

猫须草组织培养研究

莫昭展, 梁海清, 马华材, 韦江萍 (玉林师范学院, 广西玉林 537000)

摘要 [目的]研究猫须草离体培养的最佳激素配比和最佳培养基。[方法]以猫须草幼嫩茎段为外植体,以MS为基本培养基,比较不同浓度和不同种类的生长激素对茎段腋芽萌发、愈伤组织增殖及丛生芽生根的影响。[结果]6-BA可促进腋芽萌发,分化丛生芽。随着6-BA浓度的增加,萌发腋芽的数量反而减少,当6-BA的浓度大于2.5 mg/L时,茎段便不再长出腋芽,而是在其顶端出现愈伤组织。在一定浓度范围内,随着2,4-D浓度的增加,愈伤组织的生长就越旺盛,当2,4-D浓度为2.0 mg/L时,愈伤组织增殖效果最好。NAA浓度为1.0 mg/L时诱导茎段生根效果最好,生根率达到100%。[结论]适宜的诱导培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,适宜继代增殖培养基为MS+2,4-D 2.0 mg/L,茎段生根的适宜培养基为MS+NAA 1.0 mg/L。

关键词 猫须草;组织培养;激素;6-BA;2,4-D;NAA

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)32-10348-02

Study on Tissue Culture of *Clerodendranthus spicatus*

MO Zhao-zhan et al (Yulin Normal College, Yulin, Guangxi 537000)

Abstract [Objective] The aim was to study on the best hormone matching and the best medium in vitro culture of *Clerodendranthus spicatus*. [Method] With tender stem segment of *C. spicatus* as explants and MS as basic medium, the effects of different concentrations and different types of growth hormone on the germination of stem segment and axillary bud, proliferation of callus and rooting of tufty buds were compared. [Result] 6-BA could promote the germination of axillary bud and differentiation of tufty buds. The germination amount of axillary bud were decreased along with increment of the concentration of 6-BA. When the concentration of 6-BA was higher than 2.5 mg/L, the axillary bud didn't grow out on the stem segment and the callus would appear on the top of stem segment. Within the range of certain concentration, along with increment of 2, 4-D concentration, the callus of stem segment had more vigorous growth, and had a best proliferation effect when 2, 4-D concentration was 2.0 mg/L. When NAA was at 1.0 mg/L the rooting induction of stem segment was the best (100 % of rooting). [conclusion] The optimum medium for induction was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, the optimum medium for subculture proliferation was MS+2,4-D 2.0 mg/L and the optimum medium for rooting of stem segment was MS+NAA 1.0 mg/L.

Key words *Clerodendranthus spicatus*; Tissue culture; Hormone; 6-BA; 2,4-D; NAA

猫须草 [*Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) C.Y.Wu.] 又名肾茶、猫须公,为唇形科肾茶属植物,因其雄蕊酷似猫的胡须而得名^[1]。猫须草产于东南亚至澳大利亚的热带亚热带地区,在我国主要分布于广东、海南、云南南部、广西南部、台湾及福建等地^[2]。猫须草茎叶味苦、性凉,富含黄酮、甾体、三萜、挥发油、油脂肌醇等营养成分和药效成分,对急性慢性肾炎、膀胱炎、尿路结石、风湿性下肢关节炎等有特殊疗效,并兼具抗菌、抗过敏及抗慢性肾衰竭,增加肾、肝、脾血流量等功能,是常用的名贵中草药^[3-4]。猫须草组织培养的研究在国内已有少量报道^[5-7],笔者在总结前人研究成果的基础上,以MS为基本培养基,研究不同种类和浓度的生长激素对猫须草茎段腋芽萌发、愈伤组织增殖以及丛生芽生根的影响,旨在为大规模工厂化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为采自十万大山的野生猫须草。

1.2 外植体的灭菌 取幼嫩的猫须草枝条,去除叶片,先用洗洁精轻轻擦洗表面,再用自来水冲洗干净,然后用解剖剪剪成3~4 cm长的茎段,放入玻璃瓶中,用自来水冲洗数次,最后转入已灭菌的空瓶子中。在超净工作台上,倒入浓度75%酒精溶液,使之浸没外植体,并轻晃,10~15 s后倒去酒精溶液,加入适量无菌水漂洗1次;接着用浓度0.1%升汞溶液浸泡7~8 min。灭菌结束后,小心倒出消毒液,再倒入适量的无菌水,用无菌镊子搅动数次,再将水倒掉,如此重复5~6次,最后将消毒过的外植体放在无菌碟上备用。

1.3 方法 试验均以MS作为基本培养基,然后根据培养

目的来添加不同种类和浓度的激素以及附加物,培养基的pH值为5.6~5.8,光照培养室温度为(25±2)℃,光照强度1 500~2 000 lx,每天连续光照12 h。

1.3.1 不同浓度的6-BA对腋芽萌发的影响 选取3 cm左右的茎段,经过表面灭菌后,接种到MS+3%蔗糖+0.72%琼脂+不同浓度6-BA和NAA的7种培养基中,每瓶接种1棵,每种培养基共接种30瓶,30 d后统计结果。

1.3.2 不同浓度的2,4-D对愈伤组织增殖的影响 选取同样培养条件下生长良好的愈伤组织,切割成直径0.5 cm团块,每种培养基接种5瓶,每瓶接种3块愈伤组织,以MS为基本培养基,添加3%蔗糖及不同浓度的2,4-D进行浅层液体静止培养,30 d后统计结果。

1.3.3 不同浓度NAA对丛生芽生根的影响 选取高2.5 cm左右、有3~4片真叶的无根小苗,接种到含3%蔗糖、0.72%琼脂和不同浓度NAA的MS培养基上,每种培养基接种30瓶,每瓶1棵小苗,30 d后统计结果。

2 结果与分析

2.1 不同浓度6-BA对腋芽萌发的影响 带节的茎段接种到诱导培养基上培养2周左右,茎节开始萌动,腋芽处开始长出小芽,30 d后可以看到分化出许多丛生芽(图1)。由表1可以看出,随着6-BA浓度的增加,萌发腋芽的数量反而减少,且出芽较晚,芽体较小;当6-BA浓度大于2.5 mg/L时,茎段便不再长出腋芽,而是在其顶端出现愈伤组织,并且随培养时间的延长,某些愈伤组织还长出少许白色的根。

2.2 不同浓度2,4-D对愈伤组织增殖的影响 由表2可以看出,在一定浓度范围内,随着2,4-D浓度的增加,愈伤组织的生长就越旺盛;当2,4-D浓度为2.0 mg/L时,愈伤组织增殖效果最好。在试验过程中笔者还发现,当2,4-D浓度

基金项目 玉林师范学院青年项目。

作者简介 莫昭展(1974-),男,广西玉林人,博士,副教授,从事植物种质资源利用的教学与研究工作。

收稿日期 2007-06-19

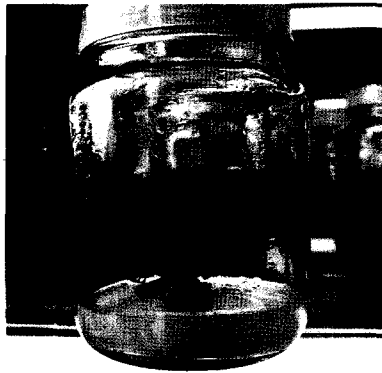


图 1 1 号培养基腋芽的生长状况

表 1 不同浓度 6-BA 和 NAA 对诱导腋芽萌发的影响

处理	6-BA mg/L	NAA mg/L	开始萌发的 天数//d	平均芽 数//个	平均叶片 数//片	出芽率 %
①	1.0	0.1	15	5	31	100.0
②	1.0	0.5	18	4	22	66.6
③	1.0	1.0	20	3	15	50.0
④	1.5	0.5	27	2	9	33.3
⑤	2.0	0.5	30	2	4	16.7
⑥	2.5	0.5	-	-	-	0
⑦	3.0	0.5	-	-	-	0

注：“-”表示没有腋芽萌发。
在 0.5 和 1.0 mg/L 时，愈伤组织块会长出白色的根，具体原因有待进一步研究。

表 2 不同浓度 2,4-D 对愈伤组织增殖的影响

处理	培养基 形态	2,4-D mg/L	增殖程度	愈伤组织的外观形态
A1	液态	0.5	++	愈伤组织块较小，颜色为淡黄色
A2	液态	1.0	+++	愈伤组织块较大，表面为淡绿色
A3	液态	1.5	++++	愈伤组织团较大，表面呈黄绿色
A4	液态	2.0	+++++	愈伤组织团最大，表面为深绿色
A5	液态	2.5	+++	愈伤组织块较大，表面为淡绿色

注：“+”表示愈伤组织增殖的相对程度。
2.3 不同浓度 NAA 对丛生芽生根的影响 由表 3 可见，浓度 1.0 mg/L NAA 诱导生根效果最好，生根率达 100%，根的数量多且粗壮，小苗长势也好(图 2)。

表 3 不同浓度 NAA 对丛生芽生根的影响

处理	NAA mg/L	生根率 %	生根数 条	幼苗的形态
Y1	0.1	20.5	1.5	长势缓慢，弱小，叶片浅绿色
Y2	0.5	63.3	3.3	长势较慢，叶片浅绿色
Y3	1.0	100.0	6.2	长势好，健壮，叶片深绿色
Y4	1.5	86.3	5.7	长势尚好，叶片绿色
Y5	2.0	70.5	3.8	长势较慢，叶片浅绿色

3 小结与讨论

3.1 快速繁殖途径的选择 猫须草从嫩茎段长成完整植株的途径主要有 2 条：一是从带节茎段直接诱导萌发出



图 2 Y3 培养基的丛生芽生根状况

定芽，再由不定芽诱导出丛生芽，经生根壮苗后，移栽成活即是再生植株；二是由外植体诱导出愈伤组织，再进一步分化产生丛生芽，经生根壮苗后，也可长成再生植株。笔者在该试验中发现，猫须草的腋芽比愈伤组织更易获得，因此采用第 1 种途径进行快速繁殖可能更适合大规模人工化生产。

3.2 激素浓度的控制 生长素和细胞分裂素是植物组织培养中的关键因子，因培养材料和培养目标的不同，试验中所选取的细胞分裂素和生长素的种类与浓度也有很大差别。在猫须草腋芽的诱导培养中，高浓度的 6-BA 和低浓度的 NAA 配比较合适，但更高浓度的 6-BA 与 NAA 配比却没有达到良好的效果。在猫须草愈伤组织增殖试验中，较高浓度的 2,4-D 比较合适，其愈伤组织增殖速度快，生长状态好。

3.3 NAA 对丛生芽生根的影响 诱导猫须草植株根的分化并不难，常用的生长素 NAA 便能诱导其生根，且能形成完整植株。浓度 1.0 mg/L NAA 诱导生根效果最好，根的数量多且粗壮，小苗长势也好。过低或过高浓度的 NAA 对生根率、生根数及小苗的长势都有一定影响。

参考文献

[1] 陈清智.天然植物药材“肾茶”[J].新农村,2006(9):12.
[2] 赵爱华,赵勤实,李蓉涛,等.肾茶的化学成分[J].云南植物研究,2004,26(5):563-568.
[3] 罗关兴,娄尚椿.珍贵药用保健植物——肾茶[J].广西热带农业,2004(6):31-32.
[4] 颜文祝,吕于谋,沈文通.猫须草主要化学成分初步试验[J].海峡药学,1995,7(3):3-4.
[5] 王连翠,张玉翠.猫须草的组织培养与植株再生[J].中国农村小康科技,2002(12):32.
[6] 李任珠,丁之福,林培.组织培养快速繁殖肾茶的研究[J].海南大学学报:自然科学版,1998,16(3):239-246.
[7] 周添浓,叶会呈.猫须草组织培养的研究[J].广州中医药大学学报,1988(4):9.

GB/T 7714-2005

连续出版物中的析出文献的著录格式

析出文献主要责任者.析出文献题名[文献类型标志].连续出版物题名:其他题名信息,年,卷(期):页码[引用日期].获取和访问路径.
示例:

[1] 李晓东,张庆红,叶瑾琳.气候学研究的若干理论问题[J].北京大学学报:自然科学版,1999,35(1):101-106.
[2] 傅刚,赵承,李佳路.大风沙过后的思考[N/OL].北京青年报,2000-04-12(14)[2005-07-12]. <http://www.biyouth.com.cn/Bqb/20000412/GB/4216%5ED0412B1401.htm>.
[3] 莫少强.数字式中文全文文献格式的设计与研究[J/OL].情报学报,1999,18(4):1-6[2001-07-08]. <http://periodical.wanfangdata.com.cn/periodical/qbxb/qbxb99/qbxb9904/990407.htm>.
[4] KANAMORI H. Shaking without quaking[J]. Science, 1998, 279(5359):2063-2064.
[5] CAPLAN P. Cataloging internet resources [J]. The Public Access Computer Systems Review, 1993, 4(2):61-66.