

不同培养基条件对红景天花药愈伤组织生长量的影响

盖玉红¹, 魏 健²

(1. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118; 2. 长春师范大学 生命科学学院, 吉林 长春 130032)

摘要:为进一步开发利用红景天资源,以红景天花药诱导的愈伤组织为材料,研究了不同培养基、不同种类和浓度的生长素和细胞分裂素对花药愈伤组织生长量的影响。结果表明:培养基 MS 和 NB 对花药愈伤组织生长量的影响无显著差异;低浓度的生长素对红景天花药愈伤组织生长量有利,2,4-D 对愈伤组织生长的影响略高于 NAA。高浓度的 6-BA 利于在景天花药愈伤组织生长,在含有相同浓度 NAA 的培养基中,6-BA 比 KT 适合花药愈伤组织生长。

关键词:红景天花药愈伤组织;生长量;培养基;生长素;细胞分裂素

中图分类号:S567 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)04-0010-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.04.0010

自德国植物生理学家 Haberlandt^[1]提出细胞全能性理论以来,在无数科学家的努力下,植物组织培养经过近百年的发展历程后,该技术日趋完善和成熟^[2]。目前,植物组织培养技术已渗透到植物生理学、病理学、遗传学、育种学、药学以及生物化学等研究领域,成为生物学科中的重要研究技术和手段之一,推动了相关科学的迅速发展^[3]。

红景天(*Rhodiola sachalinensis* A. Bor)为景天科红景天属多年生草本植物,多生长在1 700 m 以上的岳桦林及高山苔原带的裸露岩石山上,生存环境恶劣^[4]。其有效成分——红景天甙和甙元酪醇是最主要的环境适应产物。红景天属植物全世界有 90 多种,其中野生高山红景天只有在前苏联阿尔泰山区及我国吉林省安图县、抚松县、长白山朝鲜族自治县有少量分布^[5]。红景天在传统中医中具有“固本扶正”之功效,具有抗缺氧、抗寒冷、抗疲劳、抗微波辐射等显著功能,防止老年疾病等功能,是一种适用于特殊地区开发的、具有很大发展前途的环境适应药物^[6]。

红景天组织培养经过了几十年的研究虽有很大的进展,但还满足不了红景天的进一步开发利用的需要。本研究是在红景天组织培养研究的基础上,分析了培养基条件对愈伤组织生长量的影

响,为植物组织培养的基因研究、性别分化研究以及单倍体育种提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为红景天花药诱导出的愈伤组织。

1.2 方法

1.2.1 不同生长素对红景天愈伤组织生长量的影响 以 MS 为基本培养基,加入生长素 NAA 和 2,4-D,细胞分裂素 6-BA。NAA 的浓度为 0.1、0.5 和 1.0 mg·L⁻¹ 三个水平,2,4-D 的浓度为 0.1 mg·L⁻¹;6-BA 的浓度为 1.0 和 2.0 mg·L⁻¹ 两个水平。培养基中蔗糖浓度为 30 g·L⁻¹,琼脂浓度为 7 g·L⁻¹,pH5.8。

1.2.2 不同细胞分裂素对红景天愈伤组织生长量的影响 以 MS 为基本培养基,加入生长素 NAA,细胞分裂素 6-BA 和 KT。NAA 的浓度设置为 0.1 和 1.0 mg·L⁻¹ 两个水平;6-BA 的浓度设置为 0.1、0.5、2.0 和 3.0 mg·L⁻¹ 四个水平。培养基中蔗糖浓度为 30 g·L⁻¹,琼脂浓度为 7 g·L⁻¹,pH5.8。

1.2.3 不同培养基对红景天愈伤组织生长量的影响 试验采用的培养基为 MS 和 NB 两种基本培养基,附加植物生长素 2,4-D 和 NAA,细胞分裂素 6-BA 和 KT。2,4-D 和 NAA 的浓度设置为 0.1 mg·L⁻¹,6-BA 和 KT 的浓度设置为 2.0 mg·L⁻¹。NB 培养基中蔗糖浓度为 20 g·L⁻¹,琼脂浓度为 7 g·L⁻¹,pH5.8,MS 培养基中蔗糖浓度为 30 g·L⁻¹,琼脂浓度为 7 g·L⁻¹,pH5.8。

1.2.4 计算愈伤组织增长量的方法 用继代第

收稿日期:2014-10-21

第一作者简介:盖玉红(1980-),女,吉林省东丰县人,博士,实验师,从事作物遗传育种研究。E-mail: gyh0214@qq.com。

通讯作者:魏健(1980-),男,博士,讲师,从事细胞遗传学研究。

一代的愈伤组织。每种处理的培养基 6 瓶,取大小均匀的愈伤组织,每瓶接种 3 块。每个处理 3 次重复。培养 30 d 后计算愈伤组织增长量,观察愈伤组织的形态。

愈伤组织初始接种的质量=接种后的培养基质量—原培养基质量

愈伤组织增长量=培养 30 d 后愈伤组织质量—愈伤组织初始接种的质量

表 1 生长素对红景天愈伤组织生长量的影响
Table 1 Effect of auxin high mountains rhodiola anther on callus growth

愈伤组织质地 Callus qulity	培养基 Medium	愈伤组织增长量/g Callus growth	愈伤组织大小/cm Callus size	愈伤组织颜色 Callus color
MS+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+1.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.5562	0.7573	黄绿色褐色	适中
MS+0.5 mg•L ⁻¹ NAA+1.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.2600	0.6314	黄绿色褐色	适中
MS+1.0 mg•L ⁻¹ NAA+1.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.1777	0.6314	黄绿色	适中
MS+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+2.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.2683	0.5678	黄褐色绿色	适中
MS+0.1 mg•L ⁻¹ 2,4-D+2.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.4615	0.6340	褐色黄绿色	适中

不同种类和不同浓度生长素组合的培养基在愈伤组织增长量和大小上均有一定的差异。在 6-BA 均为 1.0 mg•L⁻¹时,生长素 NAA 的三种浓度中,花药愈伤组织生长量表现有所不同,愈伤组织增长量大小为 0.1 mg•L⁻¹ NAA 的 > 0.5 mg•L⁻¹>1.0 mg•L⁻¹,愈伤组织大小变化顺序为 0.1 mg•L⁻¹ NAA 的 > 0.5 mg•L⁻¹ = 1.0 mg•L⁻¹,由此得出,在本试验设置的 NAA 浓度中,NAA 的浓度越低越有利于花药愈伤组织生长;在 6-BA 均为 2.0 mg•L⁻¹时,不同种类生

2 结果与分析
2.1 生长素对红景天愈伤组织生长量的影响
红景天愈伤组织在含有不同种类和不同浓度的生长素的培养基上,培养 30 d 后,愈伤组织质量都有一定程度的增加。5 种培养基中的红景天的愈伤组织增长量和愈伤组织大小的平均值见表 1。

素(NAA,2,4-D)对花药愈伤组织生长量的影响有差异,愈伤组织增长量和大小上 2,4-D 都略高于 NAA,但差异表现不明显差异。

2.2 细胞分裂素对红景天愈伤组织生长量的影响
红景天愈伤组织在含有不同种类和不同浓度的细胞分裂素的培养基上,培养 30 d 后,愈伤组织质量都有一定程度的增加。5 种培养基中的红景天的愈伤组织增长量和愈伤组织大小的平均值见表 2。

表 2 细胞分裂素对红景天愈伤组织生长量的影响
Table 2 Effect of cytokinins on alpine rhodiola anther on callus growth

愈伤组织质地 Callus qulity	培养基 Medium	愈伤组织增长量/g Callus growth	愈伤组织大小/cm Callus size	愈伤组织颜色 Callus color
MS+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+0.1 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.0826 cB	0.5812 bA	黄褐色	适中
MS+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+0.5 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.2650 bB	0.6632 abA	黄褐色	适中
MS+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+2.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.2367 bB	0.6789 abA	黄褐色绿色	适中
MS+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+2.0 mg•L ⁻¹ KT	0.1800 bcB	0.6500 abA	黄褐色	松散
MS+1.0 mg•L ⁻¹ NAA+3.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.5180 aA	0.7240 aA	黄褐色	适中

在含有不同种类和不同浓度细胞分裂素的培养基上高山红景天花药愈伤组织的生长量和大小表现有所不同。细胞分裂素 6-BA 的 3 种浓度中,花药愈伤组织生长量有差异,6-BA 浓度为 0.5 和 2.0 mg•L⁻¹的培养基上的愈伤组织生长量高于浓度低(0.1 mg•L⁻¹)的培养基上的愈伤组织生长量,而且愈伤组织增长量上有显著差异。当 NAA 和 6-BA 浓度均提高(分别为 1.0 和 3.0 mg•L⁻¹)时,愈伤组织增长量明显比 NAA 和 6-BA 浓度为 0.1

和 0.1、0.5、2.0 mg•L⁻¹时提高 2 倍左右。
细胞分裂素 6-BA 和 KT 对花药愈伤组织生长量的影响有一定差异,愈伤组织增长量上同等浓度的 6-BA>KT,愈伤组织大小同样是 6-BA>KT,由此得出,含有细胞分裂素 6-BA 的培养基比含有细胞分裂素 KT 有利于花药愈伤组织生长。细胞分裂素对愈伤组织颜色和质地也有一定的影响,即 6-BA 浓度较高时愈伤组织颜色表现绿色,但浓度再提高时又变成黄褐色。

2.3 基本培养基对红景天愈伤组织生长量的影响

红景天愈伤组织在以 MS 和 NB 为基本培养基的 6 种不同培养基上经过 30 d 的继代培养之后,愈伤组织重量都有一定程度的增加。6 种培养基中红景天的愈伤组织增长量和愈伤组织大小

的平均值见表 3。
培养基 MS 和 NB 上愈伤组织生长量有一定的差异,通过总体平均数的比较,MS 培养基上的愈伤组织生长量高于 NB 基本培养基上的愈伤组织生长量,但经方差分析,不表现显著性差异。

表 3 基本培养基对高山红景天花药愈伤组织生长量的影响

Table 3 Effect of basic medium to high mountain rhodiola on anther callus growth

愈伤组织质地 Callus qulity	培养基 Medium	愈伤组织增长量/g Callus growth	愈伤组织大小/cm Callus size	愈伤组织颜色 Callus color
MS+0.1 mg•L ⁻¹ 2,4-D+2.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.5615	0.7340	褐色	适中
MS+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+2.0 mg•L ⁻¹ KT	0.2384	0.6490	黄褐色	松散
MS+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+2.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.6827	0.8204	黄褐色绿色	坚硬
平均	0.4942 a	0.7345		
NB+0.1 mg•L ⁻¹ 2,4-D+2.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.5673	0.9818	黄绿色红褐色	坚硬
NB+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+2.0 mg•L ⁻¹ KT	0.1005	0.5772	红褐色	适中
NB+0.1 mg•L ⁻¹ NAA+2.0 mg•L ⁻¹ 6-BA	0.3021	0.7930	绿色黄褐色	适中
平均	0.3233 a	0.7840		

3 结论与讨论

本研究结果表明,生长素 NAA 的不同浓度对红景天花药愈伤组织生长量影响不大,不同种类生长素 2,4-D 和 NAA 中,2,4-D 比 NAA 愈伤组织生长量略高。在细胞分裂素 6-BA 浓度高时比低时愈伤组织生长量高,生长素和细胞分裂素均提高时,愈伤组织生长量明显增加;相同 NAA 浓度不同细胞分裂素条件下,含有 6-BA 的培养基比含有 KT 的培养基适合花药愈伤组织生长。MS 和 NB 两种基本培养基对高山红景天花药愈伤组织生长无显著影响。

植物性别的产生是植物在漫长的进化过程中,随着植物的形态、结构和机能适应自然环境变化和发展,特别是随着繁殖方式的演变而产生的^[7],不同性别植物具有不同的经济价值^[8]。沙棘属植物雄株生长势较雌株好,适用于防护林的栽培,而其果实富含多种营养成分,可作为保健品开发利用^[9]。因此,以营养器官为收获对象时,雄株应用比较多,以果实及种子为收获对象时,就应大量生产雌株^[10]。

花药培养的目的主要有获得纯系育种材料和进行单倍体育种,以利用杂种优势^[11];用所获得的纯合二倍体材料进行遗传变异规律研究,减少育种的盲目性^[12];克服远缘杂种的不育性,获得具有双亲优良特性的可育远缘杂种^[13]。花培育种已与常规杂交育种、远缘杂交育种、诱变育种以及转基因技术结合,现已成为生物技术农作物

育种中应用最广泛、最有成效的方法之一^[14]。
花药培养是一种特殊的性器官离体培养,所以比一般的组织培养技术要求高,花药培养的难度较大,到目前为止很多植物的花药培养研究处于空白的状态。因此本研究采用的花药愈伤组织材料非常珍贵,而对愈伤组织研究中,只分析愈伤组织增长量和大小,其细胞的倍数性以及内在的特性今后有必要进一步研究。

参考文献:

[1] Haberlandt G. Experiments on the culture of isolated plant cells[J]. Plant Cell and Tissue Cultures,1902,2:68-88.
[2] 盛玉婷. 植物组织培养技术及应用进展[J]. 安徽农业通报, 2008,14(9):45-47.
[3] 赵丽君,王雪芳,张金林,等. 植物组织培养及其在草类植物中的研究和应用[J]. 草业科学,2011,28(6):1140-1148.
[4] 张萍,申家恒. 高山红景天胚胎学研究[J]. 植物研究, 1998(1):38-44.
[5] 吴维春,等. 长白山珍贵药用植物高山红景天[M]. 长春:吉林科学技术出版社,1987:45-46.
[6] 许建峰,应佩青,苏志国. 高山红景天资源应用与开发研究进展[J]. 中草药,1998(3):202-204.
[7] 孔祥海. 植物性别及其决定的分子生物学研究进展[J]. 龙岩师专学报,2002,20(3):40-42.
[8] 李瑞丽,卢龙斗,高武军,等. 雌雄异株植物性别鉴定的研究进展[J]. 广西植物,2006,26(4):387-391.
[9] 董莉娜,孙坤,苏雪,等. 与棱果沙棘性别相关的 RAPD 标记[J]. 植物研究,2007,27(1):73-76.
[10] 李守岭,庄南生. 植物花药培养及其影响因素研究进展[J]. 亚热带植物科学,2006,35(3):76-80.
[11] 张绿萍,陈红. 园艺植物花药培养研究进展[J]. 安徽农业科学,2007,35(17):5140-5142.

(下转第 37 页)

并对检疫和处理的有效性进行评估,保证对出口蝴蝶兰疫情的有效防控和提高产品质量安全水平。

参考文献:

- [1] 褚晓玲,杨波. 蝴蝶兰软腐病中一种新致病菌的分离与鉴定[J]. 植物病理学报,2010,40(1): 90-94.
- [2] 游春平,施祖荣,向梅梅,等. 蝴蝶兰褐斑病原鉴定[J]. 广东农业科学,2012(19):71-72,80.
- [3] 李娜. 温室蝴蝶兰的常见病虫害及防治措施[J]. 北方园艺,2009(3):205-207.

- [4] 陈爱华. 蝴蝶兰主要病害的发生与防治[J]. 福建热作科技,2003,28(4):21-23.
- [5] 程晓菲,董家红,方琦,等. 从云南蝴蝶兰上检测到番茄斑萎病毒属病毒[J]. 植物病理学报,2008,38(1):31-34.
- [6] 郑元仙,李永忠,刘雅婷,等. 云南省蝴蝶兰上凤仙花坏死斑病毒的鉴定[J]. 园艺学报,2010,37(2):313-318.
- [7] 魏霜,袁俊杰,程文杰,等. 兰花的分子标记研究进展[J]. 检验检疫学刊,2014,24(2):73-76.
- [8] 程东美,张志祥,许佩钗,等. 灭蝇胺对蝴蝶兰迟眼蕈蚊幼虫的生物活性[J]. 江西农业大学学报,2013,35(5):924-928.

Study on the Control and Quarantine Measures of Pest for *Phalaenopsis*

HUANG Jin-yan¹, XU Wei-xiong¹, LI Xiao-jian¹, WU Yu-nan¹, HONG Sheng-biao², WU Jian-guang¹, LIN Sheng-cai¹

(1. Shantou Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Shantou, Guangdong 515558; 2. Shantou Agricultural Science Research Institute, Shantou, Guangdong 515041)

Abstract: Plant diseases and insect pests of *Phalaenopsis* are concerned by export, in order to ensure the effective prevention and improve the quality and safety level for product, prevention measures were discussed for the export of *Phalaenopsis*. Breeding, cultivation environment, prevention control and export quarantine measures were all analyzed. These include the isolated planting conditions for *Phalaenopsis*; the pesticides process for greenhouse, seedlings and medium before planting; the fertilizer management, temperature and humidity control, the epidemic surveillance and control during cultivation; and the quarantine measures during export, such as root soaking, fumigation or fresh and safe cultivated medium replacement etc. All these measures were effective to prevent and control the epidemic of *Phalaenopsis* for export and improved the product quality and safety standards.

Keywords: *Phalaenopsis*; pest; plant disease; control and quarantine measures

(该文作者还有鄞杰平,单位同第一作者)

(Authors include YIN Jie-ping in the same bureau with the first author)

(上接第 12 页)

- [12] 张冰玉,苏晓华,周祥明,等. 林木花药培养研究进展及展望[J]. 植物学通报,2003,20(6):656-663.

- [13] 王延玲,丰震,赵兰勇. 植物花药培养研究进展[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2006,37(1):149-151.

Effect of Different Culture Medium on the Plant Tissue Growth of *Rhodiola sachalinensis* Anther Callus

GAI Yu-hong¹, WEI Jian²

(1. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 2. School of Life Science, Changchun Normal University, Changchun, Jilin 130032)

Abstract: In order to further develop and utilize the resource of *Rhodiola sachalinensis*, taking its callus induction anther as materials, the effect of different medium, different type and concentration of plant hormone and cytokin on anther callus growth were studied. The results showed that on anther callus growth had no significant difference, the lower concentration of IAA could promote the growth of anther callus, and the effect of 2,4-D was higher than that of NAA. The higher concentration of 6-BA could promote the growth of anther callus. With the same basal medium, 6-BA was more suitable for the growth of anther callus than KT.

Keywords: *Rhodiola sachalinensis* anther callus; growth; medium; auxin; cytokinins