

白花败酱组织培养及快速繁殖研究

庾韦花, 张向军, 蒙平, 蒋慧萍, 陈少珍

(广西农业科学院, 广西 南宁 530007)

摘要:选取长势较好、无病害野生白花败酱植株的茎尖及茎段作为外植体进行组织培养, 以 MS 为基本培养基, 设计不同激素浓度配比试验, 筛选最佳培养基配方。结果表明:采用 0.1% HgCl₂ 对外植体进行消毒, 茎尖最佳消毒时间为 10 min, 茎段为 15 min; 最佳诱导培养基配方是 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 诱导率 100%, 增殖培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 增殖倍数 7.8; 生根壮苗培养基是 MS+NAA 1 mg/L+马铃薯 5%。

关键词: 白花败酱; 茎尖; 茎段; 诱导; 生根

中图分类号: S 647.03.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)08-0121-03

白花败酱别名苦菜、鹿肠等, 为败酱科多年生草本植物, 是一种药食两用的野生蔬菜^[1], 全草均可入药, 具有清热利湿, 解毒排脓等功效, 常用于治疗阑尾炎、肝炎、扁桃体炎等症^[2]。以嫩茎叶作蔬菜, 其味甘甜, 凉拌、热炒或作汤为佳。白花败酱营养价值很高, 含有丰富的蛋白质、氨基酸、维生素及微量元素^[3], 目前白花败酱虽然分布广, 野生资源颇为丰富, 但在开发利用时应本着可持续发展的原则, 避免对自然资源和生态环境造成破坏, 提倡人工栽培白花败酱, 达到永续利用的目的, 为了提高繁殖速度, 选择优良的野生白花败酱植株, 取其茎段进行组织培养。广西农业科学院生物研究室于 2007 年开始对野生白花败酱植株进行组织培养, 筛选最佳消毒时间与培养基配方, 掌握整套组培快繁技术, 对开发利用天然植物资源及扩大种植等方面有重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究材料

来源于广西全州的野生白花败酱, 现由广西农业科学院生物所采集在大棚种植。

1.2 培养条件

培养室温度 28~30℃, 每天光照时间 10 h, 光照强度 1 500 lx 左右, 25~30 d 继代 1 次, 至第 6 代进行生根、练苗及移栽。

1.3 方法

1.3.1 消毒 选取长势较好、无病害优良植株茎尖及中间茎段, 剪掉叶片后用洗衣粉清洗掉表层的污泥, 清水冲洗 3~4 次, 用 75%酒精消毒 10 s, 无菌水冲洗 2~3

次, 再用 0.1% HgCl₂ 进行消毒, 分为 10、13、15 min 3 种处理, 消毒后立即用无菌水清洗 3~4 次即可接入培养基中。

1.3.2 接种 茎尖与茎段分开消毒、接种, 每瓶培养基接 2~3 个外植体, 每条茎段留 1 个节, 每个处理接 15 瓶, 每隔 10 d 观察 1 次结果, 筛选最佳培养基配方。

1.3.3 筛选诱导与增殖的培养基 1~10 号培养基分别进行诱导与增殖培养试验, 各培养基加 3%蔗糖和 0.47%琼脂, pH 5.8。

表 1 诱导丛生芽的培养基

MS 处理	激素配比/mg · L ⁻¹	
	NAA	6-BA
1	0.1	0.5
2	0.1	1
3	0.1	2
4	0.1	3
5	0.2	0.5
6	0.2	1
7	0.2	2
8	0.2	3
9	0.5	1
10	0.5	2

1.3.4 诱导生根壮苗的培养基 将高度长至 3~5 cm 的植株切下转入生根壮苗培养基, 各培养基加 3%蔗糖和 0.47%琼脂, pH 5.8。

表 2 诱导生根壮苗的培养基

MS 处理	激素浓度/mg · L ⁻¹	附加物
	NAA	
1	0.5	无
2	1	无
3	2	无
4	1	5%马铃薯
5	2	5%马铃薯

1.3.5 计算 污染率=(污染外植体个数/外植体总个数)×100%; 萌动率=(萌动外植体个数/外植体总个

第一作者简介: 庾韦花(1977-), 女, 广西永福人, 硕士, 助理研究员, 现主要从事生物技术育种工作。E-mail: yuweihua-nn@126.

com。

收稿日期: 2009-03-25

数-污染外植体个数)× 100%; 芽诱导率= (产生丛生芽外植体个数/ 外植体总个数)× 100%。

2 结果与分析

2.1 不同消毒时间对不同外植体的消毒效果

从表 3 可以看出, 在 10 min 处理中, 茎尖污染率为 10%, 萌动率达到 98%, 13 min 和 15 min 2 个处理污染率分别为 8%、2%, 但其萌动率均低于 85%; 茎段在 10、13、15 min 3 个处理中, 萌动率均达到 90%以上, 但前 2 个处理的污染率较高, 分别为 22%和 12%, 因此茎尖最佳消毒时间为 10 min, 茎段最佳消毒时间为 15 min。

表 3 不同消毒时间对不同外植体的消毒效果

外植体 类型	10 min		13 min		15 min	
	污染率/ %	萌动率/ %	污染率/ %	萌动率/ %	污染率/ %	萌动率/ %
茎尖	10	98	8	82	2	66
茎段	22	100	12	96	4	92

表 4 不同培养基对诱导丛生芽的影响

组别	外植体数/ 个	增殖倍数	芽诱导率/ %	有无玻璃化现象
1	18	0.9	61.1	无
2	21	1.4	90.5	有
3	22	3.6	95.5	有
4	23	4.5	100	有
5	20	1.9	85.0	无
6	20	5.1	90.0	有
7	18	7.8	98.0	有
8	20	2.6	95.0	有
9	17	2.9	76.5	有
10	23	3.9	82.6	有

2.2 诱导丛生芽培养基的筛选

从表 4 可以看出, 10 种诱导培养基中, 4 号培养基

芽诱导率 100%, 高于其它 9 种培养基(见图 1); 7 号培养基平均增殖倍数为 7.8, 其次是 4 号培养基与 6 号培养基, 增殖倍数均达到 4.5 以上, 除了 1 号和 5 号培养基, 其它 8 种培养基所诱导的丛生芽均不同程度的发生玻璃化现象。

2.3 继代生长过程

用 7 号培养基 MS+6-BA 2 mg/ L+NAA 0.2 mg/ L 进行增殖效果最好, 接种 10 d 后茎尖或茎段基部开始膨大, 侧芽开始萌动生长; 20 d 左右, 基部产生棉团状的愈伤组织, 部分愈伤组织逐渐分化出小苗; 30 d 后, 茎基部愈伤组织分化出大量小苗, 增殖倍数多则达到 10~15 倍(见图 2); 40 d 观察时, 大部分幼苗已顶住瓶盖, 部分幼苗茎尖有萎蔫现象, 因此每隔 25~30 d 继代一次最为合适。

2.4 生根壮苗培养基筛选

从表 5 可以看出, 加上马铃薯附加物的 5 号培养基生根壮苗效果最佳, 生根速度较其它 4 种培养基快, 茎增粗效果最为明显, 有的茎粗达到原来的 2 倍, 无玻璃化苗(见图 3)。

表 5 不同培养基类型的筛选效果

组别	根数	材料生长状况
1	5	20 d 开始长根 苗细长 茎不增粗, 无玻璃化苗
2	7	18 d 开始长根 苗细长 茎不增粗, 产生玻璃化苗
3	8	15 d 开始长根 少量苗出现玻璃化 茎不增粗
4	6	17 d 开始长根 茎增粗 无玻璃化苗
5	10	15 d 开始长根 30 d 后平均生根数达到 10 条, 茎增粗明显, 无玻璃化苗



图 1 诱导丛生芽培养基的筛选

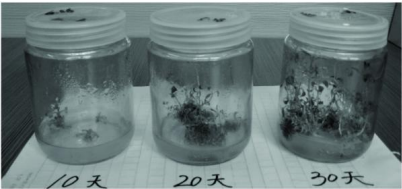


图 2 继代培养过程

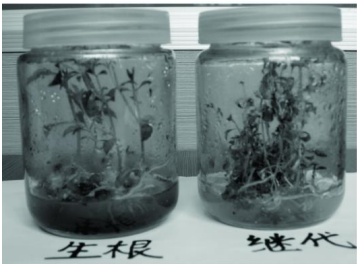


图 3 生根壮苗

3 讨论

同一植物不同器官和不同着生部位, 继代繁殖能力不相同^[4]。在该试验中, 野生苦菜茎尖比茎段容易诱导丛生芽和愈伤组织, 同时, 茎尖也比茎段容易消毒彻底, 因此, 在建立无菌培养体系时, 选择生长健壮, 带病菌少的茎尖进行培养较好。

激素浓度是影响玻璃化现象发生的重要原因之一, 高浓度的细胞分裂素有利于芽的分化, 也会使玻璃化发生比例提高^[5]。诱导培养基筛选实验中, 只有 1 号与 5 号低浓度激素水平的培养基诱导的丛生芽未产生玻璃化苗, 大部分培养基不同程度产生玻璃化苗, 可见玻璃化苗的产生跟 6-BA 与 NAA 浓度的变化较为密切。随着 6-BA 与 NAA 用量的增加, 玻璃化现象愈加严重, 当 BA 浓度超过 3 mg/ L 时, 诱导的丛生芽几乎 100%玻璃化。

A1 浓度对枝管藻中性游孢子附着及生长发育的影响

朱 清 华

(德州学院 生物系 山东 德州 253023)

摘 要: 研究了 A1 浓度对枝管藻中性游孢子附着以及生长发育的影响。孢子附着量用盘状体的数目表示, 盘状体生长速度、生长状况及直立藻丝出现与否用以衡量盘状体的生长发育状况。结果表明: 在不同 A1 浓度 0、0.5、1、2、4 mg/L 中, 最适宜孢子附着及生长发育的浓度为 0.5 mg/L, 其次为 0、1、2 mg/L; 在 5 mg/L 条件下, 孢子附着量少, 盘状体发育不正常, 附着不牢固, 不能发育为直立藻丝; 高于 4 mg/L, 无孢子附着。另外, 在低 A1 浓度条件下 0、0.5、1、2 mg/L, 中性游孢子可最终发育成直立藻丝。

关键词: 冈村枝管藻; A1; 盘状体; 中性游孢子; 孢子体
中图分类号: Q 178.53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2009)08—0123—03

冈村枝管藻 (*Cladosiphon okamuranus*) 原产于日本的冲绳和汤加等地, 属褐藻纲 (Phaeophyceae)、索藻目 (Chordariales)、索藻科 (Chordariaceae)。藻体有大量分枝, 呈柔软的丝状, 褐色或深褐色, 有藻腥味。从该藻中提

取的多糖具有抗凝血、抗肿瘤、抗病毒等生物活性^[1-3], 在日本是最畅销的保健食品之一。

自 20 世纪以来, 国内外学者就冈村枝管藻的形态^[3]和生态^[4-5]方面进行了研究。近几年来, 国内外学者对于该藻的研究主要集中在营养价值和药用价值上^[1-2]。特殊条件下该藻的生长发育状态至今未见报道。有关 A1 对植物的毒害作用的研究已有较多报道^[6-9], 但对枝管藻的作用未见报道。该试验研究了实验室条件下 A1 浓度对枝管藻中性游孢子附着及生长发育的影响, 以期对枝管藻的栽培及引种提供理论依据。

作者简介: 朱清华(1978-), 女, 山东泰安人, 博士, 讲师, 现从事藻类研究工作。
基金项目: 农业部引进国际先进农业科学技术计划 (948 计划) 资助项目 (2003-Z104); 德州学院人才引进资助项目 (06rc011)。
收稿日期: 2009—03—25

因此, 在野生苦菜的组织培养中, 细胞分裂素用量需要特别注意, 尽可能控制在 3 mg/L 或以下。而在生根壮苗培养基中, 添加 5% 马铃薯附加物, 未出现玻璃化现象, 这可能是培养基中的各种营养成分均衡, 对减少玻璃化的发生、促进培养物的生长和发育有积极的作用。

参考文献

[1] 卢寅熏. 败酱草的本草考证[J]. 时珍国药研究, 1996, 7(3): 129-130.

[2] 陈炳华. 白花败酱食疗价值高[J]. 植物杂志, 2002(6): 15.
[3] 赵喜元 田珍. 败酱草的紫外光谱鉴定[J]. 中国中药杂志 1992, 17(7): 394-396.
[4] 张东方. 植物组织培养技术[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2005.
[5] 许继宏 马玉芳, 陈锐平, 等. 药用植物组织培养技术[J]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Patrinia villasa* Juss

YU Wei-hua ZHANG Xiang-jun, MENG Ping, JIANG Hui-ping, CHEN Shao-zhen
(Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China)

Abstract: Took the shoot tips of well-grown, virus-free wild *Patrinia villasa* Juss as explants, the micropropagation system of *Patrinia villasa* Juss was established. The research showed that, the preferable sterilized protocol was to take 15 min of shoot length as explants, and surface sterilized with 0.1% HgCl₂ solution for 10 min. The most effective induction and subculture media were MS basal medium supplemented with 3.0 mg/L BA and 0.1 mg/L NAA which got 100% induction frequency, with 2.0 mg/L BA and 0.2 mg/L NAA which got 7.8 times of proliferation separately. The better rooting medium was MS basal medium supplemented with 1.0 mg/L NAA and 5% (w/v) mashed potato.

Key words: *Patrinia villasa* Juss ; Stem tip and shoot; Induction; Rooting