北方园艺 2012(18):128~130

# 北马兜铃组培快繁技术

邵　红，孙　睿，张丽敏，张卫东，王　振

(佳木斯大学 生命科学学院，黑龙江 佳木斯 154007)

**摘　要**：利用植物组织培养技术对北马兜铃进行快速繁殖，建立北马兜铃植株再生体系。结果表明：愈伤组织诱导的最佳外植体是叶片，在 MS+IBA 0.4 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L培养基中愈伤组织诱导结果较好；愈伤组织分化丛生芽的最佳培养基是 MS+IBA 0.4 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L；诱导试管苗生根的佳培养基为 MS+IBA 0.4 mg/L+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L。

**关键词**：北马兜铃；组织培养；愈伤组织；丛生芽

**中图分类号**：S 567.23　**文献标识码**：B　**文章编号**：1001－0009(2012)18－0128－03

北马兜铃(*Aristolochia contorta* Bunge)为马兜铃科(Aristolochiaceae)马兜铃属(*Aristolochia* L)多年生攀援草本植物[1]。它是一种重要的中草药，果实、叶和根均可入药，具有清热解毒、止咳平喘、行气止痛、消肿降压等功效，能治肺热咳嗽、高血压、肝炎等疾病。由于北马兜铃具有多种药用价值，市场上售价较高。近年来由于过度采挖，使北马兜铃更加稀少。为保护该种植物，并尽可能扩大其繁殖量，该试验利用植物组织培养技术进行快速繁殖，建立北马兜铃植株再生体系，以期短时间内获得大量繁殖的植株，既满足医药市场的需求，也可用于园林建设，美化环境。

## 1　材料与方法

### 1.1　试验材料

试验用北马兜铃采自佳木斯市四丰山。

### 1.2　试验方法

1.2.1　愈伤组织的诱导　取北马兜铃植株剪成4~5 cm长的根及带叶茎段，放于500 mL广口瓶中，用洗洁精水振荡20 min后用流水冲洗1 h，移至超净台上，70%~75%乙醇灭菌10 s，无菌水振荡冲洗2次，然后用0.05%的 $HgCl_2$ 溶液振荡灭菌3 min，再用0.025%的 $HgCl_2$ 溶液振荡灭菌13 min，用无菌水振荡冲洗6~8次。将消毒灭菌后的根和茎段切成0.5 cm长小段、叶片切成0.5 cm×0.5 cm小块(表面划上多条伤口)，置于表1附加不同质量浓度植物生长调节剂组合的MS培养基上进行 $L_9(3^4)$ 正交实验，培养基中蔗糖3%，琼脂0.7%，pH 6.0(比正常植物培养时略高)。各外植体每种培养基上接种60块，重复3次。在温度为(25±1)℃条件下黑暗培养20 d，诱导愈伤组织的发生，诱导率(%)=愈伤组织块数/接种外植体块数×100。将各处理材料转至1 200 lx的光照条件下继续培养，进一步观察愈伤组织的生长情况。

表1　$L_9(3^4)$ 正交实验

Table 1　$L_9(3^4)$ orthogonal test

| 培养基序号 | IBA/mg·L$^{-1}$ | NAA/mg·L$^{-1}$ | 6-BA/mg·L$^{-1}$ | KT/mg·L$^{-1}$ |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0 | 0.2 | 1.0 | 0.5 |
| 3 | 0 | 0.4 | 2.0 | 1.0 |
| 4 | 0.2 | 0 | 1.0 | 1.0 |
| 5 | 0.2 | 0.2 | 2.0 | 0 |
| 6 | 0.2 | 0.4 | 0 | 0.5 |
| 7 | 0.4 | 0 | 2.0 | 0.5 |
| 8 | 0.4 | 0.2 | 0 | 1.0 |
| 9 | 0.4 | 0.4 | 1.0 | 0 |

1.2.2　愈伤组织的分化　把生长状态较好的愈伤组织切割成1 $cm^2$ 的小块后，接种到上述1~9号培养基中，选愈伤组织分化率较高、愈伤组织生长良好的某几种培养基中进行分化培养，诱导丛生芽和根的形成。

1.2.3　试管苗的生根　将分化培养得到的长约1.0 cm、生长旺盛的不定芽从基部剪下，接种到附加不同浓度IBA的生根培养基(Ⅰ：MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L；Ⅱ：MS+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L；Ⅲ：MS+IBA 0.4 mg/L+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L)上进行生根培养。

**第一作者简介**：邵红(1979-)，女，硕士，讲师，研究方向为植物生理学与植物生物技术。E-mail:jmsshky@126.com.

**基金项目**：佳木斯大学科学技术面上基金资助项目(S2010-54)；佳木斯大学大学生科技创新资助项目(Dz2011-044)。

**收稿日期**：2012－05－21



PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

## 2 结果与分析

### 2.1 不同外植体和植物生长调节剂组合对愈伤组织诱导的影响

黑暗条件下培养 20 d 后观察,不同外植体接种后诱导结果见图 1。由图 1 可知,不同外植体生成愈伤组织的能力为叶片＞茎段＞根。以叶片作为外植体对愈伤组织的诱导率最高,除 1 号对照外,诱导率均达 85%以上;以茎段为外植体的愈伤组织诱导率较高,除 1 号对照外,诱导率可达 25%以上;根在各培养基中均没有愈伤组织生成。就不同的植物生长调节剂而言,6、7、8 号培养基中茎段愈伤组织大,颜色鲜绿;6 号培养基中叶片生成的愈伤组织大,颜色鲜绿。将各处理转至光照条件下培养 10 d后观察,4 号培养基中叶片形成小球形黄绿色愈伤组织;6 号培养基中原已形成的愈伤组织有褐化现象;7 号培养基中叶片和茎段生成的愈伤组织均生长旺盛,颜色最为鲜绿;8 号中茎段愈伤组织生长较好,茎段仍保持绿色。

**表 2 外植体与植物生长调节剂组合对愈伤组织的诱导率**

Table 2 Inducing rate of explants and different plant growth regulators on callus %

| 培养基序号 | 外植体 茎段 | 叶片 | 根 |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 8.3 | 0 |
| 2 | 51.7 | 91.7 | 0 |
| 3 | 60.0 | 86.6 | 0 |
| 4 | 26.7 | 88.3 | 0 |
| 5 | 26.7 | 91.7 | 0 |
| 6 | 73.3 | 95.0 | 0 |
| 7 | 100 | 88.3 | 0 |
| 8 | 78.3 | 93.3 | 0 |
| 9 | 50.0 | 100 | 0 |

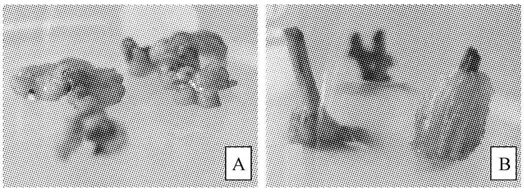


**图 1 不同外植体诱导培养后的生长状态**

注:A.叶片愈伤组织;B.茎段愈伤组织。

Fig. 1 The growth state after different explants induction

Note:A. Callus of leaf;B. Callus of stem section.

### 2.2 不同植物生长调节剂组合对愈伤组织分化的影响

选用能使愈伤组织分化率较高、愈伤组织生长良好的 6～8 号培养基进行愈伤组织的分化培养,分化培养 25 d。由图 2 可以看出,7 号培养基中有叶片愈伤组织分化成丛生芽;6 号培养基中有叶片愈伤组织分化成根;8 号培养基中愈伤组织继续生长,不分化。各种培养基均未能使茎段愈伤组织分化。

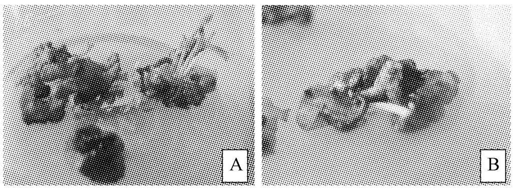


**图 2 不同植物生长调节剂组合对愈伤组织分化的影响**

注:A.叶片愈伤组织丛生芽的分化;B.叶片愈伤组织根的分化。

Fig. 2 Effect of differentiation of different plant growth regulators on callus

Note:A. Differentiation of clumpy bud of leaf callus;B. Differentiation of root of leaf callus.

### 2.3 不同浓度的 IBA 对试管苗生根的影响

将丛生芽移入生根培养基中,培养 18 d 后观察,在生根培养基Ⅲ上生根率最高,为 70%,同时试管苗根系发达、叶片伸展、茎粗壮、生长旺盛;生根培养基Ⅱ中生根率为 45%,根系细弱;生根培养基Ⅰ中生根率仅有 8%,生根数目少,根系不发达。

## 3 结论与讨论

通过组培快繁技术,可以扩大北马兜铃数量,保护北马兜铃种质资源。该试验以北马兜铃茎段、叶片和根为外植体,配以适当浓度的植物生长调节剂进行组织培养快速繁殖,可直接诱导产生愈伤组织,分化丛生芽和根系后得到再生植株。叶片是愈伤组织诱导的最佳外植体,在 MS＋IBA 0.4 mg/L＋6-BA 2.0 mg/L＋KT 0.5 mg/L培养基中愈伤组织诱导结果较好;愈伤组织分化丛生芽的最佳培养基是 MS＋IBA 0.4 mg/L＋6-BA 2.0 mg/L＋KT 0.5 mg/L;诱导试管苗生根的最佳培养基为 MS＋IBA 0.4 mg/L＋NAA 0.2 mg/L＋6-BA 2.0 mg/L＋KT 0.5 mg/L。一般认为茎尖和茎段是植物组织培养较理想的外植体,有利于愈伤组织的生成及芽的分化[2-8]。而对于北马兜铃而言,叶片是生成愈伤组织和分化丛生芽的最理想外植体。

**参考文献**

[1] 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴(第一册)[M].北京:科学出版社,1972:548.
[2] 苏文潘,张美华,黎萍.美丽马兜铃的组织培养和快速繁殖[J].广西热带农业,2008(1):13-14.
[3] 周香君.大蒜多倍体化学诱导技术研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2008.
[4] 赵琛.矮牵牛组织培养研究进展[J].现代农业科技,2007(2):9-10.
[5] 顾地周,丛小力,宋丽利,等.木通马兜铃组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2008,44(1):136.
[6] 魏明杰,姚振远,梅丹娜,等.樱桃组培快繁技术研究[J].落叶果树,2012,44(2):9-13.
[7] 王燕,陈丙义,章镇,等.黄毛草莓组织培养与快繁技术研究[J].西南农业学报,2012,25(1):252-256.
[8] 孙利娜,龙定建,王华新,等.三角梅外植体消毒和愈伤组织诱导研究[J].安徽农业科学,2011,39(20):12024-12025.



PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

# 非洲菊再生体系的建立

乔永旭,张永平,张红心,陈 超,王桂兰,袁晓龙

(唐山师范学院 生命科学系,河北 唐山 063000)

**摘 要**:以非洲菊幼嫩花托为外植体,以 MS 为基础培养基,研究了添加 6-BA 和 NAA 的培养基对愈伤组织诱导、丛生芽发生和丛生芽生根的影响。结果表明:花托的大小影响到愈伤组织的诱导和褐化,0.8 cm 的花托愈伤组织的诱导率高且褐化率低;愈伤组织诱导和芽分化的适宜培养基为 MS+6-BA 10 mg/L+NAA 0.2 mg/L,丛生芽增值的适宜培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,生根培养基为 1/2 MS+IAA 0.2 mg/L。

**关键词**:非洲菊;花托;愈伤组织;芽分化

**中图分类号**:S 681.9 **文献标识码**:A **文章编号**:1001—0009(2012)18—0130—03

非洲菊(*Gerbera jameson*)为菊科大丁草属多年生宿根花卉,别名扶郎花,非洲菊花大色美,娇姿悦目,花色丰富,切花率高,条件适宜可以周年供应。随着鲜花产业及市场的不断发展,非洲菊已成为世界五大切花之一[1],其繁育工作也逐步受到科研工作者的重视。由于非洲菊多年栽培,其花朵的品质和产量逐年下降,严重影响到生产者的积极性,因此采用组织培养的方法繁育脱毒苗已成为目前重要的繁殖手段[2];另外,以再生体系为平台,进行分子育种也逐步提上日程。基于此,该试验以非洲菊幼嫩花托为外植体,接种在添加 6-BA 和 IAA 培养基中,筛选最适合的外植体诱导与分化的最佳培养基,以期建立高效稳定的再生体系,为培育优良的非洲菊品种奠定基础。

**第一作者简介**:乔永旭(1978-),男,硕士,副教授,研究方向为植物细胞工程和植物资源开发与利用。E-mail:qiaoyx123@163.com.

**基金项目**:唐山市科技局科研资助项目(10150202A-10)。

**收稿日期**:2012—05—18

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

采用唐山市西郊苗圃日光温室内的非洲菊花蕾为外植体。2 个切花品种:黄瓣黑蕊、红瓣黄蕊。花瓣直径分别为 0.8 cm 左右、1.5 cm 左右。

### 1.2 试验方法

1.2.1 不同消毒时间的比较 采用大小一致且直径为 0.8 cm 左右的花蕾作为外植体,将采取的花蕾用洗衣粉溶液浸泡 5 min,再用自来水反复冲洗 30 min,75%的酒精溶液浸泡 30 s,然后分 2 个处理,①0.1% $HgCl_2$ 溶液处理 5 min;②0.1% $HgCl_2$ 溶液处理 10 min。之后用无菌水冲洗 4～6 次,用滤纸将花蕾表面水分吸干,备用。将经过 2 种灭菌时间处理后的花蕾剥去苞片及花瓣,留下花托,并将花托一分为二,花托朝下,花序朝上接种于 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基中,培养 1 个月,每 3 d 观察 1 次,记录试验结果。

1.2.2 花蕾大小对非洲菊诱导分化效果的比较 将直

## Study on the Technique of Tissue Culture and Rapid Propagation of *Aristolochia contorta* Bunge

SHAO Hong,SUN Rui,ZHANG Li-min,ZHANG Wei-dong,WANG Zhen

(College of Life Science,Jiamusi University,Jiamusi,Heilongjiang 154007)

**Abstract**:*Aristolochia contorta* Bunge was used as materials for rapid propagated by plant tissue culture technique,and the plant regeneration system was established. The results showed that the optimal explants for callus induction were leaves, the medium of MS+IBA 0.4 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L for callus induction was better;the optimal medium for differentiation of clumpy bud was MS+IBA 0.4 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L;the better medium for root induction was MS+IBA 0.4 mg/L+NAA 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L.

**Key words**: *Aristolochia contorta* Bunge;tissue culture;callus;clumpy bud



PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn