

药用植物紫锥菊的组织培养与快速繁殖

路梅¹, 张发成², 王俊平¹

(1. 浙江师范大学 化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004; 2. 金华市植物保护站, 浙江 金华 321017)

摘要:以紫锥菊种子萌发的子叶为外植体, 进行组织培养试验。确定了紫锥菊快繁体系的最适培养条件: (1) 种子发芽培养基: MS + IAA 0.1 mg/L + 6-BA 1.0 mg/L; (2) 愈伤诱导培养基: MS + 6-BA 1.0 mg/L; (3) 不定芽分化培养基: MS + NAA 0.2 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L; (4) 生根培养基: 1/2MS + NAA 0.2 mg/L。

关键词:紫锥菊; 组织培养; 子叶

中图分类号: S63

文献标识码: B

文章编号: 0528-9017(2006)03-0287-02

紫锥菊 (*Echinacea Purpurea*) 为菊科、紫锥菊属多年生草本植物, 又名紫锥花或紫松果菊, 因其头状花序形似松果而得名。原产于美洲, 是印第安人的传统草药。早在 17 世纪, 美国土著人就已使用紫锥菊来治疗感冒、咳嗽等多种疾病。20 世纪初期, 紫锥菊被引入欧洲。在欧美, 紫锥菊产品已被批准为非处方药, 成为每个家庭常备的免疫增强剂, 近 10 年来一直高居美国草药市场份额销售排行榜的前 5 名^[1,2]。

紫锥菊含有多菊甙酸、咖啡酸衍生物、烷基酰胺类和精油等多种有效成分, 能诱导人体产生干扰素和白细胞介素, 激活免疫系统, 全面增强免疫力^[3-6]。此外, 还具有抗菌、抗肿瘤和杀虫等作用^[6]。

做为一种极具商业价值的草药和观赏植物, 紫锥菊先后在我国北京^[7]天津和长沙^[4]等地区引种成功。但是, 由于紫锥菊性喜砂壤土和充足的肥料, 只适于在我国北方部分地区种植, 从而限制了国内种植规模, 进而延缓了药剂合成和新产品开发。到目前为止, 国内外对紫锥菊的研究多侧重于其有效化学成分的提取和药剂的合成, 关于其组织培养^[8]和基因转化方面的研究报道很少。

本研究初步探讨了紫锥菊的组织培养和快速繁殖技术。

1 材料与方法

1.1 植物材料

紫锥菊种子由浙江虹越花卉有限公司提供。

1.2 培养基

除生根培养基 1/2MS + NAA 0.2 mg/L 外, 其余均以 MS 为基本培养基。所加蔗糖浓度为 30 g/L, 琼脂为 6 g/L, pH 值为 5.8。培养基分装于 150 ml 的三角瓶内, 每瓶 35 ml, 封口后 121℃ 下高压灭菌 20 min。每个处理均重复 3 次, 每次 6 瓶, 每瓶接种外植体 4~6 个。

1.3 方法

1.3.1 无菌苗的培养

将种子用自来水冲洗 30 min 后, 置于超净台上, 先用 70% 乙醇浸泡 30 s, 无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1% HgCl₂ 消毒 15 min, 无菌水冲洗 4 次。无菌滤纸吸干水分后接种到不同的发芽培养基中培养, 每瓶接种 7 粒, 置于 25℃ ± 3℃, 光照度 1 500~2 000 lx, 每天光照时间为 12 h 的人工气候室中培养, 获得无菌苗。

1.3.2 愈伤诱导

取无菌苗呈绿色的子叶部分, 切成 5 mm² 左右的小块, 接种到不同的愈伤诱导培养基中。每瓶接 5 块, 培养条件同上。

1.3.3 分化培养

当子叶愈伤组织致密度较高时, 取嫩绿部分放入不同的不定芽分化培养基中, 观察不定芽发生情况。培养条件同上。

1.3.4 生根培养

不定芽长至约 0.5~1 cm 时自基部切下, 移至

收稿日期: 2006-01-16

基金项目: 金华市婺城区农业重点科技项目 (2005-01-14)

作者简介: 路梅 (1976-), 女, 山东日照人, 硕士, 助理工程师, 从事生物技术研究工作。

生根培养基(1/2MS + NAA 0.2 mg/L)中。培养条件同上。

1.3.5 再生苗移栽

当紫锥菊幼苗的幼根在生根培养基中长到2~3 cm左右时,除去封口膜,在室内强光下锻炼7 d后,用清水洗净根部琼脂培养基后,假植至含水量60%的营养土(腐殖质:珍珠岩为3:1)中,盖塑料薄膜3~5 d,20 d后移栽大田。

2 结果与分析

2.1 不同激素对种子发芽的影响

将种子接种到不同的诱导培养基,3~4 d后可以见到种子陆续发芽,统计接种10 d后的发芽率和子叶发生率。培养结果表明:不同培养基对种子发芽的诱导存在显著差异(表1)。IAA 0.1 mg/L的使用可以提高种子发芽率,而当IAA与6-BA 1.0 mg/L搭配使用时,种子诱导发芽的效果最好。相反,当IAA与ZT搭配使用时,种子的发芽率和子叶的发生率却降低至36.9%和16.7%,说明ZT的存在不利于种子的发芽。

表1 不同培养基对种子发芽的影响

培养基 序号	激素类型及浓度(mg/L)			第1粒种 子发芽的 时间(d)	接种10 d 后种子发芽 率(%)	接种10 d 后子叶发 生率(%)
	IAA	6-BA	ZT			
M1	-	-	-	3	40.6	32.6
M2	0.1	-	-	3	52.8	43.0
M3	0.1	0.5	-	3	46.9	34.7
M4	0.1	1.0	-	3	71.4	64.3
M5	0.1	-	0.5	3	38.1	16.7
M6	0.1	-	1.0	4	36.9	25.2

2.2 6-BA 浓度对子叶愈伤诱导的影响

根据6-BA不同浓度对愈伤诱导的影响,设计了4种培养基(表2)。接种到诱导培养基培养10 d左右,接触到培养基的外植体表面便可见米粒状愈伤组织,愈伤组织诱导率分别为80%、100%、90%和80%。综合愈伤组织的质地、颜色和诱导率,6-BA的浓度为1.0 mg/L时,诱导效果最为理想,不仅愈伤组织产生的时间早(接种第8 d时产生愈伤组织,比其它3种浓度的处理分别要早2 d、7 d和7 d);而且质地紧密,呈浅绿色。6-BA浓度过高或过低,均不利于高质量愈伤组织的产生。

2.3 不定芽分化和增殖培养

表2 不同6-BA浓度对子叶愈伤诱导的影响

培养基 序号	6-BA (mg/L)	愈伤组织			
		出现时间(d)	质地	颜色	诱导率(%)
M7	0.5	10	疏松	白色	80
M8	1.0	8	致密	浅绿色	100
M9	2.0	15	紧密或疏松	白或浅绿	90
M10	4.0	15	疏松	白色	80

将由M8培养基诱导出的高质量愈伤组织切成1 cm²大小的小块作为外植体转接到培养基M11~M14中,分别进行不定芽分化诱导。10 d后,在愈伤组织上可见绿色颗粒状突起,继而产生大量的不定芽。在M12培养基中,不定芽的分化率达到80%,明显高于其它培养基,说明NAA和6-BA是紫锥菊不定芽分化所需的充分条件。但是,在两者搭配使用时,NAA浓度高于0.5 mg/L或低于0.1 mg/L时,都会抑制分化的产生(表3)。

表3 不同NAA浓度对子叶不定芽分化的影响

培养基 序号	激素类型及浓度(mg/L)		不定芽 长势	不定芽分 化率(%)
	NAA	6-BA		
M11	0.1	2.0	+	40
M12	0.2	2.0	++	80
M13	0.5	2.0	+	60
M14	0.2	-	+	50

注:“+”表示生长势一般;“++”表示生长势较好。

2.4 不定芽生根培养

分化不定芽长至1~2 cm左右时,既可以切下移入生根培养基M15(1/2MS + NAA 0.2 mg/L)中进行不定根的诱导,15 d后可见白色的不定根,生根率100%。根生长很快,大约2~3 cm长时,就可以进行炼苗处理。

2.5 炼苗移栽

将已生根的瓶口打开,注入少量清水,以免瓶内湿度降低过快,室温强光炼苗4~5 d后,移植到营养土中(腐殖土:珍珠岩为3:1),成活率可达90%以上。从种子消毒接种到小苗出瓶,需要大约50~60 d,达到了快速繁殖的要求。

3 小结

选用紫锥菊的种子萌发而获得外植体进行组织培养,种子发芽快,污染率低,外植体成活率高,

秋大豆浙秋豆2号的选育经过与栽培要点

傅旭军, 李百权, 袁凤杰, 朱丹华, 朱文英, 朱申龙

(浙江省农业科学院 作物与核技术利用研究所, 浙江 杭州 310021)

摘要: 浙秋豆2号是浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所育成的秋大豆品种。2003年3月通过浙江省农作物品种审定委员会审定。该品种在试种中表现熟期早、高产稳产、抗病性强等特点。其栽培要点为适期播种、适当密植、科学施肥、中耕培土、及时防治病虫害等。

关键词: 秋大豆; 浙秋豆2号; 选育; 栽培技术

中图分类号: S565.103.7

文献标识码: B

文章编号: 0528-9017(2006)03-0289-02

浙秋豆2号是浙江省农科院作物与核技术利用研究所育成的秋大豆品种。2003年3月通过浙江省农作物品种审定委员会审定。表现成熟期较早、产量高、结荚性好、籽粒大、外观漂亮、抗病性强等特点。适宜在浙江省各地秋季种植, 特别适宜在肥力中等或较为贫瘠的旱地种植。现将浙秋豆2号的选育经过、特征特性与栽培要点总结如下。

1 选育经过

1988年春以杭州地方品种杭州九月拔为母本、衢州地方品种毛蓬青为父本配制杂交组合。1989~1990年在浙江省农科院试验场种植, 自交加代形成杂种后代分离群体, 1991~1996年采用系谱法选拔优良单株, 于1997年获得优良稳定的株系。

收稿日期: 2006-01-15

基金项目: 浙江省科技重点项目 (011102472)

作者简介: 傅旭军 (1979-), 男, 浙江磐安人, 研究实习员, 从事大豆良种选育工作。

注: 朱申龙系通讯作者。

加快了愈伤组织诱导和分化的速度, 有效缩短了再生植株的培养时间。

在整个组织培养过程中, 选用的都是极为常见的植物生长激素, 如 IAA、NAA、6-BA 和 ZT 等。这些植物激素的作用原理和使用方法, 都已研究得非常透彻, 且市场价格较低。在试验的过程中, 设置不同浓度激素组合使用, 目的在于寻找最经济最高效的组织培养条件, 最大程度的降低生产成本。这也是开展快速繁殖试验的最终目的之一。

作为一种具有重要的药用价值和观赏价值的植物, 紫锥菊组织培养技术的建立, 不仅可以解决我国南方引种问题, 而且也为今后有效外源基因的构建和转化奠定了基础, 具有重要的理论和应用价值。

参考文献:

[1] Xiao P G. International popular immunomodulator —— *Echinacea*

Purpurea and its preparations [J]. *Chin Trad it Herb Drugs*, 1996, 27 (1): 46 - 48.

[2] Robinson W E J. L-chicoric acid, a dicaffeoyl tartaric acid inhibitor of HIV integrase, improves on the *in vitro* anti-HIV effect of zidovudine and a protease inhibitor (A G1350) [J]. *Antiviral Res*, 1998, 39: 1012 - 1111.

[3] 曹岚, 刘贵琴, 王勇, 等. 反相高效液相色谱法测定紫锥菊中松果菊苷的含量 [J]. *现代仪器*, 2005, (2): 25 - 26.

[4] 吴启林, 袁其朋, 陈养文. 紫锥菊中菊苣酸提取纯化工艺研究 [J]. *中草药*, 2004, 35 (9): 995 - 997.

[5] 窦德明, 崔树玉, 曹永智, 等. 引种紫锥菊有效成分菊苣酸含量研究 [J]. *中草药*, 2001, 32 (11): 987 - 988.

[6] 曾栋, 陈波, 罗旭彪, 等. 大孔吸附树脂对紫锥菊提取物中菊苣酸分离纯化的研究 [J]. *天然矿物开发与利用*, 2004, 16 (2): 160 - 162.

[7] 马小军, 王雅玲. 紫锥菊在北京地区的引种 [J]. *中国中药杂志*, 1999, (10): 14 - 16.

[8] 刘军, 彭菲. 紫锥菊的组织培养和植株再生 [J]. *植物生理学通讯*, 2004, 40 (5): 577 - 578.