

茵陈的组织培养与快速繁殖

黄 振¹, 丁雪珍², 任培华²

(1. 枣庄职业学院, 山东 枣庄 277800; 2. 潍坊职业学院, 山东 潍坊 261031)

摘 要:以茵陈的茎尖和茎段为外植体,研究了不同浓度 6-BA 和 NAA 外源激素配比组合对其离体培养的影响。结果表明:茎尖比茎段更适合做外植体;适宜的诱导培养基为 MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L;继代增殖培养基为 MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L;生根培养基为 1/2MS+NAA 0.1 mg/L。

关键词:茵陈;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)19-0116-03

茵陈(*Artemisia capillaries* Thunb)为菊科多年生灌木植物茵陈蒿的幼苗,别名白蒿、茵陈蒿、绵茵陈等,广泛分布于山坡、河边等处。茵陈作为我国的传统中药,富含维生素 C 和维生素 B,并含有人体所需的多种微量元素和 20 余种氨基酸,被广泛应用于治疗各种黄疸性肝胆疾病,治疗高血脂、冠心病、高血压等心血管疾病等^[1]。茵陈具有很好的医疗、保健功能^[2]。近年来茵陈作为一种特菜在塑料大棚等保护地进行栽培,每年春季(清明节前后)幼苗高约 6~10 cm 时采收食用,而成为一种特殊的野菜登上了高档餐桌^[3]。

随着市场对茵陈产品的开发,仅通过野生茵陈的自然繁殖,已远远不能满足人们的需要。为了尽快满足市场对茵陈的需求,该试验首次尝试对茵陈进行组织培养,以确定茵陈能否通过该方法进行快速繁殖;拟对茵陈种质资源通过组织培养进行脱毒、复壮和保存等。而且,茵陈还具有重要的盆景开发价值,在木本茵陈菊盆景的项目开发中,可作为嫁接小菊的砧木,具有关键性作用。通过茵陈的组织培养和快速育苗,可在短期内为茵陈菊盆景的创作提供大量的砧木资源,具有很高的观赏价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在潍坊职业学院园林工程系组培中心进行。试验用茵陈来自枣庄职业学院,为取材便于 2010 年 10 月移栽于潍坊职业学院组培中心的驯化大棚中栽培。所用仪器和工具主要有天平、冰箱、压力蒸汽灭菌器、电磁炉、超净工作台、酒精灯、弯头剪、枪型镊、三角瓶、量筒、不同量程移液管等;所用试剂包括 MS 培

基的各种化学药剂、HgCl₂、酒精、蔗糖、琼脂、无菌水等。

1.2 试验方法^[4-5]

1.2.1 外植体的选择与采集 从生长在日光温室的优良植株上,选取健壮、无病虫害的嫩枝茎尖和茎段作为外植体。

1.2.2 外植体的处理 将采回实验室的枝条剪去叶片和叶柄,只留下大约 2 mm 长的叶柄以保护腋芽。然后将枝条切成小段,长 2~3 cm,每茎段至少带有 1 个腋芽,用流水冲洗约 5 min,再用稀释的洗洁精溶液漂洗约 10 min,最后用流水洗净,放到干净的三角瓶中备用。

1.2.3 外植体的灭菌 在经过紫外线灭菌的超净工作台上,将处理好的外植体先用 75% 的酒精浸润 30 s,倒出酒精后再用 0.1% 的 HgCl₂ 灭菌 4 min(注意不断振摇使灭菌剂与材料充分接触),最后用无菌水冲洗 5~6 遍,沥干水分后把它们分别接种于不同的诱导培养基上。

1.2.4 外植体的诱导 经过灭菌的外植体接种于不同激素浓度的 MS 培养基上,激素采用 6-BA 和 NAA,6-BA 选择 0、0.1、0.2 mg/L 3 个浓度梯度,NAA 选择 0、0.1、0.2 mg/L 3 个浓度梯度;培养基均添加蔗糖 30 g/L、琼脂 6.5 g/L,pH5.8。培养条件为:温度(25±2)℃,光照时间 12 h/d,光照强度 1 500~2 000 lx。接种培养 1 个月后统计分化情况,根据试验结果筛选出茵陈外植体诱导的最适培养基。

1.2.5 中间繁殖体的增殖培养 以茵陈分化出的新生小苗(中间繁殖体)为继代转接材料,把它们分别接种到不同激素组合的 MS 培养基上(BA 采用 0、0.1、0.2 mg/L 3 个浓度梯度,NAA 采用 0、0.05、0.1 mg/L 3 个浓度梯度),采用与诱导阶段相同的培养条件培养,1 个月后观察记录增殖情况,筛选出最适增殖培养基。

1.2.6 生根培养 从继代增殖得到的幼苗中,剪切 1.5~2.0 cm 长的嫩茎转接至 1/2MS 培养基上,NAA

第一作者简介:黄振(1971-),男,山东枣庄人,本科,讲师,现主要从事观赏园艺方面的研究和教学工作。E-mail:hz010212@163.com。

基金项目:山东省科技攻关资助项目(2010GNC10919)。

收稿日期:2011-06-22

浓度为 0、0.05、0.1、0.2 mg/L 4 个梯度。培养基均加蔗糖 20 g/L、琼脂 6.0 g/L, pH 5.8。培养条件: 温度 (25±2)℃, 光照时间 12 h/d, 光照强度 2 000~3 000 lx。14 d 后观察统计生根情况, 并筛选出最适生根的培养基。

1.2.7 驯化移栽 采用穴盘移栽法, 蛭石做移栽基质。先将基质装入穴盘中, 然后用喷雾器将穴盘中的基质喷湿(基质一定要喷透)备用。将生根苗移出培养室, 放在准备室内, 打开封口膜, 用镊子轻轻取出小苗, 用流水将小苗根部的培养基冲洗干净。用竹签在穴中打孔, 然后将洗好的茵陈苗插到孔中, 捏实。栽好后用喷壶浇 1 遍透水, 搭上小拱棚保湿。练苗过程中根据温湿度变化及时通风、遮荫、洒水等, 使棚内温度白天保持在 23~25℃, 晚上不低于 15℃; 湿度 1 周内保持在 90% 以上, 之后逐渐降低到 60%~70%。待 10~15 d 小苗的新根、新叶长出后可撤去小拱棚, 按照常规管理。

2 结果与分析

2.1 外植体诱导分化与生长情况

外植体在不同激素浓度的诱导培养基上的分化结果见表 1。不添加 BA 时, 外植体分化所需时间长且分化率较低; BA 为 0.2 mg/L 时, 分化出的芽多而苗体小, 甚至出现部分玻璃化; 而 BA 为 0.1 mg/L 时, 芽体分化早, 分化率高, 且苗体较为健壮, 所以茵陈分化最佳培养基为 MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L。另外, 对茎尖和茎段的分化情况统计发现, 茎尖分化率、成功率、生长状况均比茎段要好, 所以茵陈组织培养的适宜外植体为茎尖。

表 1 不同激素配对外植体诱导的影响

处理	BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	分化率 /%	分化时间 /d	分化状况
1	0	0	75	7	分化较少, 生长缓慢
2	0	0.1	70	7	分化较少, 生长较好
3	0	0.2	80	7	分化较少, 苗体细弱
4	0.1	0	90	5	分化率高, 生长较缓慢
5	0.1	0.1	100	5	分化率最高, 生长良好
6	0.1	0.2	95	5	分化率高, 苗体较细弱
7	0.2	0	90	6	分化芽数多, 苗体小, 生长缓慢
8	0.2	0.1	95	6	分化芽数多, 苗体小, 生长较好
9	0.2	0.2	80	6	分化芽数多, 苗体细弱, 部分玻璃化

2.2 不同浓度激素对继代增殖培养的影响

在不同激素浓度的增殖培养基中进行中间繁殖体的增殖培养, 1 个月统计增殖结果。由表 2 可知, 植物激素可以促进茵陈分化, 但需要合适的配比。单独使用高浓度的 BA 会促进侧芽分化, 但也减慢苗体生长速度; 只有配合 NAA 才能促进苗体伸长生长。茵陈增殖培养适宜的激素组合为 BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 或 BA 0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

表 2 不同激素配比对茵陈增殖培养的影响

处理	BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	增殖倍率 /倍	生长增殖状况
1	0	0	1.8	增殖少, 生长缓慢, 部分小苗黄化死亡
2	0	0.05	2.8	增殖较多, 生长较好
3	0	0.1	3.5	增殖倍率高, 苗体伸长生长明显, 生长健壮
4	0.1	0	2.2	增殖较少, 侧芽分化但生长缓慢
5	0.1	0.05	2.5	增殖较少, 生长良好
6	0.1	0.1	3.0	增殖倍率较高, 苗体健壮
7	0.2	0	2.3	增殖较少, 侧芽分化多, 但生长缓慢
8	0.2	0.05	2.7	增殖较少, 生长较好
9	0.2	0.1	3.8	增殖倍率高, 但苗体较细弱, 不利于生根

2.3 不同浓度激素对生根培养的影响

茵陈在生根培养基上, 大约 5 d 开始形成根原基, 同时苗体也开始长高, 14 d 后统计不同浓度激素处理对生根的影响。由表 3 可知, 1/2MS+NAA 0.1 mg/L 的培养基生根时间早、数量多, 根系生长健壮, 为最佳生根培养基。

表 3 不同 NAA 浓度对茵陈生根培养的影响

处理	1	2	3	4
NAA/mg·L ⁻¹	0	0.05	0.1	0.2
根原基形成时间/d	无	7	5	10
生根条数/条	0	2	5	3
根系生长情况	—	健壮	健壮	有少量愈伤组织, 生长较慢

2.4 组培苗移栽

移栽后的茵陈再生苗长势很好, 移栽时高度 2~3 cm, 根长 0.5 cm 左右, 1 周后即长出新叶和新根。2 周后其叶色浓绿, 茎秆呈嫩绿色, 粗壮, 高度可达 5 cm, 叶片数可达 7~8 片, 成活率可达 95% 以上。

3 结论

该研究发现以茵陈的茎尖作为外植体进行组织培养, 外植体的诱导、中间繁殖体的增殖培养、试管苗的生根培养及驯化移栽均可成功操作, 诱导、增殖、生根的最佳培养基分别为 MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L, MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 或 MS+NAA 0.1 mg/L, 1/2MS+NAA 0.1 mg/L。通过试验可知, 茵陈可以成功进行组织培养, 而且增殖系数高、见效快, 是茵陈快速繁殖的一条有效途径, 为木本茵陈菊盆景的项目研究与开发准备了充分的种质资源, 具有广阔的市场前景。

参考文献

- [1] 刘学东, 秦水亮, 李东露. 特菜新品—茵陈[J]. 蔬菜, 2009(1):13.
- [2] 孟繁钦, 吴宜艳. 茵陈的药理作用及临床应用进展[J]. 牡丹江医学院学报, 2009, 30(1):46-48.
- [3] 郑延芬. 话说茯苓[J]. 医药与保健, 2009, 17(2):47.
- [4] 曹春英. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006:66-68.
- [5] 韩磊, 秦晓杰, 王洪波, 等. 野菊嫩茎的组织培养[J]. 北方园艺, 2009(3):112-114.

大木枣叶柄愈伤组织分化培养研究

齐向英, 陈宗礼, 王 英, 杨娅娅, 薛 皓

(陕西省红枣繁育工程重点实验室, 延安大学 生命科学院, 陕西 延安 716000)

摘 要:以 KT、ZT、IAA 为外源激素, 采用正交实验法, 对由枣树叶柄诱导出的继代培养 1 代的愈伤组织进行分化培养研究。结果表明: 在愈伤组织分化培养过程中 3 种外源激素对枣树愈伤组织分化率和死亡率的影响是一致的, 均为 $ZT > KT > IAA$ 。分化率最高达到 58.82%, 最低为 0%; 死亡率最高达到 43.42%, 最低为 15.07%。F 检验 3 种外源激素对分化率和死亡率的影响都不显著, 通过极差分析最终确定分化培养合适的激素组合为 $KT 4.0 \text{ mg/L} + ZT 1.0 \text{ mg/L} + IAA 0.03 \text{ mg/L}$

关键词:枣; 愈伤组织; 分化

中图分类号: S 665.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)19-0118-03

枣树是我国特有果树, 因其含大量的维生素而被誉为“天然维生素丸”^[1]。枣树是栽培果树种中极为耐旱、耐寒、抗胁迫的树种, 一直旱涝保收, 在我国北方地区被誉为“铁杆庄稼”^[2]。但枣树繁育技术相对落后, 在主产区新品种选育大多采用芽变苗优中选优的方式。枣树愈伤组织诱导和培养已有报道^[3-7]。通过枣树愈伤组织培育新品种也有报道^[8-9]。愈伤组织诱导所用的材料也各不相同。但对叶柄诱导出的愈伤组织分化研究尚未见报道, 该研究目的是通过一个世代继代培养就开始分化, 以期枣树愈伤组织快速分化提供依据。

第一作者简介: 齐向英(1980-), 男, 陕西宝鸡人, 硕士, 讲师, 研究方向为生物技术与枣树育种。E-mail: yd_qixiangying@163.com。
责任作者: 陈宗礼(1954-), 男, 陕西扶风人, 教授, 硕士生导师, 研究方向为植物组织培养与植物遗传育种。E-mail: zongli_chen@yahoo.com.cn。

基金项目: 陕西省重点实验室专项资助项目(05JS39); 延安大学自然科学基金专项资助项目(YD20010-15)。

收稿日期: 2011-06-25

1 材料与方法

1.1 试验材料

材料取自陕西省红枣繁育工程重点实验室组培与育种研究室的继代培养 2 代的枣树试管苗叶片诱导出的愈伤组织。

1.2 试验方法

将枣树试管苗叶片按陈宗礼^[3]等筛选的方法, 由叶柄诱导愈伤组织。将诱导出的愈伤组织在陈宗礼等^[4]筛选的培养基中继带 1 代。然后以 $KT(2.0, 4.0, 6.0 \text{ mg/L})$ 、 $ZT(1.0, 1.5, 2.0 \text{ mg/L})$ 、 $IAA(0.01, 0.02, 0.03 \text{ mg/L})$ 作为外源激素, 采用三因素三水平正交实验进行分化研究。无菌条件下将继代培养的愈伤组织切成 0.5 cm^2 , 接种在以 MS 为基本培养基的分化培养基上, 培养基中附加蔗糖 20 g/L 、琼脂 5.5 g/L 、在 121°C 下灭菌 22 min , IAA 通过 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤灭菌加入培养基中。接种前在培养基在室温下贮存 3 d。接种后在散光条件下培养 7 d 然后转入光下培养, 光照强度为 $(1500 \pm 200) \text{ lx}$, 每天 12 h 光照。于培养开始每周观察 1 次, 统计分化率和死亡率。统计所有分

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Artemisia capillaris* Thunb.

HUANG Zhen¹, DING Xue-zhen², REN Pei-hua²

(1. Zaozhuang Vocational College, Zaozhuang, Shandong 277800; 2. Weifang Vocational College, Weifang, Shandong 261031)

Abstract: The stem tip and stem section of *Artemisia capillaris* Thunb. were used as explants, the influences of matching combinations of exogenous hormone 6-BA and NAA with different concentration on its culture *in vitro* were studied. The results showed that the stem tip suits to do explant more than the stem section; the best medium to induce proliferation was $MS + BA 0.1 \text{ mg/L} + NAA 0.1 \text{ mg/L}$; the best subculture medium was $MS + BA 0.1 \text{ mg/L} + NAA 0.1 \text{ mg/L}$; While rooting medium was $1/2MS + NAA 0.1 \text{ mg/L}$.

Key words: *Artemisia capillaris* Thunb.; tissue culture; rapid propagation