

黎海利,谭飞理,刘锴栋,等. 聚花过路黄的组织培养和快速繁殖[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):51-53.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.014

聚花过路黄的组织培养和快速繁殖

黎海利,谭飞理,刘锴栋,成夏岚

(岭南师范学院生命科学与技术学院,广东湛江 524048)

摘要:为建立聚花过路黄(*Lysimachia congestiflora* Hemsl)的组织快繁技术体系,以 MS 为基本培养基,研究不同浓度组合 6-BA、NAA 对不同外植体进行愈伤组织诱导、不定芽分化、增殖、生根的影响,筛选出适合聚花过路黄的最适外植体、培养基。结果表明,聚花过路黄最佳的愈伤组织及不定芽诱导培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L,最佳外植体为顶芽,其次为带芽茎段。聚花过路黄在 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 培养基中增殖倍数最高,增殖倍数达 12.76,生长速度较快。聚花过路黄在 1/2MS 培养基上生根率达 100%。

关键词:聚花过路黄;组织培养;快速繁殖

中图分类号: Q945.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2015)06-0051-03

聚花过路黄(*Lysimachia congestiflora* Hemsl)别称临时救、黄花珠、九莲灯、大疮药、爬地黄等,为报春花科珍珠菜属多年生草本,主要分布于我国长江以南各省及陕西省、甘肃省南部地区、中国台湾,集药用、观赏、经济价值于一体^[1]。聚花过路黄植株低矮,茎下部匍匐,节上生根,覆盖力强,叶沿中脉、侧脉有紫红色斑纹,花 2~4 朵集生茎段或枝端,形成近头状的总状花序,花色艳丽,花冠内面基部紫红色,花期 4—6 月,是优良的地被植物。聚花过路黄全草入药,目前国内外关于聚花过路黄的研究多集中于对其化学成分及药用价值等方面^[2-7]。聚花过路黄花叶俱美,最适宜作为地被植物,但在城市绿地中应用较少,多处于野生状态。笔者对聚花过路黄进

行组织培养研究,旨在为聚花过路黄的园林推广、种苗工厂化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

聚花过路黄于 2011 年 7 月采自广西壮族自治区贺州市姑婆山(24°34'N,111°32'E,海拔 568.3 m),引种成功后栽植于岭南师范学院生物园。

1.2 方法

1.2.1 无菌材料的获得及消毒处理 于晴天中午取生长期健康、无病虫害的聚花过路黄外植体,分别为顶芽、带芽茎段、叶片,外植体长度为 2~3 cm,用洗洁精漂洗外植体 10 min 左右,再用自来水冲洗 0.5~1.0 h,浸泡于无菌水中待用。将外植体用 70% 乙醇处理 15 s,然后用无菌水清洗 4~5 次,用 HgCl₂ 浸泡 6 min,最后用无菌水冲洗 6 次。处理后的外植体剪掉两头茎段,避免 HgCl₂ 渗入而影响营养吸收。

1.2.2 诱导培养基 基本培养基为 MS 培养基。将处理好的外植体分别接种于 3 种添加不同植物激素的 MS 诱导培养基上,诱导培养基配方分别为: M1, MS + 6-BA 0.5 mg/L +

收稿日期:2014-11-28

基金项目:国家星火计划(编号:2013GA780093);广东省湛江市热带特色资源植物技术开发重点实验室项目(编号:2014A06008);岭南师范学院博士启动项目(编号:ZL09011)。

作者简介:黎海利(1981—),女,黎族,广西宜州人,博士,讲师,研究方向为园林植物及园艺。E-mail:lihaili2425@126.com。

通信作者:刘锴栋,博士,副研究员,研究方向为园林植物及园艺。E-mail:liukaidong2001@126.com。

比的 2,4-D 和 6-BA 可以诱导苜蓿叶片产生大量的愈伤组织。2,4-D 和 6-BA 的浓度分别控制在 1.0 mg/L 和 0.5 mg/L 左右时有利于愈伤组织的诱导和继代培养,2,4-D 的浓度过高不利于愈伤组织的再分化。但是愈伤组织的不定芽的分化率和激素的浓度不呈正相关,如胡静等^[6]和伊风艳等^[7]研究发现,甘农 2 号杂化苜蓿和黄花苜蓿的最佳的芽分化培养基均为 MS + 0.5 mg/L KT 和 0.1 mg/L NAA。在本试验中发现在愈伤组织芽的分化中,可以配合添加一定浓度 NAA 和 KT,NAA 的浓度为 0.1~0.5 mg/L,KT 浓度为 0.5~1.5 mg/L 时,均有不定芽的分化,其中以 0.5 mg/L NAA 和 1.5 mg/L KT 组合下愈伤组织不定芽的分化率最高。

参考文献:

[1]李望丰,吕德扬,刘艳芝,等. 诱导苜蓿胚性愈伤组织分化和再生

[J]. 吉林农业科学,2002,27(2):15-16,21.

[2]王庭辉,马晖玲. 和田苜蓿组织培养中玻璃化现象研究[J]. 草原与草坪,2012,32(5):58-61,66.

[3]霍云谦. 甘草愈伤组织诱导及体细胞胚的发生[D]. 保定:河北农业大学,2005.

[4]杜希华,孙秀玲,郝岗平,等. 不同外植体和激素对银杏愈伤组织诱导和生长的影响[J]. 山东师范大学学报:自然科学版,2008,23(1):129-133.

[5]朱苏文,马庆,刘康武. 植物激素对大岩桐愈伤组织诱导和芽分化增殖的影响[J]. 激光生物学报,2006,15(4):394-398.

[6]胡静,马晖玲,谢俊仁. 甘农 2 号杂化苜蓿愈伤组织诱导及体细胞胚和芽分化的研究[J]. 甘肃农业大学学报,2007,42(4):87-91.

[7]伊风艳,石凤翎,展春芳,等. 黄花苜蓿愈伤组织诱导及分化培养条件的研究[J]. 中国草地学报,2011,33(6):14-20.

NAA 0.1 mg/L; M2, MS + 6-BA 0.75 mg/L + NAA 0.25 mg/L; M3, MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L。20 d 后统计聚花过路黄不同外植体的诱导率及出芽情况。

1.2.3 增殖培养基的筛选 聚花过路黄增殖培养以 MS 为基本培养基,添加不同浓度的 6-BA、NAA 进行正交试验,每个因素设计 3 个浓度梯度,其中 6-BA 浓度分别为 0.5、1.0、1.5 mg/L, NAA 浓度分别为 0.1、0.2、0.3 mg/L。以不添加任何激素的 MS 培养基为对照培养基,增殖培养 30 d 后统计增殖率。光照度为 2 000 lx,光照时间 16 h,培养温度为 25 ℃。

1.2.4 聚花过路黄生根的培养 生根培养基为 1/2MS 培养基,30 d 后统计生根率。光照度为 2 000 lx,光照时间 16 h,培养温度为 25 ℃。增殖倍数计算公式如下:

增殖倍数 = 诱导出的丛生芽中长度大于 0.5 cm 的芽数/分化的总芽数。

1.3 数据统计

用 SPSS 19.0 软件统计分析数据。

2 结果与分析

2.1 不同外植体的不定芽诱导情况

3 种诱导培养基中,聚花过路黄的带芽茎段、叶片很快产生愈伤组织(图 1),进而分化形成不定芽,顶芽可直接分化形成不定芽(图 2)。由表 1 可见,顶芽的诱导率最高,平均值达 71.1%,平均每个外植体产生不定芽数最多,平均达 2.8 个;其次为茎段外植体,不定芽诱导率为 50%,平均每个外植体不定芽数为 2.7 个;叶片的诱导率最低, M2、M3 培养基中叶片外植体诱导率为 0。3 种培养基中,MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基诱导率最高,外植体产生的不定芽数较多,

为愈伤组织最佳诱导培养基。最适合聚花过路黄进行组织培养的外植体为顶芽,其次为带芽茎段,最适宜诱导产生不定芽的培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L。



图1 聚花过路黄组织培养中产生大量的愈伤组织



图2 聚花过路黄顶芽的诱导培养

表 1 聚花过路黄不同外植体不定芽诱导培养情况

培养基	顶芽			茎段			叶片		
	接种数 (个)	诱导率 (%)	平均每个外植体 不定芽数(个)	接种数 (个)	诱导率 (%)	平均每个外植体 不定芽数(个)	接种数 (个)	诱导率 (%)	平均每个外植体 不定芽数(个)
M1	36	80.0	3.5	36	50.0	2.0	36	10	1
M2	36	66.7	3.0	36	33.0	3.0	36	0	0
M3	36	66.7	2.0	36	66.7	3.0	36	0	0
平均值		71.1	2.8		50.00	2.7		3.33	0.33

2.2 聚花过路黄的增殖培养

不定芽增殖培养 30 d 后,统计不定芽增殖倍数及生长情况。结果(表 2)表明,聚花过路黄在不添加任何激素的 MS 培养基中也能进行增殖,但增殖倍数低于添加生长调节剂的培养基,不添加任何激素的 MS 培养基中,平均增殖倍数仅为 3.0,9 个处理的平均增殖倍数达 7.44。不添加任何激素的对照培养基平均增殖倍数明显低于添加不同浓度激素的培养基。不同的增殖培养基中,6-BA 1.0 mg/L 与 NAA 0.2 mg/L 组合增殖倍数最高,芽体生长速度较快。随着 6-BA 浓度的增加,聚花过路黄的增殖倍数呈递减趋势,说明 6-BA 浓度过高对聚花过路黄增殖产生抑制作用,但芽体总体表现较壮实。最适合聚花过路黄增殖的培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L。

2.3 生根与移栽

不定芽接入生根培养基约 1 周后开始生根,10 ~ 12 d 不定根大量发生,30 d 后统计生根情况。结果表明,聚花过路

黄生根容易,生根率达 100%。将生根植株炼苗后栽于基质中,成活率达 100%。疏松的园土较沙:土 = 1 : 1、沙土、珍珠岩的基质好,植物生长速度快,植株壮实,适合作为移栽后的培养基。

3 结论与讨论

本研究结果表明,3 种不定芽诱导培养基中,聚花过路黄很快产生愈伤组织,进而分化形成不定芽,顶芽可直接分化形成不定芽。MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基诱导率最高,表明一定浓度的生长素(NAA)可促进外植体分化,较高浓度的 6-BA 与 NAA 组合诱导率较低,这与前人研究结果^[8-10]一致。植物组织培养中,一定质量浓度的生长素利于诱导外植体脱分化并促进愈合组织生长,生长激素浓度过低或过高均不利于外植体的脱分化、再分化。诱导培养过程中,愈伤组织上可直接形成不定根,这与王艳等的研究结论^[11]基本一致,说明同一科属的植物在不定根形成过程中原

表 2 不同培养基对聚花过路黄增殖培养的影响

培养基	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	接种数 (个)	增殖倍数	不定芽生长情况
1	0.5	0.1	48	3.50Ef	生长较快,植株粗细不均,弱
2	0.5	0.2	48	5.84De	生长快,瘦弱
3	0.5	0.3	48	8.06BCc	生长较快,瘦弱
4	1.0	0.1	48	9.00Bb	生长较快,瘦弱
5	1.0	0.2	48	12.76Aa	生长快,植株均匀,芽体中等
6	1.0	0.3	48	7.76Ccd	生长较快,瘦弱
7	1.5	0.1	48	7.56Ccd	生长慢,壮实
8	1.5	0.2	48	5.36De	生长较慢,壮实
9	1.5	0.3	48	7.12Cd	生长较慢,壮实
对照	0	0	48	3.00Ef	生长较慢,壮实
平均			48	3.50	

注:同列数据后不同大写、小写字母表示差异极显著($P<0.01$)、显著($P<0.05$)。

理相似。细胞分裂素可以促进丛生芽增殖,不定芽增殖过程中单一使用细胞分裂素,不定芽增殖倍数普遍较低,与低浓度(0.5 mg/L)的 NAA 配合使用时,随着 6-BA 浓度的增加,增殖倍数也随之增加;与较高浓度的 NAA(1.0 mg/L)配合使用时,不定芽增殖倍数随 6-BA 浓度的升高而降低^[11-13]。聚花过路黄在不添加任何激素的培养基中增殖倍数最低,在 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基中增殖倍数最高,生长较快。王艳等认为,过路黄带芽茎段在不附加任何激素的 MS 培养基上即可成活,但是增殖率没有添加一定浓度的 6-BA、NAA 的培养基高,NAA 能有效诱导芽分化,促进侧芽萌发生长^[11]。因此,聚花过路黄在不定芽增殖过程中,6-BA 与 NAA 存在交互作用。目前国内外对聚花过路黄同属内组织培养及植株再生的报道较少^[14],对属内种质资源及亲缘关系研究较多^[15-17]。本研究成功建立了聚花过路黄的组织培养及植株再生技术体系,为聚花过路黄的种苗生产提供了技术支持,对聚花过路黄的园林应用、种质资源保护、离体保存具有重要意义。

参考文献:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第 59 卷第 1 分册[M]. 北京:科学出版社,1989:83.

[2] Guo J, Yu D L, Xu L Z, et al. Flavonol glycosides from *Lysimachia congestiflora*[J]. *Phytochemistry*,1998,48(8):1445-1447.

[3] Zheng W, Liu X Q, Chen L Q. *Lysimachia congestiflora* ‘Zidie’: an ornamental plant with fancy leaves[J]. *Hort Science*,2009,44(6):1771-1772.

[4] Zheng W, Xu X D, Chen L Q. *Lysimachia congestiflora* ‘Zimai’: an ornamental plant with purple-veined leaves[J]. *Hort Science*, 2010,45(10):1549-1551.

[5] Zhang D, Armitage A M, Affolter J M, et al. Environmental-control of flowering and growth of *Lysimachia congestiflora* hemsl[J]. *Hort Science*,1995,30(1):62-64.

[6] 徐玲玲,何江浔,方亮,等. 珍珠菜属三种植物的核型研究[J]. *广西植物*,2004,24(1):25-27.

[7] 陈劲松,董鸣,于丹,等. 不同光照条件下聚花过路黄的克隆构型和分株种群特征进行研究[J]. *应用生态学报*,2004,15(8):1383-1388.

[8] 陈桂信,谢文龙,潘东明,等. 棕幼胚胚性愈伤组织诱导的研究[J]. *江西农业大学学报*,2006,28(1):44-49.

[9] 曹昆,李霞. 木本植物组织培养不定芽诱导研究进展[J]. *江苏林业科技*,2008,35(5):43-48.

[10] 田国栋,康卓慧. 桃叶片再生不定芽的研究[J]. *西北农林科技大学学报:自然科学版*,2011,39(2):125-132.

[11] 王艳,杜鸿云,梁海永,等. 过路黄的组织培养及叶片植株再生[J]. *西北林学院学报*,2008,23(4):104-108.

[12] 陈丽静,齐欣,王玉坤,等. 北五味子快繁体系的建立[J]. *中草药*,2011,42(3):575-578.

[13] 阮慧泽,李珍,任燕燕,等. 半蒴苣苔的叶片组织培养及植株再生[J]. *浙江农林大学学报*,2014,31(1):162-166.

[14] Turker A U, Guner B. Efficient plant regeneration of yellow loosestrife(*Lysimachia vulgaris* L.), a medicinal plant[J]. *Acta Biologica Hungarica*,2013,64(2):218-230.

[15] Oh I C, Schünenberger J, Motley T J, et al. Phylogenetic relationships among endemic *Hawaiian lysimachia* (Myrsinaceae): insights from nuclear and chloroplast DNA sequence data[J]. *Pacific Science*,2013,67(2):237-251.

[16] Zhang C Y, Wang F Y, Yan H F, et al. Testing DNA barcoding in closely related groups of *Lysimachia* L. (Myrsinaceae)[J]. *Molecular Ecology Resources*,2012,12(1):98-108.

[17] Kono Y, Chung K F, Chen C H, et al. Intraspecific karyotypic polymorphism is highly concordant with allozyme variation in *Lysimachia mauritiana* (Primulaceae: Myrsinoideae) in Taiwan: implications for the colonization history and dispersal patterns of coastal plants[J]. *Annals of Botany*,2012,110(6):1119-1135.