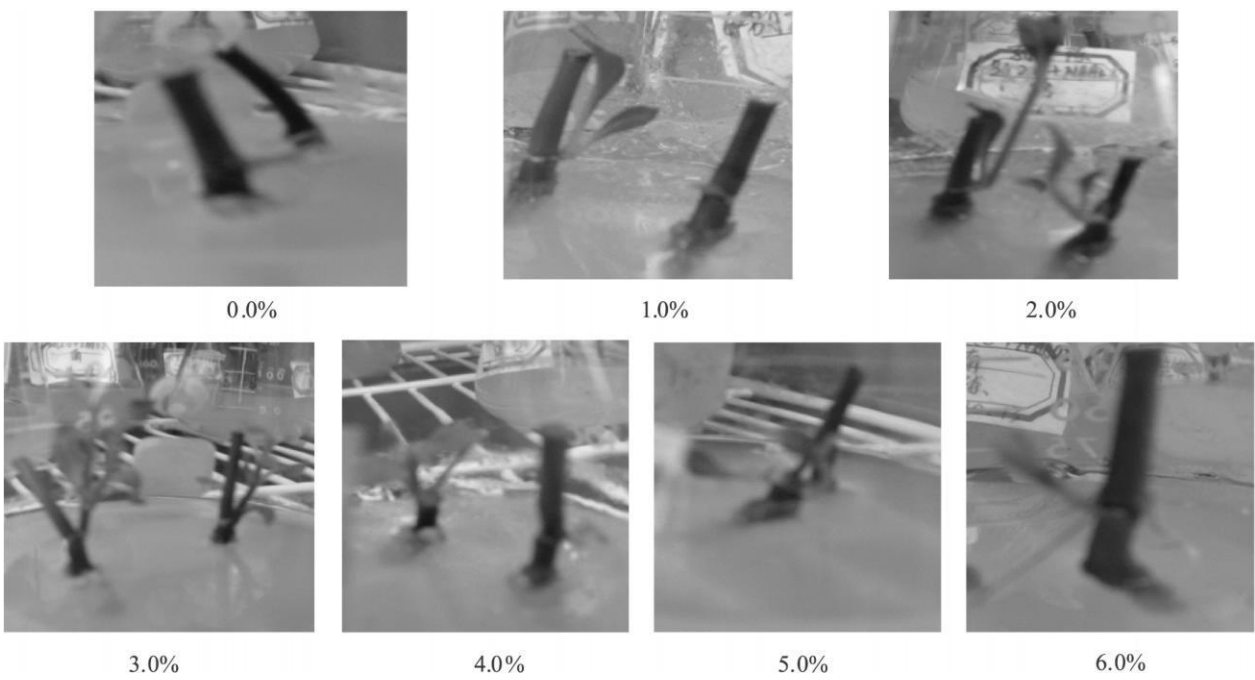


图2 蔗糖浓度对蟛蜞菊茎段芽丛生长的影响

2.4 不同 pH 值对蟛蜞菊茎段不定芽生长的影响

培养 15 d 后观察并记录试验结果(图 3)。结果显示, 培养基初始 pH 6.0~5.5 之间的蟛蜞菊茎段腋芽处芽丛的诱导率、生长情况较好, 其中 pH 6.0 时出芽率与

生长情况最好。培养基 pH 5.0 和培养基 pH 6.5 的出芽率与生长情况稍差。而培养基 pH 4.0 和培养基 pH 7.0 的出芽率大大下降, 而且生长情况最差。

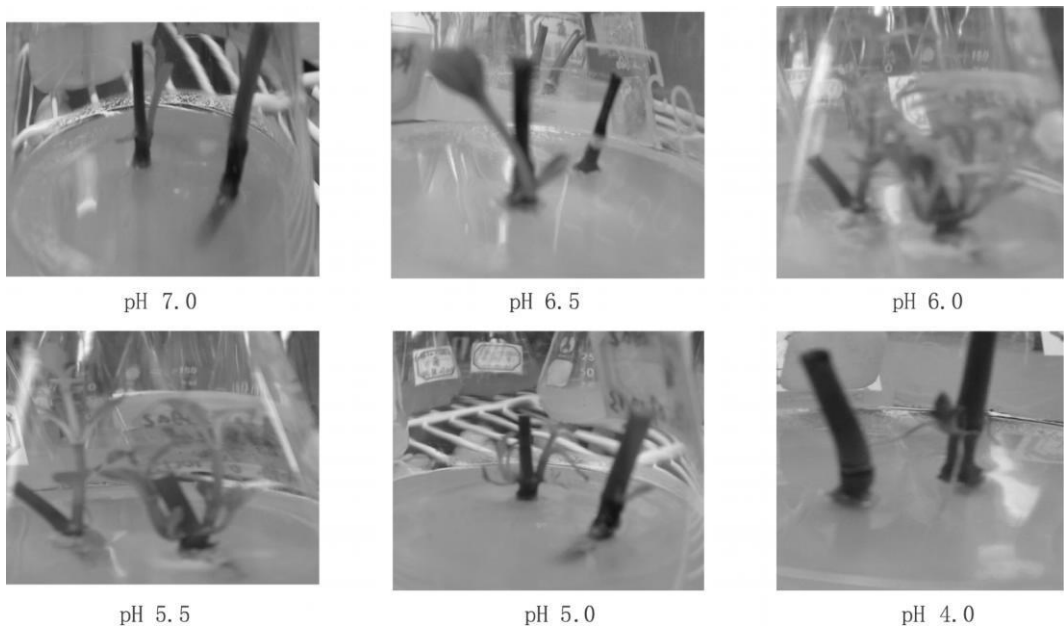


图3 不同 pH 对蟛蜞菊茎段芽生长的情况

2.5 不同浓度的无机盐溶液和有机物对蟛蜞菊茎段不定芽生长的影响

从表 3 和图 4 可见, MS 培养基上的芽丛发生力较强, 芽丛数量较 1/2MS 培养基上的多。尤其是将芽丛转入含有 6-BA 0.1 mg/L 的 MS 培养基继代培养时, 幼苗迅速长大, 植株健壮。

表 3 不同无机盐和有机物浓度对芽丛生长的影响

培养基	10 d 芽丛总数/ 个	25 d 芽丛总数/ 个	生长状况
1/2MS	14	34	芽体生长较弱小, 呈浅绿色
MS	27	56	芽体生长健壮, 呈绿色



MS 培养基 1/2MS 培养基
图 4 不同无机盐和有机物浓度对蟛蜞菊茎段芽丛生长的影响

3 结论与讨论

上述试验表明, 诱导蟛蜞菊茎段芽丛的最适培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L+蔗糖 3.0%, pH 5.5~6.0 之间, 在此条件下蟛蜞菊茎段芽丛诱导率高、生长良好。

在不同激素配比试验中, 6-BA 组合对诱导茎段芽丛生长较好, 不定芽数量最多; KT 组合则不利于芽的分化和不定芽数量的增加, 芽数量少, 但可分化出较茁壮的试管苗, 叶子、茎都明显粗大。不同激素组合诱导产生的试管苗在形态上存在显著差异, 这可能是不同植物激素对试管苗生长发育调控的结果。蔗糖是

组织培养中最常用的碳源, 在植物组织培养中, 糖的用量不仅影响着培养物的生长速度和生长量, 还影响其代谢水平, 次生代谢物的合成, 以及细胞的形态和发生。培养基中的蔗糖, 一方面为培养物的生长和发育代谢提供所需的能量和底物, 另一方面也影响培养基的渗透势, 培养基的渗透势又反过来对培养物的代谢起到调节作用。然而, 并不是说蔗糖越多就越好, 而是有一定的用量要求。从某种意义上讲, 蔗糖在组织培养中是影响植物组织培养成功与否的关键之一^[4,5]。培养基的 pH 值可以通过影响培养物的营养元素的吸收过程来影响呼吸过程, 从而影响呼吸代谢、多胺代谢与脱氧核糖核酸合成、植物激素进出细胞等作用, 进而直接或间接地影响愈伤组织形成及形态建成。而且适当降低培养基 pH 值可以降低氧化酶的活性和底物利用率, 从而抑制褐变^[6]。在离体培养条件下, 不同种植物的组织对培养条件有不同的要求, 甚至同一种植物不同部位的组织对培养条件的要求也不相同, 只有满足了它们各自的特殊要求, 它们才能很好地生长。因此, 在建立一项新的培养系统时, 首先必须找到合适的培养基, 培养才有可能取得成功。

参考文献

[1] 石丽敏, 陈劲枫, 杨寅桂, 等. 野生蔬菜马兰的离体培养与快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(1): 133.
[2] 江西中医学院. 中药大辞典 下册[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 2701.
[3] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编, 下册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 643.
[4] 黄绍兴, 王慧中, 黄美娟. 蔗糖浓度对胡萝卜体细胞胚生长与发育的影响 [J]. 科技通报, 1995, 11(2): 111-114.
[5] 李俊明. 植物组织培养教程[M]. 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2002: 16-23.
[6] 蒋小满, 柏新富, 赵建萍. 植物组织培养因子与培养基中 pH 值的关系[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(6): 802-804.

Effects of Different Factors on Stems Section Tissue Culture of *Wedelia chinensis*

DENG Hong-mei, ZHOU Tian, HAN Han-bin, MA Chao

(College of Chemistry and Life sciences, Maoming University, Maoming, Guangdong 525000, China)

Abstract: The study was using stems section of *Wedelia chinensis* as explants for tissue culture to explore the effects of different hormone proportions, different auxin concentrations, different inorganic salts and organic additives, different pH values and different sucrose concentrations on bud differentiation. The results showed that these factors had obvious influence on the induction and growth of stems section of *Wedelia chinensis*. The optimum medium of bud differentiation was 2.0 mg/L+ IBA 0.2 mg/L+ sucrose 3.0%, and pH value was between 5.5 and 6.0. On this condition, the plant grew well, and its adventitious bud was thicker and more.

Key words: *Wedelia chinensis*; Tissue culture; Stems section; Plant hormone