

# 桔梗花药愈伤组织诱导培养基筛选

赵丽莉<sup>1</sup>, 徐芳芳<sup>1</sup>, 荀 洋<sup>2</sup>, 依德萍<sup>1</sup>, 严 一字<sup>1</sup>

(1. 延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002; 2. 延边朝鲜族自治州种子管理站, 吉林 延吉 133001)

**摘 要:**以处于单核靠边期的桔梗花药为试材,以 MS 和  $N_6$  为基本培养基,研究了不同种类生长素和细胞分裂素对桔梗花药愈伤组织诱导效果的影响。结果表明:桔梗花药愈伤组织培养中以 MS 作为基本培养基时的诱导率和分化率都好于  $N_6$ ;以 6-BA 为细胞分裂素时的诱导率和分化率均好于 KT;以 2,4-D 为生长素时的愈伤组织诱导率和分化率均好于 NAA 和 IAA, NAA 又好于 IAA。故 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D 和  $N_6$ +1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D 为桔梗花药较理想的诱导培养基配方。

**关键词:**桔梗;花药;组织培养;诱导率;分化率

**中图分类号:**Q 949.783.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)01-0095-03

桔梗(*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC)属桔梗科桔梗属多年生直立草本植物,别名铃铛花、包袱花、道拉基(朝鲜语)等<sup>[1-2]</sup>。近代药理及临床医学研究表明,桔梗根有祛痰、镇咳、抗炎、降血压、降血糖、抗胆碱、抗过敏、抗肿瘤及提高免疫力等广泛的药理活性<sup>[3]</sup>。

桔梗是两性花,在自然状态下自交结实率低,主要靠异花授粉<sup>[4-6]</sup>。所以现在自然界中生长的桔梗群体的遗传基础是高度杂合的群体,这给桔梗的遗传研究和育种实践带来很多困难。通过花药培养或未授精的胚珠培养得到单倍体植株,再经染色体加倍得到纯系,已在很多植物中获得成功<sup>[7]</sup>。单倍体植株经染色体加倍后,在一个世代中即可出现纯合的二倍体,从中选出的优良纯合系后代不分离,表现整齐一致,可缩短育种年限。所以,诱导花药生成愈伤组织的培养基及分化成苗的分化培养基即成为关键。

该研究拟将 MS 和  $N_6$  作为基本培养基,配制 12 种不同激素种类和浓度的愈伤组织诱导培养基,以  $N_6$ +6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 为分化培养基,用单核靠边期的花药为外植体进行组织培养,以比较不同培养基种类及不同激素对桔梗花药愈伤组织诱导效果的影响,为今后筛选桔梗花药培养的最佳诱导培养基奠定基础。

**第一作者简介:**赵丽莉(1985-),女,吉林省吉林市人,硕士研究生,研究方向为作物遗传育种。E-mail:674050186@qq.com.

**责任作者:**严一字(1964-),女,黑龙江北安人,博士,副教授,现主要从事中药材桔梗的栽培和育种等研究工作。E-mail:yiziyanyahoo.com.cn.

**收稿日期:**2013-09-09

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试花药为桔梗资源“三成紫花”处于单核靠边期的花药,取自该课题组试验田种植的多年生桔梗。

### 1.2 试验方法

诱导培养基以 MS 和  $N_6$  为基本培养基,细胞分裂素类植物生长调节剂选用 6-BA 和 KT,生长素类植物生长调节剂选用 NAA、IAA 和 2,4-D。

接种时,用镊子将花蕾剥开,取出花药接种于三角瓶中。每个桔梗花中有 5 个花药,将每个花药切成两半接种于三角瓶中,每瓶接 5 个(2.5 个花药),每种处理接 15 瓶,共接 75 个。

## 2 结果与分析

### 2.1 基本培养基种类对桔梗花药愈伤组织诱导率及分化率的影响

由表 1 可知,以 MS 和  $N_6$  作为基本培养基时的平均诱导率和平均分化率差异不大。MS 和  $N_6$  分别与 1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA、1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D、1.0 mg/L KT+0.2 mg/L 2,4-D 等 3 种激素组合配制培养基上的愈伤组织诱导率和接种到分化培养基后的分化率均较高;MS 和  $N_6$  分别与 1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA、1.0 mg/L KT+0.2 mg/L IAA 等激素组合配制的培养基的愈伤组织诱导率和接种到分化培养基后的分化率,除了 MS 和  $N_6$  分别加 1.0 mg/L KT+0.2 mg/L IAA 的分化率均为 0.0%之外, $N_6$  均好于 MS;MS 和  $N_6$  分别与 1.0 mg/L KT+0.5 mg/L NAA 激素组合配制的培养基的愈伤组织诱导率是 MS 好于  $N_6$ ,而接种到分化培养基后的分化

率则是  $N_6$  好于 MS。综合分析诱导率和分化率的结果表明,在桔梗花药培养时以 MS 作为诱导培养的基本培养基的效果好于  $N_6$ 。

表 1 基本培养基种类对愈伤组织诱导率和分化率的影响

Table 1 Influence of basic medium on induction and differentiation rate

基本培养基	激素配比	诱导率 /%	分化率 /%	平均诱导率 /%	平均分化率 /%
MS	1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA	77.3	46.6	46.05	25.01
	1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA	13.3	0.0		
	1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D	97.3	56.2		
	1.0 mg/L KT+0.5 mg/L NAA	27.1	21.1		
	1.0 mg/L KT+0.2 mg/L IAA	0.0	0.0		
$N_6$	1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA	65.3	42.9	42.02	27.73
	1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA	37.3	25.0		
	1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D	93.3	50.0		
	1.0 mg/L KT+0.5 mg/L NAA	22.7	23.5		
	1.0 mg/L KT+0.2 mg/L IAA	4.0	0.0		
	1.0 mg/L KT+0.2 mg/L 2,4-D	28.6	25.0		

## 2.2 细胞分裂素种类对桔梗花药愈伤组织诱导率和分化率的影响

由表 2 可知,6-BA 和 KT 的平均诱导率分别为 63.66%和 22.18%,很显然 6-BA 高于 KT。转接到分化培养基后,6-BA 的愈伤组织平均分化率为 36.76%,也高于 KT 的 15.98%。因此,在桔梗花药组织培养时,以 6-BA 作为细胞分裂素的愈伤组织诱导率和分化率均好于 KT。

表 2 细胞分裂素种类对愈伤组织诱导率和分化率的影响

Table 2 Influence of cytokinin kinds on induction and differentiation rate

细胞分裂素种类	培养基配方	诱导率 /%	分化率 /%	平均诱导率 /%	平均分化率 /%
6-BA	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA	77.3	46.6	63.66	36.76
	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA	13.3	0.0		
	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D	97.3	56.2		
	$N_6$ +1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA	65.3	42.9		
	$N_6$ +1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA	37.3	25.0		
KT	$N_6$ +1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D	93.3	50.0		
	MS+1.0 mg/L KT+0.5 mg/L NAA	27.1	21.1	22.18	15.98
	MS+1.0 mg/L KT+0.2 mg/L IAA	0.0	0.0		
	MS+1.0 mg/L KT+0.2 mg/L 2,4-D	50.7	26.3		
	$N_6$ +1.0 mg/L KT+0.5 mg/L NAA	22.7	23.5		
	$N_6$ +1.0 mg/L KT+0.2 mg/L IAA	4.0	0.0		
	$N_6$ +1.0 mg/L KT+0.2 mg/L 2,4-D	28.6	25.0		

## 2.3 生长素种类对桔梗愈伤组织诱导率和分化率的影响

由表 3 可知,以 2,4-D、NAA、IAA 为生长素的愈伤组织平均诱导率分别为 67.48%、48.12%和 13.67%,即

2,4-D 的平均诱导率高于 NAA,IAA 最差。将上述培养基中得到的愈伤组织分别转接到分化培养基后,2,4-D、NAA、IAA 的平均分化率分别为 39.37%、33.5%和 6.26%。综上所述,在桔梗花药组织培养时,以 2,4-D 作为生长素的愈伤组织诱导率和分化率均好于 NAA 和 IAA,而 NAA 又好于 IAA。

表 3 生长素种类对愈伤组织诱导率和分化率的比较

Table 3 Influence of auxin kinds on induction and differentiation rate

生长素种类	培养基配方	诱导率 /%	分化率 /%	平均诱导率 /%	平均分化率 /%
NAA	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA	77.3	46.6	48.12	33.5
	MS+1.0 mg/L KT+0.5 mg/L NAA	27.1	21.1		
	$N_6$ +1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA	65.3	42.9		
IAA	$N_6$ +1.0 mg/L KT+0.5 mg/L NAA	22.7	23.5		
	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA	13.3	0.0	13.67	6.26
	MS+1.0 mg/L KT+0.2 mg/L IAA	0.0	0.0		
2,4-D	$N_6$ +1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA	37.3	25.0		
	$N_6$ +1.0 mg/L KT+0.2 mg/L IAA	4.0	0.0		
	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D	97.3	56.2	67.48	39.37
	MS+1.0 mg/L KT+0.2 mg/L 2,4-D	50.7	26.3		
	$N_6$ +1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D	93.3	50.0		
	$N_6$ +1.0 mg/L KT+0.2 mg/L 2,4-D	28.6	25.0		

综合分析上述结果可知,在 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D 培养基上,桔梗花药的愈伤组织诱导率最高,达到 97.3%;且转到分化培养基后的分化率也最高,为 56.2%;其次为  $N_6$ +1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D 培养基的愈伤组织诱导率也很高,达 93.3%,分化率为 50.0%。

## 3 讨论与结论

该试验结果表明,桔梗花药组织培养中 MS 作为基本培养基时的诱导率和分化率都好于  $N_6$ ;6-BA 为细胞分裂素时的诱导率和分化率均好于 KT;2,4-D 为生长素时的愈伤组织诱导率和分化率均好于 NAA 和 IAA, NAA 好于 IAA。桔梗花药组织培养较好的诱导培养基为 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D 和  $N_6$ +1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D。

在试验中同样发现 KT 与 IAA 组合诱导时很难诱导出愈伤组织,即使诱导出愈伤组织质量也很差,愈伤组织为暗黄色且生长缓慢,可能是因为二者之间的互作影响,也可能是因为在高压灭菌过程中使 IAA 活性降低,且 2,4-D 浓度高时是否会影响愈伤组织分化率等还有待进一步的研究。

## 参考文献

- [1] 中国药材公司. 中国常用中药材[M]. 北京:科学出版社,1995:421.
- [2] 刘德军. 中药材综合开发与利用[M]. 北京:中国中医药出版社,1998:156-158.

# 甘蓝胚状体诱导成苗因素研究

高海娜<sup>1</sup>, 王朝阳<sup>1</sup>, 张恩慧<sup>2</sup>

(1. 安康市农业科学研究所, 陕西 安康 725000; 2. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**以3个优良甘蓝品种为试材,进行了游离小孢子培养和胚状体植株再生技术研究,以期探讨不同甘蓝材料的基因型、胚状体类型、不定芽大小、烯效唑对不定芽诱导和生根的影响。结果表明:甘蓝子叶型胚容易发育单芽,鱼雷型胚和球型胚容易形成丛生芽;且单芽率和丛生芽率在不同基因型之间存在差异。高度大于2 cm的不定芽转接到生根培养基上后生长速度先慢后快,生根数少且细长;小于2 cm的不定芽生长速度先快后慢,生根数多且粗壮。小孢子不定芽在添加0.50 mg/L烯效唑的MS+0.3 mg/L NAA生根培养基中生根率最高且根系生长健壮,移栽成活率高达95.6%。

**关键词:**甘蓝;小孢子;子叶型胚;再生植株

**中图分类号:**S 635 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)01-0097-05

甘蓝游离小孢子培养技术是一种单倍体育种技术,是缩短甘蓝育种年限、培养甘蓝新品种资源、提高育种效率的一条有效途径;利用游离小孢子培养技术可使甘

蓝育种材料快速纯化,培养自交系无需连续自交,易克服自交衰退现象;培养一个纯系仅需1~2 a,能够极大地缩短新品种育种周期。甘蓝小孢子培养已经取得了很大进展,但是国内外研究主要关注于小孢子诱导胚胎发生频率,对于胚胎类型,胚胎成苗率的研究较少,且研究不够深入。甘蓝小孢子发育成健壮的子叶型胚,并且使胚状体直接、快速地生成再生植株是甘蓝双单倍体育种应用的重要环节,Fletcher等<sup>[1]</sup>用ABA处理3周龄以上的子叶型胚使得小孢子胚再生能力提高了50%,切除子

**第一作者简介:**高海娜(1988-),女,硕士,现主要从事蔬菜育种及栽培等研究工作。E-mail: danbai76@163.com.

**基金项目:**西北农林科技大学重点推广资助项目(XTG-2009-17, XTG-2010-18);国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2009BAD8B02)。

**收稿日期:**2013-09-16

[3] 赵淑春,刘德军,马维希. 桔梗[M]. 北京:中国中医药出版社,2001:1-5.

[4] 刘鸣远,付承新. 桔梗生物学的研究[J]. 植物研究,1985,5(1):71-80.

[5] 李今,邵锦霞. 药用植物桔梗的传粉效率与结实率研究[J]. 湖南师范大学自然科学报,2001,24(2):73-75.

[6] 魏建和,杨世林,李先恩,等. 桔梗不同种质的比较研究-桔梗的杂交及花色、种色的新类型分离[J]. 中草药,2002,33(3):455-458.

[7] 胡含,陈瑛. 植物体细胞遗传与作物改良[M]. 北京:北京大学出版社,1988:27-35.

## Screening of Callus Induction Medium of *Platycodon grandiflorum* Anther

ZHAO Li-li<sup>1</sup>, XU Fang-fang<sup>1</sup>, XUN Yang<sup>2</sup>, YI De-ping<sup>1</sup>, YAN Yi-zi<sup>1</sup>

(1. Agricultural College, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002; 2. Seed Management Station of Yanbian State, Yanji, Jilin 133001)

**Abstract:** Taking *Platycodon grandiflorum* anther in the late uninucleate stage as material, with MS and N<sub>6</sub> as basic medium, the effect of different kinds of cytokinin and auxin on callus induction were studied. The results showed that as the basic culture, MS was better than N<sub>6</sub> both in induction rate and differentiation rate in *Platycodon grandiflorum* anther tissue culture; as cytokinin, 6-BA was better than KT both in induction rate and differentiation rate; 2,4-D as the auxin, the induction rate and differentiation rate of callus were both better than NAA and IAA, NAA was better than IAA. In conclusion the better inducing medium in *Platycodon grandiflorum* anther tissue culture were MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D and N<sub>6</sub>+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D.

**Key words:** *Platycodon grandiflorum*; anther; tissue culture; induction rate; differentiation rate