

绿凤藤茶愈伤组织诱导的初步研究

武 芸, 郑小江, 丁 莉

(生物资源保护与利用湖北省重点实验室 湖北民族学院 湖北 恩施 445000)

摘 要:以藤茶初春萌发的幼嫩枝条为外植体,以 MS 培养基为基本培养基,研究不同植物生长调节物质、不同碳源和不同碳源浓度对藤茶愈伤组织的诱导效应。结果表明:茎和藤须为外植体,其愈伤组织诱导率较高,且诱导愈伤组织的最适培养基为:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+PVP 2 g/L。

关键词:绿凤藤茶;愈伤组织;诱导

中图分类号:S 571.1;S 035.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)03-0059-03

藤茶为葡萄科显齿蛇葡萄属植物^[1] *Ampelopsis grossedentata* (Hand.-Mazz.) T. Wang 的嫩茎叶,经传统加工揉制、干燥而成。“绿凤”藤茶^[2]是郑小江教授经过 8 年选育得到的优良无性系,其茎、叶常用作夏天解暑饮料,是一种优质的天然保健饮品。藤茶为民间习用草药之一,据《全国中草药汇编》记载^[3],该药性凉味甘淡,具有清热解毒之功效,主治黄疸型病毒性肝炎、风热感冒、咽喉肿痛、痢疮等病症。藤茶愈伤组织的诱导迄今未见报道,该研究主要以藤茶初春萌发的幼嫩枝条为外植体,以 MS 培养基为基本培养基,研究不同植物生长调节物质、不同碳源和不同碳源浓度对藤茶愈伤组织的诱导效应,确定愈伤组织诱导和增殖的最适培养基的配置和培养条件。

1 材料和方法

1.1 材料

试验所用材料来源于恩施州来凤县人工扦插繁殖的绿凤藤茶,为了便于随时采样,湖北民族学院生物技术研究所以将其移栽到花盆中种植。

1.2 试验方法

1.2.1 愈伤组织的诱导 取幼嫩的茎芽、藤须,用洗洁精清洗,流水冲洗 2~3 h,于 70% 的酒精中浸泡 30 s 左右,无菌水洗 3~5 次,再放入 0.1% 的升汞溶液中浸泡消毒:茎 8 min、芽、藤须 6 min。或用次氯酸钠(NaClO)消毒,茎 20 min、芽 15 min。无菌水冲洗 5 次,把茎、芽切成 1~1.5 cm 长的小段,接种于附加不同激素的 MS

(pH 6.0)培养基上于温度 21℃,暗室培养。按以下公式计算诱导率:

$$\text{诱导率} = \frac{\text{形成愈伤组织的外植体块数}}{\text{接种外植体的块数}} \times 100\%$$

1.2.2 不同碳源的培养基对藤茶愈伤组织的诱导效应

挑选质地、大小及长度相近的外植体接种于含不同的碳源的培养基上,这里主要的碳源是蔗糖和葡萄糖,通过外植体在不同浓度的蔗糖与葡萄糖的培养基的生长状况选择有利于愈伤组织诱导的碳源。

1.2.3 不同的外植体对愈伤组织的诱导效应 分别挑选幼嫩枝条上的芽、茎、叶、藤须接种于相同的培养基上,2 个月后观察对比。

1.2.4 防褐化物质对藤茶愈伤组织的诱导效应 挑选质地、大小及长度相近的外植体接种于附加有不同的防褐化物质的培养基上,这里主要的防褐化物质有 AC(活性炭)和 PVP(聚乙烯吡咯烷酮),藤茶里含有大量的酚类物质,易被氧化成为褐色的有毒醌类物质,致使外植体褐化死亡。

2 结果与讨论

2.1 不同的激素对藤茶愈伤组织的诱导效应

2.1.1 NAA 的诱导效应 由表 1 可知, NAA 对藤茶愈伤组织的诱导效果显著,当浓度为 0.2 mg/L 时诱导率最高,其愈伤组织成碧绿色、疏松状,且生长势也较好,但都有不同程度的褐化。

表 1 NAA 对藤茶的愈伤组织的诱导效应

Table 1 NAA injures the organization to *Ampelopsis grossedentata* the inductive effect

浓度 Concentration / mg · L ⁻¹	0.1	0.2	0.5	1.0	1.5	2.0
诱导率 Induction rate/ %	63.4	68.5	70.4	62.5	50.2	47.3
生长势 Growth potential	++	++	+++	+++	++	++

注:—,死亡;+,差++;一般,+++;较好,++++;旺盛(下同)。

2.1.2 2,4-D 的诱导效应

表 2 可见,2,4-D 对藤茶愈

第一作者简介:武芸(1971-),女,湖北恩施人,硕士,主要从事天然产物开发及食用菌富硒栽培等方面的相关工作。E-mail: wuyun2058@sohu.com。

基金项目:国家民委科研资助项目(08HB04);湖北民族学院团队资助项目。

收稿日期:2008-10-27

伤组织的诱导效果较好, 且为淡绿色、疏松的愈伤组织, 但生长势较差。当浓度为 0. 1 mg/L 其诱导效果最佳, 但都出现了不同程度的褐化, 当 2, 4-D 的浓度越高时其褐化就越严重 生长势也越差。

表 2 2, 4-D 对藤茶的愈伤组织的诱导效应

Table 2 2, 4-D injures the organization to *Ampelopsis grossedentata* the inductive effect

浓度 Concentration / mg · L ⁻¹	0. 1	0. 2	0. 5	1. 0	1. 5	2. 0
诱导率 Induction rate/ %	30. 4	52. 2	58. 6	62. 5	57. 1	45. 6
生长势 Growth potential	+	++	++	+++	++	++

2.1.3 6-BA 的诱导效应 由表 3 可知, 在浓度为 1. 5 mg/L 时, 其诱导率最高, 其愈伤组织的为淡绿色、疏松状, 其生长势比 NAA 的生长还要好, 但都有不同程度的褐化现象。

表 3 6-BA 对藤茶的愈伤组织的诱导效应

Table 3 6-BA injures the organization to *Ampelopsis grossedentata* the inductive effect

浓度 Concentration / mg · L ⁻¹	0. 1	0. 2	0. 5	1. 0	1. 5	2. 0
诱导率 Induction rate/ %	34. 1	41. 3	50. 5	58. 4	67. 2	57. 7
生长势 Growth potential	++	+++	+++	+++	+++	+++

2.1.4 KT 的诱导效应 由表 4 可知, KT 对藤茶愈伤组织的诱导效果不明显, 生长势也差, 其浓度为 0. 5 mg/L 时诱导率最高, 愈伤组织为淡绿色、疏松状, 有轻微的褐化现象。

表 4 KT 对藤茶的愈伤组织的诱导效应

Table 4 KT injures the organization to *Ampelopsis grossedentata* the inductive effect

浓度 Concentration / mg · L ⁻¹	0. 1	0. 2	0. 5	1. 0	1. 5	2. 0
诱导率 Induction rate/ %	32. 5	35. 4	48. 3	43. 2	37. 5	30. 6
生长势 Growth potential	+	++	++	++	+	+

表 5 6-BA 与 NAA 组合对藤茶的愈伤组织的诱导效应

Table 5 6-BA and NAA combination of *Ampelopsis grossedentata* callus induction effect

浓度 Concentration / mg · L ⁻¹	诱导率 Induction rate/ %	生长势 Growth potential
6-BA1. 0+NAA0. 1	50. 2	+
6-BA1. 0+NAA0. 2	63. 3	++
6-BA1. 0+NAA0. 5	56. 6	++
6-BA1. 5+NAA0. 1	75. 3	+++
6-BA1. 5+NAA0. 2	80. 6	+++
6-BA1. 5+NAA0. 5	72. 4	+++
6-BA2. 0+NAA0. 1	68. 7	+++
6-BA2. 0+NAA0. 2	73. 1	+++
6-BA2. 0+NAA0. 5	67. 5	+++

2.1.5 6-BA 与 NAA 组合对藤茶愈伤组织的诱导效应 由表 5 可知, 6-BA 1. 5 mg/L+NAA 0. 2 mg/L 组合对藤茶愈伤组织的诱导率是最高的。其生长势也是最

好的, 愈伤组织成绿色、疏松、膨大组织。有不同程度的褐化。在以下的培养试验中均是按这种组合。

2.2 不同碳源、不同碳源浓度的培养基对藤茶愈伤组织的诱导效应

由表 6 可知 蔗糖与葡萄糖都在浓度为 30 g/L 时诱导效果最佳, 生长势也较好。且葡萄糖比蔗糖的诱导效果更好, 生长势也要好。但两者相差并不大, 从经济成本考虑, 选择蔗糖作为碳源要适宜。

表 6 不同碳源、不同碳源浓度的培养基对藤茶的愈伤组织的诱导效应

Table 6 Different carbon sources, the concentration of carbon different medium *Ampelopsis grossedentata* on the callus induction effect

碳源浓度 Concentration / g · L ⁻¹	蔗糖 Sucrose 诱导率 Induction rate/ %	蔗糖 Sucrose 生长势 Growth potential	葡萄糖 Glucose 诱导率 Induction rate/ %	葡萄糖 Glucose 生长势 Growth potential
0	—	—	—	—
10	58. 2	++	60. 3	++
20	60. 4	+++	65. 8	+++
30	78. 4	+++	80. 7	++++
40	72. 5	+++	74. 6	++++
50	70. 2	+++	70. 5	+++

2.3 不同的外植体对藤茶愈伤组织的诱导效应

由表 7 可知, 茎和藤须作为外植体诱导愈伤组织的诱导效果较好, 生长势也旺盛, 其愈伤组织碧绿、膨大、疏松。但还是有褐化现象。芽和叶的愈伤组织的诱导效果不明显, 大部分都不能成活 成活的生长势也不好, 褐化也比较严重。

表 7 不同的外植体对藤茶愈伤组织的诱导效应

Table 7 Different outside plants the body to injury the organization to *Ampelopsis grossedentata* the inductive effect

外植体 Outside plants	接种数 Inoculation number/ 块	成活数 Survive number/ 块	愈伤组织数 Callus number/ 块	诱导率 Induction rate/ %	生长势 Growth potential
芽 Bud	80	43	32	40. 0	+++
茎 Stem	83	60	49	59. 0	+++
叶 Leaf	80	32	15	18. 6	+
藤须 Cirrus	85	65	55	64. 7	++++

2.4 不同防褐化物质对愈伤组织诱导效应

表 8 不同防褐化物质对藤茶愈伤组织的诱导效应

Table 8 The different against brown material injures the organization to *Ampelopsis grossedentata* the inductive effect

防褐化物质 Brown material	接种数 Inoculation number/ 块	成活数 Survive number/ 块	死亡数 Death number/ 块	愈伤组织数 Callus number/ 块	诱导率 Induction rate/ %
不加 AC 和 PVP	80	60	18	42	52. 5
AC	80	67	7	18	22. 5
PVP	80	57	23	50	63. 8

由表 8 可知, AC(活性炭)的防褐化效果较好。PVP(聚乙烯吡哆烷酮)的防褐化比较差。虽然 AC 比 PVP 的防褐化效果更好、成活数高、死亡数少, 但其诱导率很低, 比 PVP 要小的多。这种原因认为可能与 AC 的吸附

性有关。加PVP出现了不同以往组培现象:加PVP的比没加PVP的褐化要早要快,但其褐化程度还是要比没加的低,诱导率也要高些。

3 结论

通过对不同植物生长调节物质、不同的理化因子对愈伤组织的诱导的效应进行综合分析,得出以下结论:茎和藤须的愈伤组织诱导率最高,诱导愈伤组织的最适培养基为:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+

PVP 2 g/L。

参考文献

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(二册)补编[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 349-356.
- [2] 郑小江, 刘金龙, 向班贵, 等. 显齿蛇葡萄新品种—绿凤[J]. 园艺学报 2004 31(5): 701.
- [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, 1996: 788.

Preliminary Study on Callus Induction of *Ampleopsis grossedentata* 'Lvfheng'

WU Yun, ZHENG Xiao-jiang, DING Li

(Key Laboratory of Biologic Resources Protection and Utilization of Hubei, Hubei Institute for Nationalities, Enshi, Hubei 445000, China)

Abstract: This article used the young tender branch of *Ampleopsis grossedentata* 'Lvfheng' which sprouted at the beginning of spring as explant, studied on callus induction from the MS basic culture medium, which were added different plant growth regulator, different carbon sources or the different concentration of carbon. The results showed that the stem and its stem tendril had the best effect induced and the most suitable induction culture medium was MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+PVP 2 g/L.

Key words: *Ampleopsis grossedentata* Lvfheng; Callus; Induction

温室蔬菜提倡施用烟雾剂

施用烟雾剂的优点提高防治效果:在封闭的温室内施放烟雾剂,不仅不受风雨、阴晴天气的影响,而且其烟雾渗透力强,施药均匀无死角,药效持久,治病治本,治虫彻底。据试验,防治效果可达90%,比喷雾器喷施提高防效20%左右。降低温棚内湿度:施用烟雾剂,不需对水,从而降低温室内的空气湿度,改善小气候,有利于蔬菜生长发育。省工、省时、节能:施用烟雾剂,不需人工背负喷施,可减轻劳动强度,且为傍晚燃放,不影响白天温棚农事活动,从而提高工效、节约时间。药害残留少,时间短,有利于生产无公害蔬菜。成本低,效益好:施放烟雾剂每次667m²成本比用喷雾器喷施可降低2元左右,且提高防效,降低湿度,降低病害发生率,促进蔬菜生长,综合效益好。

技术要点 施药方法:温室内多点摆放,布点均匀。燃放时从内向门口顺序用暗火逐一点燃,着烟后立即密闭温室。施药时间:一是施用放烟雾剂最好选在傍晚放苫前进行,以利烟雾粒下沉,提高防效。二是在蔬菜生长期,要加强病虫害发生情况调查,适时防治,一般防治病害应在发病前或初期使用,间隔7~10d用1次,连用3~4次;防治虫害在初发期使用,及早控制。对症施药:施药之前,要查明病、虫发生情况,对症用药。防治霜霉病、疫病、灰霉病等病害,可选用10%百菌清烟剂或15%克菌灵烟剂200~250g/667m²;防治白粉病可选用15%克菌灵烟剂,250~300

g/667m²;防治蚜虫可选用22%敌敌畏烟剂或灭蚜烟剂,300~350g/667m²。交替、轮换用药:防治病虫害时,要针对防治对象选择2~3种烟剂交替、轮换使用,避免单一多次连续使用同一种烟剂。注意安全:施放烟雾剂要避开作物和易燃品,点燃后要及时退出温室,关闭密封,次日待通风后方可入温室从事日常活动。

