

灯盏花组培快繁与植株再生

林丽飞¹, 陶发清², 胡先奇^{3*}, 金秋¹, 吴丹¹, 白学贵¹, 熊力军¹ (1 云南红河学院生物系, 云南蒙自 661100 2 中国科学院昆明植物研究所, 云南昆明 650204 3 云南农业大学 云南省植物病理重点实验室, 云南昆明 650201)

摘要 [目的] 建立较为系统的灯盏花组培体系, 培育、壮大和发展灯盏花这一独具特色和优势的产业。[方法] 以灯盏花 (*Erigeron breviscapus*) 的叶片为外植体, 用不同浓度的激素 6-BA、2, 4-D、KT 和 NAA 对其进行愈伤组织的诱导和再生植株的研究。[结果] 诱导愈伤组织最佳的培养基是 MS + KT 0.5 mg/L + 2, 4-D 10 mg/L 和 MS + 2, 4-D 0.5 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L, 诱导率为 100%; 二者相比, 前者长出的愈伤组织较为紧密, 而后者松散性好; MS + 6-BA 0.5 mg/L + 10% 香蕉汁是诱导芽最佳的培养基, 达 87%; 加入 0.3 mg/L NAA 的 1/2MS 培养基对生根最有利, 生根率达 83%。[结论] 生长素与细胞分裂素的合理配比有利于快速构建灯盏花培养体系。

关键词 灯盏花; 叶片; 组织培养; 植株再生

中图分类号 S336 **文献标识码** A **文章编号** 0517- 6611(2009)04- 01580- 02

Rapid Propagation and Plant Regeneration of *Erigeron breviscapus* (Vaniot) Hand 2Mazz

LIN Liefei et al (Department of Biology, Honghe University, Mengzi, Yunnan 661100)

Abstract [Objective] To establish a systematic mechanism of *Erigeron breviscapus* tissue culture for culturing, strengthening and developing an advantageous industry with unique characteristics. [Method] The leaves of *Erigeron breviscapus* were used as explants to induce callus buds and become to plant regeneration in different optimal medium. [Result] MS + KT 0.5 mg/L + 2, 4-D 10 mg/L and MS + 2, 4-D 0.5 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L were best to induce callus comparatively, the latter was better than the former. The optimal medium for bud differentiation was MS + 6-BA 0.5 mg/L + 10% banana and differentiation rate was 87%. And that 1/2MS with 0.3 mg/L NAA was suitable for rooting and the rooting rate was 83%. [Conclusion] Rational ratio of auxin and cytokinin was favorable for quickly establishing a systematic mechanism of *Erigeron breviscapus* culture.

Key words *Erigeron breviscapus*; Sterile leaves; Tissue culture; Plant regeneration

灯盏花 [*Erigeron breviscapus* (Vaniot) Hand 2Mazz], 属菊科 (Compositae) 飞蓬属 (*Erigeron*) 植物, 产于湖南、广西、贵州、四川、云南、西藏等省区, 常见于海拔 1 200~ 3 500 m 的中山和亚高山开阔山坡、草地、林缘^[1], 是一种民间常用药用植物^[2]。始载于《滇南本草》, 临床主要用于治疗高血压、脑栓塞、多发性神经炎、慢性蛛网膜炎等脑血管意外所致的瘫痪症, 总有效率为 951%^[3], 被列为云南重点培育的五大特色云药之一。灯盏花是一种具有重要经济价值的药用植物, 20 多年来, 野生灯盏花被大量采挖, 资源不足成为制约灯盏花药业发展的瓶颈^[4]。灯盏花有性繁殖效率低, 其种子形成数量虽然很多, 但种子瘦小、瘪粒多, 不能满足大面积药材栽培对种苗的需求, 目前对灯盏花的研究大多数仅限于它的药用价值及病害方面的研究^[5], 对其组培的系统研究报道甚少^[6]。笔者以植株幼叶为外植体, 对不同激素及其浓度对灯盏花愈伤组织、继代增殖和芽的分化及生根培养等方面进行了系统的研究, 对建立较为系统的灯盏花组培体系, 培育、壮大和发展灯盏花这一独具特色和优势的产业具有重要的理论价值和实际应用前景。

1 材料与方 法

1.1 材料 灯盏花, 学名短葶飞蓬 [*Erigeron breviscapus* (Vaniot) Hand 2Mazz]。取灯盏花叶片。

1.2 培养方 法 ① 诱导愈伤组织培养基: MS + KT (0.15, 11.0, 31.0) + 2, 4-D (11.0, 51.0, 101.0); ② MS + 2, 4-D (0.15, 11.0, 115.21.0) + 6-BA (0.11, 0.12, 0.15); ③ MS + 6-BA 0.15 + NAA (0, 0.11, 0.12, 0.15); ④ 增殖培养基: MS + 2, 4-D 51.0 + KT 0.15 + 10% 香蕉汁 + 0.1% 活性炭; ⑤ 分化培养基: MS + 6-BA 0.15 +

IBA (0.011, 0.13, 0.15) + 10% 香蕉汁; ⑥ 生根培养基: 1/2MS + NAA (0.11, 0.12, 0.13, 0.14, 0.15)。上述培养基激素的浓度单位均为 mg/L, 均添加 21% 蔗糖、0.16% 琼脂, pH 5.8, 培养温度 25℃, 光照度 2 000 lx, 光照时间 16 h/d。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导 取灯盏花幼嫩叶片, 表面冲洗干净, 切成 1~ 2 cm² 的小块放入 70% 的酒精中消毒 30 s, 用 0.1% 的 HgCl₂ 溶液浸泡 3 min, 无菌水冲洗 3 次, 然后接种到培养基 1~ ⑥ 中暗培养, 每瓶接种 30 个外植体。培养 8 d 后, 叶片呈不同程度的变厚卷曲膨大, 逐渐长出淡绿色颗粒状的愈伤组织, 14 d 出现大量的愈伤组织 (图 1)。其中 MS + KT 0.15 mg/L + 2, 4-D 10 mg/L、MS + 2, 4-D 0.15 mg/L + 6-BA 0.15 mg/L 及 MS + 6-BA 0.15 mg/L + NAA 0.1 mg/L 诱导愈伤组织的出愈率均为 100%, 但是以 MS + 6-BA 0.15 mg/L + NAA 0.11 mg/L 生长势最好。



图 1 灯盏花愈伤组织

Fig 1 *Erigeron breviscapus* callus

2.2 芽的分化 待叶片边缘长出绿色的愈伤组织时, 切取并转入培养基 ④ 中进行增殖培养, 10 d 为 1 个继代周期, 继代 3~ 4 次。选取生长较好的愈伤组织接种到培养基 ⑤ 上分化培养, 放入光照培养室培养。愈伤组织在分化培养基上培

基金项目 云南省自然科学基金 (2003C0044M); 红河学院硕士专项课题 (XSZ05030)。

作者简介 林丽飞 (1978-), 女, 云南建水人, 讲师, 从事植物细胞工程的科学与科研工作。* 通讯作者。

收稿日期 2008-11-21

养 12 d 即可观察到愈伤组织的体积明显增大, 25 d 愈伤组织表层变绿且有小芽点长出, 30 d 有浅绿色的子叶出现, 40 d 后大量叶子从芽丛中生长形成无根苗丛(图 2)。在诱导芽的分化过程中, 以 MS+ 62BA 0.15 mg/L 产生的芽最多。



图 2 灯盏花无菌苗

Fig 2 *Erigeron breviscapus* sterile leaves

2.3 根的形成 将不定芽转接在生根培养基中, 进行生根培养。6 d 后有根原基生成(愈伤突起, 表面附有少量白色小绒毛)。经 2 次继代, 18 d 后无根苗下的愈伤片上布满大量根原基并有大量的根生成。根的生长速度为 0.14 mm/d。其中生根最好的激素配比为 1/2MS+ NAA 0.13 mg/L, 诱导生根率达 83% 以上(图 3)。



图 3 灯盏花生根培养

Fig 3 *Erigeron breviscapus* rootage culture

2.4 炼苗及移栽 当大部分苗根长 2 cm 以上时, 打开瓶盖, 炼苗 3~5 d 用镊子将苗轻轻夹出, 用清水洗去基部残留的培养基, 栽于腐殖土珍珠岩蛭石(2:1:1)的基质中, 保持 80%~85% 湿度, 成活率达 95% 以上(图 4)。

3 结论

以灯盏花(*Erigeron breviscapus*)的叶片为外植体, 用不同

浓度的激素 62BA、2,4-D、KT 和 NAA 对其进行愈伤组织的诱



图 4 灯盏花植株

Fig 4 *Erigeron breviscapus* plant

导和再生植株的研究。结果表明, 诱导愈伤组织最佳的培养基是 MS+ KT 0.5 mg/L + 2,4-D 10 mg/L 和 MS + 2,4-D 0.15 mg/L + 62BA 0.15 mg/L, 诱导率为 100%; 二者相比, 前者长出的愈伤组织较为紧密, 而后者松散性好; MS+ 62BA 0.15 mg/L + 10% 香蕉汁是诱导芽最佳的培养基, 达 87%; 加入 0.13 mg/L NAA 的 1/2MS 培养基对生根最有利, 达 83%。试验表明, 生长素与细胞分裂素的合理配比有利于快速构建灯盏花培养体系。

参考文献

- [1] 林容, 陈艺林. 中国植物志, 菊科(一)(第 74 卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1985 308-309
- [2] 兰茂. 滇南本草(第二卷)[M]. 昆明: 云南人民出版社, 1977 300-302
- [3] 张卫东, 陈万生, 孔德云, 等. 灯盏细辛化学成分的研究[J]. 中国药理学杂志, 2000 35(8): 514-516
- [4] 愈宏渊, 陈宗莲. 灯盏细辛的家化栽培[J]. 云南植物研究, 2002 24(3): 115-120
- [5] 林丽飞, 胡先奇, 江楠. 短葶飞蓬锈病的初步研究[J]. 华中农业大学学报, 2004 23(5): 513-514
- [6] 谢庆华, 吴毅歆. 灯盏花茎段的离体培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2004 40(4): 467
- [7] 杨生超, 杨志孝, 张乔芹, 等. 灯盏花种植技术初探[J]. 中草药, 2004 35(3): 318-321
- [8] LI Y M, JIANG Y T, SUN Z H. Uniform design for optimizing regeneration shoots directly from tender leaves and plant regeneration system of *Rhododendron chrysanthum* Pall [J]. Agricultural Science & Technology 2008 9(6): 31-34
- [9] 刘成洪, 张孟魁, 邓华, 等. 灯盏花快速繁殖体系的建立[J]. 中草药, 2005 36(4): 597-599
- [10] JIANG Q, DONG L, NING Z Y, et al. Establishment of somatic cell clones in *Thesium chinense* Turcz and its in vitro rooting technique [J]. Agricultural Science & Technology 2008 9(5): 47-49, 62

(上接第 1550 页)

率之内才能增强免疫系统功能^[4]。/黄芪对脾的调节是有节制的^[5]观点是一致的。

参考文献

- [1] 郭晓清, 唐莉苹. 黄芪多糖在鸡病防治中的应用[J]. 中国兽药杂志, 2005 39(1): 45-48
- [2] 徐龙, 钟平华, 骆延波, 等. 兽用天然药物超微粉在畜禽养殖业中开发

应用及发展趋势[J]. 中国禽业导刊, 2002 19(21): 30-31

- [3] 郝征红, 张炳文. 超微细胞破壁粉碎技术在兽用中药开发中的应用[J]. 兽药与饲料添加剂, 2002 7(5): 28-30
- [4] 李诺. 黄芪提取物对鸡生长发育及免疫功能的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2004
- [5] 姜国均, 周帮会, 马清河, 等. 黄芪的免疫增强作用及在鸡病防治中的应用[J]. 中国家禽, 2005 27(22): 43-46