

南美天胡荽组培快繁技术研究

陈 彤, 贺 蔡 明, 蒋 明

(台州学院 生命科学院, 浙江 临海 317000)

摘 要:以南美天胡荽为材料, 建立了组织培养快速繁殖体系。结果表明: 适宜愈伤组织诱导的最佳外植体为茎; 诱导愈伤组织和产生不定芽的最适培养基为 MS+BAP 3.5 mg/L+NAA 0.02 mg/L; 最佳生根培养基为 MS+NAA 0.1 mg/L。

关键词: 南美天胡荽; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: Q 949.763.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)22-0134-03

南美天胡荽(*Hydrocotyle vulgaris*)为伞形科(Umbelliferae)天胡荽属多年生草本植物, 别名野天胡荽、矮香菇、圆币草、金钱莲和水金钱等, 原产北非、欧洲和里海西部地区。南美天胡荽植株清秀、叶形奇特、生性强健, 可用于水池、湿地、水族箱和吊盆栽植, 近年来逐渐成为家庭养花和水族箱造景的新宠^[1]。南美天胡荽可用匍匐茎和种子繁殖, 有关南美天胡荽组织培养的研究鲜见报道, 现以嫩茎、叶柄和叶片等为外植体进行组织培养, 以期筛选出最适宜的外植体和最佳激素配比的培养基, 为南美天胡荽快速繁殖提供依据, 并为工厂化育苗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

南美天胡荽盆栽植株, 于5月份采集当年萌生的匍匐茎。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体灭菌 剪取匍匐茎后, 先用大量的自来水冲洗, 然后放在0.1% HgCl₂ 中浸泡 10 min, 最后用大量的无菌水冲洗, 以去除残余的 HgCl₂。

1.2.2 培养条件 基本培养基为 MS, pH 5.8, 蔗糖浓度 20 g/L, 于(25±2)℃的培养室中培养, 光照为 1 800~2 000 lx(下同)。

1.2.3 不同外植体对愈伤组织的诱导 将灭菌后的叶片切成 0.4 cm×0.4 cm 的小块, 叶柄、根和茎用无菌刀片切成长约 1.0 cm 的小段。分别将叶片、根、叶柄和茎段接种到 MS+BAP 2.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 的培

养基中, 25 d 时观察愈伤组织诱导情况和统计数据。

1.2.4 不定芽的再生 将长约 1.0 cm 的茎段接种到 12 种基本培养基 MS 上, 激素水平见表 1, 55 d 时观察不定芽诱导情况和记录数据。

表 1 不定芽再生培养基激素水平与浓度

培养基编号	BAP/mg·L ⁻¹	NAA/mg·L ⁻¹
1 号	1.5	0.01
2 号	1.5	0.02
3 号	1.5	0.03
4 号	2.5	0.01
5 号	2.5	0.02
6 号	2.5	0.03
7 号	3.5	0.01
8 号	3.5	0.02
9 号	3.5	0.03
10 号	4.5	0.01
11 号	4.5	0.02
12 号	4.5	0.03

1.2.5 不定根的诱导 将长约 3 cm 的不定芽切下, 接种到 MS+NAA 0 mg/L、MS+NAA 0.1 mg/L、MS+NAA 0.2 mg/L、MS+NAA 0.3 mg/L 和 MS+NAA 0.4 mg/L 培养基中, 30 d 时观察长势和统计生根率。

2 结果与分析

2.1 不同外植体对愈伤组织诱导的影响

以叶片、叶柄、茎和根为外植体, 分别接种到 MS+BAP 2.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 培养基中, 25 d 时记录愈伤组织颜色和统计出愈率。从表 2 可看出, 与叶片、叶柄和根相比, 茎的出愈率最高, 达 63.3%, 根的出愈率最低, 仅 5.6%, 叶片和叶柄的出愈率也不高, 分别为 12.0% 和 26.0%。

2.2 不同激素组合对愈伤组织诱导和不定芽再生的影响

以匍匐茎为外植体, 剪除叶片、叶柄后, 将它们切成长度约 1 cm 的茎段, 接种到 1~12 号培养基中, 25 d 时观察愈伤诱导情况并计算出愈率, 55 d 时观察不定芽长势并记录不定芽数量, 试验结果如表 3 所示, 愈伤组织

第一作者简介: 陈彤(1968), 男, 浙江临海人, 本科, 实验师, 现从事植物生理学相关研究工作。E-mail: cz8679@163.com。

通讯作者: 蒋明(1973), 男, 浙江嵊州人, 博士, 讲师, 现从事植物发育生物学及其分子调控研究工作。E-mail: jiangming1973@139.com。

收稿日期: 2010-08-23

诱导和不定芽分化如图 1、2 所示。从表 3 可知, 7、8 号培养基中的不定芽长势强, 而 1、2、3、10、11、12 号培养基中诱导出的不定芽长势弱。8 号培养基中的出愈率最高, 达 94.4%, 不定芽数量最大, 达 27.0 个, 与其它培养基相比, 出愈率和不定芽数量的差异均达到极显著水平。11 号培养基的出愈率最低, 仅 24.4%, 1、2 号培养基的不定芽个数最少, 仅 1.3 个。

表 2 不同外植体对愈伤组织的诱导

外植体	外植体数量	出愈率/ %	颜色	形成部位
叶片	50	12.0 Cc	嫩绿	切口
叶柄	50	26.0 Bb	嫩绿	两端切口
茎	30	63.3 Aa	嫩绿	两端切口
根	30	5.6 Cc	白	两端切口



图 1 南美天胡荽愈伤组织

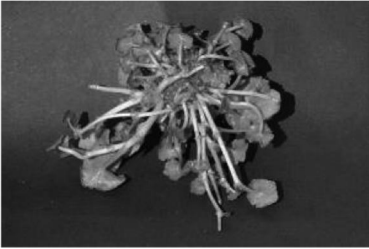


图 2 南美天胡荽不定芽的分化



图 3 移植成活的南美天胡荽组培苗

2.3 不同 NAA 浓度对组培苗生根的影响

将不定芽接种到 5 种生根培养基中, 30 d 时记录生根数和统计生根率(表 4)。不定芽在 5 种培养基中均能生根, 生根率在 MS+NAA 0.1 mg/L 培养基中最高, 达 95.6%。不定根数量也最大, 达 9.3 条, 与其它培养基相比, 差异均达到极显著水平。在没有添加任何激素的 MS 培养基中, 生根率最低, 但也有 71.1%, 不定根数量为 2.3 条。

表 4 不同浓度 NAA 对不定根的诱导

培养基	接种数量 / 苗	生根率 / %	不定根数量 / 条
MS+NAA 0 mg/L	30	71.1 Dd	2.3 Dd
MS+NAA 0.1 mg/L	30	95.6 Aa	9.3 Aa
MS+NAA 0.2 mg/L	30	88.9 Bb	7.0 Bb
MS+NAA 0.3 mg/L	30	80.0 Cc	4.3 Cc
MS+NAA 0.4 mg/L	30	78.9 Cc	3.3 CDed

2.4 练苗和移植

匍匐茎长至 5 cm 高时, 打开瓶盖, 在组培室中放置 2 d 后小心地将组培苗取出, 用自来水轻轻冲洗以去除附着在根际的培养基。将组培苗栽植在经高压灭菌的市售月季花基质中, 浇足水放于荫蔽处养护, 注意保持地上部分的湿度。移植 15 d 后, 新叶长出, 匍匐茎伸长(图 3), 移植的组培苗中有 28 株成活, 成活率达 93.3%。

3 结论与讨论

南美天胡荽适应性广, 能在光照相对较低和盐度较高的环境中生活^[2-3], 近年来在水体绿化、水族箱和室内

表 3 不同激素组合对愈伤组织诱导和不定芽分化的影响

培养基	外植体数量	出愈率 / %	不定芽数量/ 个	不定芽长势
1 号	30	30.0 FGfe	1.3 Hi	弱
2 号	30	36.7 EFde	1.3 Hi	弱
3 号	30	50.0 CDe	3.3 Gh	弱
4 号	30	84.4 Bb	5.7 Fg	较强
5 号	30	82.2 Bb	7.3 Ff	较强
6 号	30	76.7 Bb	15.0 Dd	较强
7 号	30	76.7 Bb	18.3 Cc	强
8 号	30	94.4 Aa	27.0 Aa	强
9 号	30	55.6 Cc	23.3 Bb	较强
10 号	30	41.1 DEd	18.0 Cc	弱
11 号	30	24.4 Gf	10.0 Ee	弱
12 号	30	26.7 FGf	6.7 Ffg	弱

盆栽中有较多应用。另外, 南美天胡荽除用于观赏外, 全草还可以入药, 具有利尿的功效^[4]。该试验研究了叶片、叶柄、茎和根在愈伤组织诱导中的表现, 茎段的出愈率最高, 细胞团嫩绿、致密, 为愈伤组织诱导的最适外植体; 在组织培养中, BAP 能刺激细胞分裂, 促进芽的分化, 较高的 BAP/NAA 有利于芽的分化^[5], 茎在 12 种培养基中的表现不同, 在出愈率和不定芽数量上存在一定差异, 其中在 MS+BAP 3.5 mg/L+NAA 0.02 mg/L 中的出愈率最高, 不定芽数最多, 与其它培养基相比, 差异均达到极显著水平; 南美天胡荽的生根能力强, 在没有激素的 MS 培养基中, 也有较高的生根率, 在 MS+NAA 0.1 mg/L 培养基中的生根率最高, 不定芽数量最大; 试管苗成活容易, 在市售月季基质中培养, 绝大部分组培苗可成活。南美天胡荽组培快繁体系的建立, 为工厂化种苗生产提供了依据。

参考文献

[1] 李尚志. 观赏水草[M]. 北京: 中国林业出版社, 1996.
[2] Leeflang L, During H J, Werger M J A. The role of petioles in light acquisition by *Hydrocotyle vulgaris* L. in a vertical light gradient[J]. *Oecologia* 1998 117: 235-238.
[3] Karlsons A, Osvalde A, Necejeva J, et al. Changes of nutritional status of coastal plants *Aster tripolium* and *Hydrocotyle vulgaris* at elevated soil salinity[J]. *Acta Universitatis Latviensis* 2008, 745: 165-177.
[4] 玲珑. 青翠欲滴铜钱草[J]. 花木盆景(花卉园艺), 2007(12): 18.
[5] 孙天国, 沙伟. 东北龙胆茎段组织培养的研究[J]. 北方园艺, 2010 (5): 148-150.

铁皮石斛快速繁殖体系研究

杨立昌, 乙引, 张宇斌, 宋庆发, 林俊清

(贵州师范大学 生命科学院 贵州 贵阳 550001)

摘要:以铁皮石斛愈伤组织为试材,比较培养基组分、植物激素种类、浓度及添加剂等对铁皮石斛增殖、壮苗及生根的影响。结果表明:愈伤组织增殖最适培养基为:MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;不定芽诱导的最适培养基:1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;幼苗壮苗的最适培养基为:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+香蕉汁 30%;根诱导培养基:MS+IBA 0.4 mg/L+NAA 0.3 mg/L。

关键词:铁皮石斛;愈伤组织;增殖;诱导

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)22-0136-03

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)为兰科石斛属多年生草本植物,俗称铁皮枫斗,又名黑节草,因其表皮呈铁绿色而得名^[1]。铁皮石斛具有独特的药用价值,秦汉时期《神农本草经》有“主伤中、除痹、下气、补五脏虚劳羸瘦、强阴、久服厚肠胃”的记载,《本草纲目》中亦有“强阴益精,厚肠胃,补内绝不足,平胃气,长肌肉,益智除惊,轻身延年”的记载。道家医学经典《道藏》将铁皮石斛列为“中华九大仙草”之首^[2],民间称其为“救命仙草”,是常用名贵中药^[3]。铁皮石斛具有提高免疫力、抗衰老、防治肿瘤和心血管疾病以及改善睡眠、防治

白内障等疾病的功能,临床上用于治疗慢性咽炎、消化系统疾病、眼科疾病、血栓闭塞疾病、癌症和辅助治疗,特别是近几年用于癌症放疗、化疗后的副作用消除和体能恢复,效果显著^[4]。现代药理研究表明:铁皮石斛还具有抗肿瘤、抗衰老,增强人体免疫力及扩张血管的作用^[5]。

铁皮石斛生长缓慢且自身繁殖能力低,对生境要求苛刻,自然产量极为稀少,更因药用价值高遭到人们的过度采挖,致使野生资源濒临绝种^[6]。目前,我国野生铁皮石斛资源日趋减少,被列为国家二级保护植物^[7]。因此,亟需开展铁皮石斛快速繁殖研究。现拟通过对铁皮石斛增殖、壮苗和生根过程中培养基、激素和添加剂的研究,以为铁皮石斛的快速繁殖提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

铁皮石斛愈伤组织由贵州师范大学生命科学学院应用分子生物学校级重点实验室提供。

第一作者简介:杨立昌(1974),男,硕士,讲师,现主要从事药用植物学研究。

通讯作者:乙引(1967),男,博士,教授,现主要从事药用植物开发与利用研究工作。E-mail: yiyin@gznu.edu.cn。

基金项目:贵州省中药现代化科技产业研究开发专项资助项目(黔科合社字[2009]5043号);贵州省科技创新人才团队建设资助项目(黔科合人才团队[2009]4007号)。

收稿日期:2010-08-19

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Hydrocotyle vulgaris*

CHEN Tong, HE Cai-ming, JIANG Ming

(College of Life Sciences, Taizhou University, Linhai, Zhejiang 317000)

Abstract: A tissue culture and rapid propagation system of *Hydrocotyle vulgaris* was established. The results showed that stem was the best explant for the induction of callus. The most suitable medium for callus induction and adventitious bud proliferation was MS+BAP 3.5 mg/L+NAA 0.02 mg/L; The best rooting medium was MS+NAA 0.1 mg/L.

Key words: *Hydrocotyle vulgaris*; tissue culture; rapid propagation