

蓝萼香茶菜子叶组织脱分化及再生培养研究

马银波¹, 刘久石¹, 张品品¹, 崔娜²

(1. 沈阳农业大学 园艺学院 辽宁 沈阳 110161; 2. 沈阳农业大学 生物科学技术学院 辽宁 沈阳 110161)

摘要:以蓝萼香茶菜的子叶为外植体, 研究诱导愈伤组织不同激素的最佳浓度, 建立蓝萼香茶菜的快速繁殖体系。结果表明: 蓝萼香茶菜子叶在 2, 4-D 0.8 mg/L、KT 1.4 mg/L、6-BA 1.5 mg/L 时最早出现愈伤组织, 且愈伤组织长势最好。

关键词: 蓝萼香茶菜; 子叶; 组织培养;

中图分类号: S 567.23⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)09-0149-03

蓝萼香茶菜系唇形科(Labiatae) 香茶菜属植物 [*Plectranthus japonica* (Burm.) Koidz. var. *glaucocalyx* (Maxim.) Kiodz], 在东北、华北、宁夏、山东、江苏、安徽、河南等省区分布较为广泛, 沈阳地区也有分布^[1]。蓝萼香茶菜是我国民间的常用草药, 富含萜类、黄酮、挥发油等多种成分^[2-3]。体外抗菌研究结果表明, 具有抗菌活性、细胞毒性和抗肿瘤活性、昆虫拒食活性和治疗心血管系统疾病的活性, 对小鼠瘤体生长、爱滋病 I 型病毒也有一定的抑制作用^[4-5]。因为蓝萼香茶菜分布具有一定区域性, 且自然发芽率较低, 为方便采集应用, 已有一些对其进行组织培养的研究报道^[6-9], 且组培快繁是解决其种子萌发率低, 增加蓝萼香茶菜的产量的有效方法^[10-13]。目前尚未见利用蓝萼香茶菜子叶作为外植体进行组织培养的报道。该试验研究了不同成分培养基对其子叶组织培养及脱分化和再生的影响, 为蓝萼香茶菜的组织培养和工厂化生产提供依据。

1 材料及方法

1.1 试验材料

蓝萼香茶菜种子采自沈阳市天柱山。

1.2 培养基的配方

诱导培养基 1: MS+2, 4-D+3%蔗糖+0.7%琼

脂; 诱导培养基 2: MS+6-BA+3%蔗糖+0.7%琼脂; 诱导培养基 3: MS+KT+3%蔗糖+0.7%琼脂。以上培养基 pH 调到 5.8^[14-15]。

1.3 试验方法

东北产蓝萼香茶菜种子放在湿润的纱布上自然发芽。选择生长健壮, 有 2 片子叶的香茶菜小苗作为外植体。将试验材料用自来水浸泡 20 min, 将其取出放入灭菌的小烧杯中。倒入 75% 的酒精浸泡 30 s, 倒掉酒精, 倒入 0.1% 的升汞并不断搅动 7 min, 弃去升汞, 用无菌水冲洗 3~4 次, 每次冲洗时要搅拌。将灭菌后的试验材料放入装有无菌滤纸的培养皿中, 吸去多余的水分。将外植体放在灭菌的培养皿中, 然后一手拿解剖刀, 一手拿镊子, 取子叶并划破。然后左手拿三角瓶, 将三角瓶稍微倾斜, 靠近酒精灯火焰, 右手用镊子将子叶夹起, 使其内表面向下送入瓶内并轻轻将其放在培养基上, 封口。将接种后的培养基移入培养室进行培养, 并定时观察外植体的生长状况。

2 结果与分析

将子叶划破, 放入培养基中进行培养, 获得愈伤组织。第 1 个阶段是在子叶上产生少量愈伤组织, 一般在 9 d 左右(表 1), 第 2 个阶段愈伤组织开始大量形成, 颜色也稍有些淡化, 一般在 9~20 d 左右, 第 3 个阶段小苗出现。试验表明, 当 2, 4-D 浓度为 0.8、1.0 mg/L 时最早出现愈伤组织, 但是 0.8 mg/L 愈伤组织长势最好(表 2); KT 浓度为 1.4 mg/L 最早出现愈伤组织, 且愈伤组织长势最好(表 3); 6-BA 浓度为 1.5 mg/L 最早出现愈伤组织, 且愈伤组织长势最好(表 4)。

第一作者简介: 马银波(1988-), 男, 本科, 研究方向为中草药。
责任作者: 崔娜(1968-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事植物学的教学和科研工作。E-mail: syaua@163.com。
基金项目: 沈阳农业大学大学生科技创新立项资助项目。
收稿日期: 2011-02-16

表 1 子叶长出愈伤组织的时间

激素	标号	浓度	时间/d					
		/mg ° L ⁻¹	4	5	6	7	8	9
2,4-D	1.1	0.6		2	3	4	4	4
	1.2	0.8	1	3	5	5	5	5
	1.3	1.0	1	2	3	5	5	5
	1.4	1.2			2	4	4	4
	1.5	1.4		1	2	4	5	5
KT	2.1	0.8		1	1	5	5	5
	2.2	1.0			2	4	5	5
	2.3	1.2		2	5	5	5	5
	2.4	1.4	1	3	4	4	4	4
	2.5	1.6			1	4	4	4
6-BA	3.1	0.8			1	3	4	4
	3.2	1.0		1	4	5	5	5
	3.3	1.2		1	3	4	4	4
	3.4	1.5	2	4	5	5	5	5
	3.5	1.8		1	4	5	5	5
	对照				2	5	5	5

表 2 愈伤组织在不同浓度 2,4-D 培养基上生长状况

浓度	对照	2,4-D 浓度/mg ° L ⁻¹				
		0.6	0.8	1.0	1.2	1.4
愈伤组织长势	++	++	+++	++	+	+

表 3 愈伤组织在不同浓度 KT 培养基上生长状况

浓度	对照	KT 浓度/mg ° L ⁻¹				
		0.8	1.0	1.2	1.4	1.6
愈伤组织长势	++	++	++	++	+++	+

表 4 愈伤组织在不同浓度 6-BA 培养基上的生长状况

浓度	对照	6-BA 浓度 mg ° L ⁻¹				
		0.8	1.0	1.2	1.5	1.8
愈伤组织长势	++	++	++	++	+++	++

3 结论与讨论

东北蓝萼香茶菜诱导愈伤组织所用的外植体不同、培养基中不同浓度不同种类的激素对植物组织脱分化的影响效果不同。用子叶作为外植体获得了组培苗,说明子叶适合作为蓝萼香茶菜组织培养的外植体。当培养基中 2,4-D 浓度为 0.8、1.0 mg/L 最早出现愈伤组织,但是 0.8 mg/L 愈伤组织长势最好;KT 浓度 1.4 mg/L 最早出现愈伤组织,且愈伤组织长势最好;6-BA 浓度为 1.5 mg/L 最早出现愈伤组织,且愈伤组织长势最好。所以 2,4-D 诱导愈伤组织 0.8 mg/L 最适宜,KT 诱导愈伤组织 1.4 mg/L 最适宜,6-BA 诱导愈伤组织 1.5 mg/L 最适宜。下一步工作还要进行培养基的正交实验来进一步优化培养基的组分,并通过试验给予验证^[7-8]。

参考文献

[1] 李书心. 辽宁植物志[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1992.

[2] 杨秀伟, 赵静. 蓝萼香茶菜化学成分的研究[J]. 天然产物研究发展, 2003, 15(6): 490-493.

[3] Dogs K, Ryongung S, Shen X Y. Diterpenoids from *Rabdosia japonica* [J]. Phytochemistry, 1992, 31(2): 697.

[4] 朴龙洽, 秦元满. 蓝萼香茶菜抗癌成分的提取[J]. 延边医学院学报, 1989, 12(2): 106-208.

[5] 王勤, 周至品, 李爱媛. 香茶菜属植物药活性研究进展[J]. 现代医药卫生, 2008, 24(3): 362-363.

[6] 闫志刚, 胡东南. 三叶香茶菜的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(5): 919.

[7] 陈刚, 李玲. 轮生香茶菜的组织培养和快速繁殖[J]. 北方园艺, 2008 (7): 205-207.

[8] 巩振辉, 申书兴. 植物组织培养[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.

菊花的组织培养技术规程

伦 君¹, 张元国², 徐香梅¹, 王林武², 杨晓东²

(1. 山东省潍坊市园林管理处, 山东 潍坊 261041; 2. 山东省潍坊市农科院 山东 潍坊 261061)

中图分类号: S 681.1⁺1 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2011)09-0151-01

菊花 (*Dendranthema morifolium*) 为菊科菊属宿根草本花卉, 园艺品种和栽培品种繁多, 是我国的十大名花之一。菊花开放在百花凋零的仲秋之节, 傲霜而立, 花期长达 2~3 个月, 色彩斑斓, 是一种不可多得的园林绿化美化植物, 也是插花和国庆摆花的极好素材。菊花的常规繁殖方法是用花后芽插和营养生长期的枝条扦插, 但近年来植物组织培养技术在园艺生产已广泛应用。该试验旨在探讨通过组培方法来研究菊花品种大批量无性繁殖的技术条件。

1 取材

用刀片切取不同品种菊花的花蕾若干, 做为接种用外植体。

2 消毒

相同品种的花蕾放在同一容器中, 然后依次用自来水洗净, 用纯酒精和 0.1% 的 HgCl₂ 溶液各消毒 3 遍, 最后用无菌水冲洗 3 遍。

3 接种

在超净工作台上用酒精灯无菌操作, 将消过毒的各菊花花蕾依次切成 3~5 份/个, 接种在含不同生长激素及不同浓度搭配的高压灭菌 MS 培养基上。然后把接种好的培养瓶放在 25℃ 左右室温下培养, 每天光照 12 h, 光照强度 1 000 lx。

4 培养过程

花蕾切块在 MS + 2.0 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA + 30 mg/L 蔗糖 + 8 g/L 琼脂培养基上培养 1 周后开始形成愈伤组织, 2 周左右培养基上的愈伤组织开始有芽分化, 3~4 周后, 待分化出的芽体长到 2 cm 高以上时, 在无菌状态下把愈伤组织上的菊花植物体接种到生根培养基 (1/2MS + 0.1 mg/L NAA + 30 g/L 蔗糖 + 8 g/L 琼脂) 上。同时把切取植物体后的愈伤组织再继续接种到分化培养基上, 使其继续分化成更多的植物体。接种到生根培养基上的菊花植物体 1 周后开始分化出根芽, 3 周左右待其根茎长到 2 cm 以上。

5 过渡移栽

待其根茎长到 2 cm 以上时转移到无激素培养基上 1 周后, 再将完整的菊花植物体取出洗净根部的培养基栽植到蛭石苗床上练苗过渡。待蛭石苗床上菊花组培苗适应环境后, 再转入砂床过渡一段时间。

6 移栽

砂床过渡一段时间即可分株上盆, 进行常规栽培。

第一作者简介: 伦君(1969-), 女, 本科, 农艺师, 研究方向花卉组织培养。

责任作者: 张元国(1966-), 男, 硕士, 研究员, 研究方向为组织培养与育种。E-zyg66205@163.com。

基金项目: 潍坊市科技攻关资助项目 (2001ns36)。

收稿日期: 2011-02-10

Study on Dedifferentiation and Regeneration Culture of Cotyledon Tissue in *Plectranthus japonica* (Burm.) Koidz. var. *glaucoalyx* (Maxim.) Kiodz

MA Yin-bo¹, LIU Jiu-shi¹, HANG Bin-pin¹, CUI Na²

(1. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161; 2. College of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract: Using cotyledon of *Plectranthus japonica* (Burm.) Koidz. var. *glaucoalyx* (Maxim.) Kiodz as explants, effect of different hormones on callus were studied. Rapid propagation system of *Plectranthus japonica* (Burm.) Koidz. var. *glaucoalyx* (Maxim.) Kiodz was established. The results indicated that the callus was first observed at 0.8 mg/L of 2,4-D, 1.4 mg/L of KT, 1.5 mg/L of 6-BA, while the best growth of callus was observed.

Key words: *Plectranthus japonica* (Burm.) Koidz. var. *glaucoalyx* (Maxim.) Kiodz; cotyledon; tissue culture