

# 油用草红花的离体培养与植株再生研究

崔大练<sup>1</sup>, 马玉心<sup>1</sup>, 王书臻<sup>2</sup>

(1. 浙江海洋学院 海洋科学学院, 浙江 舟山 316000; 2. 牡丹江师范学院 黑龙江 牡丹江 157012)

**摘要:** 采用油用红花的子叶做外植体, 进行组织培养和植株再生系统的研究。结果表明: 油用红花子叶在 MS+6-BA 1.0+NAA 0.5+ZT 0.1 mg/L 培养基中诱导率为最高; 在 MS+6-BA 2.0+NAA 1 mg/L 培养基中分化率最高; 在 1/2MS+NAA 0.1+IBA 0.05 mg/L 培养基中生根效果最好。

**关键词:** 油用红花; 子叶; 离体培养; 植株再生

**中图分类号:** S 565.9; S 035.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)07-0069-03

红花根据用途分为药用红花、油用红花和色素红花三类。油用草红花 (*Carthamus tinctorius* L. CV. Donskaya Rannyaya) 是菊科红花属红花的一个引进品种。其含油率高, 尤其是亚油酸含量很高, 油质好, 用来制作油漆和染料, 用途广。而且是一种重要的药用植物, 具有活血通经, 去瘀疗伤, 宣毒透疹等功效<sup>[1]</sup>。近年来, 由于红花产量低、产品开发跟不上等原因, 在我国的种植面积不大, 是一种典型的“未被充分利用作物”<sup>[2]</sup>。尤其是油用红花, 目前从国外引进含油率较高的品种, 虽然具有耐寒、耐旱、耐贫瘠、产油量高等特点, 但是翌年用自繁种子栽种后性状明显退化, 产量也明显降低。无性繁殖将克服种子繁殖的退化现象。前人对红花的组织培养也做较多的研究, 但不同品种红花、同一品种不同外植体诱导愈伤的能力不同, 也就决定了其以后再分化能力的不同, 且普遍存在生根较难, 影响幼苗的成活率<sup>[3]</sup>。现以子叶为外植体, 通过组培获得的幼苗, 出根整齐, 根系发达健壮, 栽种后能够维持其良好的性状、稳定的产量。试验不仅建立了红花的体外再生体系, 而且对油用红花产业的发展具有重要经济技术促进作用, 对其同属生理生化特性的深入研究也有一定参考价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

油用红花的种子由绥芬河苗圃提供。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 无菌材料的获得** 选取颗粒饱满的种子, 加入几滴吐温, 流水冲洗 1 h, 在超净工作台上, 用 70% 酒精浸泡 30 s 后, 放入 0.2% 升汞溶液中, 振荡灭菌 6~8 min, 无菌水冲洗 5~6 次, 用灭菌滤纸吸干水分, 接种到出芽

培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L(单位下同)+NAA 0.2 上, 培养 7 d 后即可长出 2 片肥大的子叶。将每片子叶切成 1 cm<sup>2</sup> 左右小方块, 供诱导芽用。

**1.2.2 愈伤组织诱导和继代增殖** 将无菌外植体接种于 A 组培养基上进行芽的诱导以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 6-BA、NAA 和 ZT (具体配比见表 1), 接种后先在 28℃ 培养箱光下培养观察愈伤组织的形成。每培养 15 d 继代 1 次。当愈伤组织分化形成小芽时, 转接到新鲜的 B 组培养基上进行增殖培养, 附加不同浓度的 6-BA、NAA (具体配比见表 2) 观察分化情况。统计分化和增殖率。

**1.2.3 生根与移栽** 选取生长健壮、具有 2~3 片叶的小苗从基部切下转移到 C 组培养基中进行生根, 培养基为 1/2MS, 附加不同浓度 NAA、IBA (具体配比见表 3) 上述培养基均添加 30 g/L 蔗糖、7 g/L 琼脂 pH 5.8 培养温度 (28±1)℃, 光照时间为 18 h/d, 光照强度为 27~36 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素浓度对诱导愈伤组织的影响

将无菌外植体接种于 A 组培养基上进行芽的诱导, 接种后先在 28℃ 培养箱光下培养 4 d 后, 在添加 6-BA、NAA 和 ZT 的 A5、A6 号培养基上外植体切口处均可形成白色的愈伤组织; 7 d 后, 白色的愈伤组织明显膨大, 渐变成浅绿色(见图 1); 14 d 后, 膨大的浅绿色的愈伤组织迅速增大。A5 号培养基比 A6 号增幅明显。在 6-BA 1.0~2.0 与 NAA 0.5~0.25 的组合试验中, A2 号培养基在培养 6 d 后出现愈伤组织, 7 d 后 A1 号才出现, 10 d 后 A3、A4 出现愈伤组织。在培养过程中 7 d 左右, 要进行 1 次继代培养。

由表 1 可以看出, 油用红花子叶的高诱导率在附加 3 种激素 A5、A6 号培养基中。其中 A5 号 6-BA 1.0+NAA 0.5+ZT 0.1 的组合为最高, 达到 91.56%; 其次

第一作者简介: 崔大练(1970-), 女, 硕士, 实验师, 现主要从事植物逆境生理研究工作。E-mail: donghai8883@163.com.

收稿日期: 2009-02-10

6-BA 1.0 和 NAA 0.25~0.5 的组合,而 A3、A4 组的 6-BA 2.0 和 NAA 0.25~0.5 的组合诱导率最低。可见油用红花组织培养中合理的配比多种激素对提高诱导率十分重要的,在诱导愈伤组织的培养中加入少量的 ZT 更有利于愈伤组织的形成。

表 1 不同的激素配比对子叶诱导愈伤组织的影响

Table 1 Effect of different hormone combinations on callus induction from cotyledon of *C. tinctorius* L.

处理	激素配比	诱导率
Treatment	Hormone combinations/mg · L <sup>-1</sup>	Ratio of callus induced/ %
A1	6-BA 1.0+NAA 0.5	76.58
A2	6-BA 1.0+NAA 0.25	80.43
A3	6-BA 2.0+NAA 0.5	56.66
A4	6-BA 2.0+NAA 0.25	55.74
A5	6-BA 1.0+NAA 0.5+ZT 0.1	91.56
A6	6-BA 2.0+NAA 0.5+ZT 0.5	87.98

2.2 不同激素浓度对继代增殖的影响

将 A5 号培养基中的膨大的浅绿色的愈伤组织转接到 B 组增殖培养基上,培养 4 d 后, B4 和 B2 号愈伤组织先形成小突起,分化形成浅绿色芽点,6 d 左右,分化出 2~3 个小芽〔见图 1(2)〕, B4 号分化的小芽比 B2 组的茁壮,长势快。14 d 左右当小芽长到 0.5~1 cm 高时,将其切成单独小苗,每株小苗上均带有愈伤组织块,转接到新鲜的培养基上进行增殖培养,形成丛生芽。每株小苗可增殖 4~5 株,每次继代时间为 15 d 左右,增殖 5~6 倍。B1、B3 组合中也是 6 d 左右分化出小芽,但是小芽生长缓慢。进行增殖培养时,增殖率低; B5、B6 的组合中培养 10 d 后才出现芽点,形成的小苗矮小,纤细,增殖率低,出现玻璃化。

由表 2 可以看出,分化率高的是 2 种激素配比 NAA 1 和 6-BA 1.0~2.0 的组合,其中 B4 号培养基的分化率最高为 74.66%,同时增殖的系数也最高达到了 6.37 倍。其次为 NAA 0.5 和 6-BA 1.0~2.0 的 B1 和 B3 组合,而 3 种激素的配比并没有获得好的分化效果,在 6-BA 2.0+NAA 2+ZT 0.5 的组合中分化率最低为 41.55%,增殖倍数仅为 0.64。油用红花的继代增殖培养不适宜多种激素的组合,油用红花在 NAA 1 和 6-BA 1.0~2.0 的范围内分化和增殖的效果最好。这与其它的 1 a 生草本植物常用增殖培养基相似<sup>[4-5]</sup>。

2.3 生根与移栽

选取生长健壮、具有 2~3 片叶的小苗从基部切下转移到 C 组培养基中进行生根诱导。C2 号 1/2MS+NAA 0.1+IBA 0.05 在接种后 2 d 便形成根原基,4 d 后开始生长明显的粗壮小根〔见图 1(3)〕,10 d 后根系发达健壮〔见图 1(4)〕,每株平均生根数为 4.76,生根率达 97.88%。C1、C3 和 C4 组合在接种 3~4 d 后都开始形成根原基,6 d 后均有小根出现,但不如 C2 中的粗壮; C5、C6 培养中,在接种后 6 d 才出现根原基,14 d 才有较纤细的

小根出现,数量少,至试验结束小根的数量也见增多。

表 2 不同激素配比浓度对继代增殖的影响

Table 2 Effect of different hormone combinations on subculture multiplication

处理	激素配比 Hormone combinations/mg · L <sup>-1</sup>	分化率 Ratio of differentiation/ %	增殖倍数 Multiplication
B1	6-BA 1.0+NAA 0.5	49.21	3.65
B2	6-BA 1.0+NAA 1	67.54	5.42
B3	6-BA 2.0+NAA 0.5	45.78	2.55
B4	6-BA 2.0+NAA 1	74.66	6.37
B5	6-BA 1.0+NAA 1+ZT 0.1	41.55	1.29
B6	6-BA 2.0+NAA 2+ZT 0.5	26.24	0.64

表 3 不同激素配比浓度对生根的影响

Table 3 Effect of different hormone combinations on rooting culture

处理	激素配比 Hormone combinations/mg · L <sup>-1</sup>	生根率 Rooting percentage/ %	根数/株 Root number/ plant
C1	1/2MS+NAA 0.1+IBA 0.1	86.78	2.19
C2	1/2MS+NAA 0.1+IBA 0.05	97.88	4.76
C3	1/2MS+NAA 0.05+IBA 0.1	89.54	2.04
C4	1/2MS+NAA 0.05+IBA 0.05	90.55	1.75
C5	1/2MS+ IBA 0.1	56.72	0.43
C6	1/2MS+NAA 1	45.13	0.31

由表 3 可知,2 种激素组合的培养基生根效果好,均达到 85%以上,而单激素的培养基生根效果相对差最只达到了 56.72%,进一步说明红花的生根培养应在多激素组合下效果较好,这与 Baker 研究的草红花结果相似<sup>[9]</sup>。

当苗高 2~3 cm 时,打开瓶口练苗 2 d。取出小苗,用清水洗净根部,移栽到已灭菌的富含腐殖质、疏松肥沃、保水透气的土壤中,同时要注意保温、保湿和适度的光照即可,成活率可达 95%以上。

3 结论

国内外对草红花组织培养所做研究较多<sup>[9]</sup>,红花的胚轴、子叶和子叶节均可诱导产生愈伤组织,在红花组培中上常用的生长调节物质多为 NAA 和 6-BA,但不同品种红花差异很大。油用红花诱导 NAA 和 6-BA 添加了 ZT,用多种激素的组合提高油用红花愈伤组织的诱导率,但在分化和增殖的中并没有获得好的效果, NAA 和 6-BA 的组合在继代和增殖培养中获得较好的分化率与增殖倍数。通过 NAA 和 IBA 的合理配比使红花的生根率明显提高,达到 97.88%。试验在组培生根时还发现其切口处汁液有明显的抑菌作用(初步鉴定为大肠杆菌〔见图 1(5)〕)。此研究不但为快速繁殖油用红花建立了技术体系,也为其生理生态的进一步研究奠定了基础。

参考文献

[1] 李隆云,周裕书.近年来红花栽培育种研究概况[J].中草药,1990,21(7): 41-44.  
[2] 杨玉霞,吴卫,郑有良.红花研究进展[J].四川农业大学学报,22(4): 365-369.  
[3] 李爱新,王晓东,汪莉,等.红花细胞和组织培养研究进展[J].工程学

报, 2006, 6(1): 156-160.

[ 4 ] 崔大练, 满秀玲, 马玉心. 芙蓉葵的离体培养与植物再生[ J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(2): 128.

[ 5 ] 黄美娟, 张 蕾, 黄海泉. 紫苏的组织培养及快繁技术研究[ J]. 北方园艺, 2008(1): 198-200.

[ 6 ] Baker C M, Dyer W E. Improvements in Rooting Regenerated Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Shoots[ J]. Plant Cell Rep 1996 16: 106-110.

[ 7 ] 靳占忠, 侯占铭, 韩碧文. 红花愈伤组织诱导及其与过氧化物酶和酯酶同工酶的关系[ J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(3): 15-18.



图1 再生体系建立

Fig. 1 Regeneration system

注: 1. 培养 7 d 后, 子叶切口处形成的愈伤组织开始膨大; 2. 愈伤组织形成丛生芽; 3. 培养 4 d 后, 根原基形成茁壮的小根; 4. 培养 10 d 后根系发达健壮; 5. 生根苗切口处形成明显抑菌圈。

Note: 1. After 7 d culture, the cotyledon incision callus formed the beginning of expansion; 2. Callus formed multiple shoot clumps; 3. After 4 d rooting culture, sturdy small root of formation on root primordia; 4. After 7 d rooting culture, developed strong root system of formation; 5. Obvious bacteriostatic circle of formation around seedling incision.

*In vitro* Culture and Plantlet Regeneration of *Carthamus tinctorius* L. CV. Donskaya Rannyaya

CUI Da-lian<sup>1</sup>, MA Yu-xin<sup>1</sup>, WANG Shu-zhen<sup>2</sup>

(1. Marine Science College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316004, China; 2. Mudanjiang Normal Coolege, Mudanjiang, Heilongjiang 157012, China)

**Abstract:** *Carthamus tinctorius* L. CV. Donskaya Rannyaya regeneration system and its *in vitro* culture was studied with explant of its cotyledon. The results showed that its optimal proliferation culture medium among all tested media was MS+6-BA 1.0+NAA 0.5+ZT 0.1 mg/L; that it's optimal differentiation medium among all tested ones was MS+6-BA 2.0+NAA 1 mg/L that its optimal roting culture medium among all tested ones was 1/2MS+NAA 0.1+IBA 0.05 mg/L.

**Key words:** *Carthamus tinctorius* L. CV. Donskaya Rannyaya; Cotyledon; *In vitro* Culture; Plantlet regeneration

如何确定蔬菜的播种量？

为了保证有足够的秧苗提供大田蔬菜生产的需要,必须明确蔬菜的播种量。育苗时种子播种量的常见计算方法主要考虑以下因素:每667 m<sup>2</sup>地的秧苗数、种子千粒重、种子发芽率以及20%的安全系数(即增加20%的秧苗)。

计算方法为:

种子用量(g/667m<sup>2</sup>)=(667 m<sup>2</sup>秧苗数+安全系数)×种子千粒重÷种子发芽率。

例如:番茄每667 m<sup>2</sup>地栽种3 000株,种子千粒重3.25个,发芽率为85%。则:种子用量(g/667m<sup>2</sup>)=(3000+3000×20%)×3.25÷85%=14 g/667m<sup>2</sup>。