

# 不同培养基对菘蓝叶片组织培养的效应

张丽琼 周琼 柳林 屈国胜

(陕西安康学院化学与生命科学系, 安康 725000)

菘蓝 (*Isatis indigotica* Fort.) 为十字花科 (*Cruciferae*) 菘蓝属植物。以根入药, 药材名板蓝根。有关菘蓝组织培养的报道较少, 本试验以菘蓝无菌苗的子叶和下胚轴为外植体进行初代培养, 以初代培养形成的叶片进行继代培养, 比较了几种不同培养基对菘蓝叶片组织培养的效应, 为菘蓝的组织培养提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验用菘蓝种子来自于陕西省宁陕县。

将菘蓝种子浸泡 24 h 后剥皮, 于超净工作台上用 75% 酒精处理 30 s, 然后用 0.1% 升汞消毒 8 min, 无菌水冲洗 3~5 次, 接种于 MS 培养基上。取长出的无

菌苗的子叶和下胚轴进行初代培养。取初代培养形成的无菌苗植株叶片进行继代培养。

### 1.2 培养基和培养条件

初代培养基为 MS + ZT  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + IBA  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 继代培养基为处理 A: MS + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 6-BA  $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 处理 B: MS + 6-BA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 2,4-D  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + IBA  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 处理 C: MS + 6-BA  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 2,4-D  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + IBA  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 处理 D: MS + 6-BA  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 2,4-D  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + IBA  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 处理 E: MS + 6-BA  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 2,4-D  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + IBA  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

培养温度为 25 °C, 光照时间 12 h/d, 光照强度 1600 LX。

- [8]Kajornchaiakul, P. (1987). *Corynespora* disease of Hevea in Thailand. Proceedings of IRRDB Symposium on Pathology of *Hevea brasiliensis*. 1987 Chiang Mai, Thailand, 16-22.
- [9]Dung, P. T. and Hoan, N. T. (2000). Current status of *Corynespora* leaf fall on rubber in Vietnam. IRRDB Workshop on *Corynespora* leaf fall of rubber, 6-14 June, 2000, Kuala Lumpur, Malaysia and Medan, Indonesia.
- [10]Pu Jinji, Zhangxin, Qi Yangxian, et al.. First record of *Corynespora* leaf fall disease of Hevea rubber tree in China. Australasian Plant Disease Notes, 2007, 2, 35-36.
- [11]方中达. 植病研究方法. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 1998. 122, 123, 153.
- [12]Chee, K. H.. Studies on sporulation, pathogenicity and epidemiology of *Corynespora cassiicola* on Hevea rubber. Journal of Natural Rubber Research, 1988, 3 (1): 21-29.
- [13]Dung, P. T.. Studies on *Corynespora cassiicola* on rubber. Thesis in Plant Protection. University of Putra, Malaysia.
- [14]Kumar, K. K. S. and Jacob, C. K. Role of physiological factors and pathogenesis - related enzymes on the growth and pathogenesis of *Corynespora cassiicola* causing leaf disease on rubber (*Hevea brasiliensis*). In: Preprints of papers. International Natural Rubber Conference, India 6-8 Nov. 2005. (Eds. N. M. Mathew et al.) Rubber Research Institute of India, Kottayam, Kerala, India, 513-522.
- [15]Dung, P. T. and Hoan, N. T.. *Corynespora* Leaf Fall on rubber in Vietnam new record. Proceedings of IRRDB Symposium, 1999, Hainan, P. R. C., 1999, 273-275.
- [16]Silva, W. P. K., Karunanayake, E. H., Wijesundera, R. L. C., et al.. Genetic variation in *Corynespora cassiicola*: A possible relationship between host origin and virulence. Mycological Research, 2003, 107(5): 567-571.

### 1.3 培养方法

初代培养:将无菌苗子叶切成约 $0.5 \sim 1 \text{ cm}^2$ 小块,下胚轴切成 $0.5 \text{ cm}$ 长的小段,斜插于初代培养基中培养。培养约 $50 \text{ d}$ 后进行继代培养。

继代培养:将初代培养的无菌苗叶片切成约 $0.5 \sim 1 \text{ cm}^2$ 小块,斜插于培养基中培养。

## 2 结果与分析

### 2.1 初代培养

培养 $15 \text{ d}$ 后,子叶膨大,无愈伤组织,在伤口处有气生根生成。下胚轴上端有气生根,下端稍有膨大。培养约 $30 \text{ d}$ ,子叶和下胚轴均诱导出无菌苗,叶片 $3 \sim 5$ 片/株,根系少量或没有。培养约 $50 \text{ d}$ ,无菌苗叶片增多,但根系仍少量。

初代培养并无愈伤组织产生,这与初代培养基所加生长调节剂有很大关系。初代培养基中加入了ZT和IBA 2种激素,ZT能够刺激细胞分裂,促进侧芽发育,而IBA能够促进生根。在ZT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 及IBA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的相互作用下,菘蓝的子叶不能诱导出愈伤组织,而是直接诱导生成无菌苗。

### 2.2 继代培养

在初代无菌苗的继代培养中,加入了NAA、6-BA、2,4-D及IBA几种植物生长调节剂,6-BA能促进细胞分裂,2,4-D能够诱导愈伤组织,IBA能促进生根。由表1可见,5个处理均能诱导出愈伤组织,且愈伤组织均比较好。

处理A不仅能诱导出愈伤组织,而且还能促进丛生苗的生成,说明NAA配合6-BA,能够促进菘蓝叶片诱导愈伤组织及促进芽的生长。

处理B、处理C、处理D、处理E几种培养基差别在于6-BA的浓度不同,处理B、处理C和处理D能够诱导出愈伤组织和少量苗,三者相比较,处理D的无菌苗长势较好,处理B较差,处理C诱导愈伤组织较快;处理E仅诱导出愈伤组织。这说明在2,4-D $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的条件下,6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 能够促进少量根系和芽的生长,6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 能够抑制根系的生成、促进芽的生长,6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 既抑制了根系的生成、也抑制了芽的生成。

表1

不同处理的继代培养愈伤组织情况

天数	处理A	处理B	处理C	处理D	处理E
10	叶片膨大	叶片膨大	叶片膨大较明显	叶片膨大	叶片膨大
13	浅绿色愈伤组织,丛生芽	边缘呈现绿色颗粒状	边缘呈现绿色颗粒状	边缘呈现绿色颗粒状	边缘呈现黄绿色颗粒状
15	浅绿色愈伤组织,丛生芽,少量根系	浅绿色愈伤组织	黄绿色愈伤组织	黄绿色愈伤组织	绿色愈伤组织
25	浅绿色愈伤组织,丛生苗多,根系少量	黄绿色愈伤组织,少量细黄丛生苗,少量根系	黄绿色愈伤组织,少量绿色粗壮丛生苗,无根	绿色或黄绿色愈伤组织,少量丛生苗,苗粗、高、绿,无根	黄绿色愈伤组织

## 3 小结

进行菘蓝的组织培养,可以直接诱导无菌苗,亦可以先诱导愈伤组织,再诱导分化,生成无菌苗。MS+ZT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基可以使菘蓝子叶及下胚轴直接生成无菌苗;菘蓝叶片诱导愈伤组织宜采用MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +2,4-D $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基;MS+NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +6-BA $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 不仅能使菘蓝子叶及下胚轴诱导出愈伤组织,而且还能促进丛生苗的生长及少量根系的生成。

植物生长调节剂的作用是调节植物的生长发育,其不同的种类和浓度对植物的生长发育不同。如初代培养基与继代培养基使用的激素不同,则初代培养基不能诱导出愈伤组织,而是直接分化成苗,继代培养基均诱导出了愈伤组织;继代培养基中,MS+NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +6-BA $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 能明显促进丛生苗的生长,其余4个处理的差异仅在于6-BA的浓度不同,其对菘蓝叶片的作用差异明显,从试验结果可看出,6-BA、2,4-D和IBA配合使用,高浓度的6-BA( $1.0 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )会抑制IBA的生根作用,甚至抑制芽的生长。