

# 银脉单药花组织培养及植株再生

黄美娟<sup>1</sup>, 廖玉洁<sup>1</sup>, 刘齐元<sup>2</sup>, 黄海泉<sup>1\*</sup>

(1. 西南林学院 园林学院, 云南 昆明 650224; 2. 江西农业大学 农学院, 江西 南昌 330045)

**摘要:**以银脉单药花(*Aphelandra squarrosa*)当年生幼嫩茎段为外植体,根据其茎段幼嫩程度不同分为三级(未木质化、半木质化、木质化)进行进瓶诱导并建立了无菌系;在此基础上对其进行了丛芽增殖及生根诱导研究,实验结果表明:半木质化茎段为最佳的外植体;而且不同的外植体其最佳的灭菌条件有所不同:未木质化: $\varphi = 75\%$  酒精 30 s + 1 g/L 升汞 5 min;半木质化: $\varphi = 75\%$  酒精 30 s + 1 g/L 升汞 7.5 min;木质化: $\varphi = 75\%$  酒精 30 s + 1 g/L 升汞 8.5 min;较好的增殖培养基为:MS + KTO.5 mg/L + IBA0.1 mg/L;较好的生根诱导培养基为:MS + NAA0.5 mg/L。

**关键词:**银脉单药花;组织培养;植株再生中图分类号:Q949.78.6;S722.3<sup>+</sup>7 文献标识码:A

## Studies on Tissue Culture and Plant Regeneration of *Aphelandra squarrosa*

HUANG Mei - juan<sup>1</sup>, LIAO Yu - jie<sup>1</sup>, LIU Qi - yuan<sup>2</sup>, HUANG Hai - quan<sup>1\*</sup>

(1. College of Landscape Architecture, Southwest Forestry College, Kunming 650224, China; 2. College of Agronomy, JAU, Nanchang 330045, China)

**Abstract:**The annual tender stems of *Aphelandra squarrosa*, which were classified into three types (i. e. unligified, semi - lignified and lignified tender stems), were used as explants and respectively induced into the primary culture media. Moreover, Its aseptic plantlets in vitro were obtained, and its proliferation and rooting culture were carried out. The semi - lignified tender stems of *Aphelandra squarrosa* were the best among the three tested explants. The results indicated that the optimal sterilization method was respectively 75% ethanol 30 s + 0.1% HgCl<sub>2</sub> 5 min for the unligified tender stems of *Aphelandra squarrosa*, 75% ethanol 30 s + 0.1% HgCl<sub>2</sub> 7.5 min for its semi - lignified tender stems, 75% ethanol 30 s + 0.1% HgCl<sub>2</sub> 8.5 min for its lignified tender stems among all the tested ones; the best proliferation culture medium of *Aphelandra squarrosa* was MS + KTO.5 mg/L + IBA0.1 mg/L among all the tested culture media; the optimal rooting culture medium of *Aphelandra squarrosa* was MS + NAA0.5 mg/L among all tested culture media.

**Key words:** *Aphelandra squarrosa*; tissue culture; plant regeneration

银脉单药花(*Aphelandra squarrosa*)为爵床科单药花属亚灌木植物,又名银脉爵床、斑马爵床,原产南美和墨西哥。银脉单药花花穗金黄,苞片很大,似瓦片状层层重叠,花双唇形,淡黄色;叶片深绿色有光泽,叶面具有明显的白色条纹状叶脉,很象斑马条纹,观赏趣味甚浓。因此,银脉单药花是一种观赏价值很高的观花、观叶植物,目前市场上不少商家送其一个美名“好运来”,其以漂亮的叶片及独特的花形越

收稿日期:2007 - 11 - 02 修回日期:2008 - 01 - 16

基金项目:云南省自然科学基金(2005C0004M)和云南省高校园林植物与观赏园艺重点实验室项目

作者简介:黄美娟(1972 - ),女,硕士,讲师,从事园林植物生物技术研究; \* 通讯作者:黄海泉, haiquan@163.com。

来越受到人们的关注<sup>[1,2]</sup>。

银脉单药花植株矮小,大多以扦插繁殖为主,繁殖率低,很难满足市场的需求,而组织培养为银脉单药花的快速繁殖提供了新的手段;与银脉单药花同属的金脉单药花已经建立了组织培养及工厂化育苗体系。蒋泽平等(2000)、李玉巧等(2001)以黄脉爵床嫩枝为外植体进行了离体繁殖并获得成功<sup>[5,6]</sup>。迄今仅有一篇有关银脉单药花组织培养的相关报道<sup>[7]</sup>,我们在其基础上进行了更为深入和系统的研究,建立起一套较为完善的银脉单药花离体快速繁殖体系,将为这一优良的园林树种更快地应到园林绿化中去有着积极的现实意义;同时也为银脉单药花做更深一步的研究、开发提供一定的科学理论与实践依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

以盆栽银脉单药花的当年生嫩枝为试验材料。

### 1.2 操作过程及方法

剪取当年生枝条,修去多余枝叶,用5%洗衣粉溶液浸泡5 min,并用棉球仔细清洗,清水洗净后分级,根据其木质化程度不同将其分为未木质化(A)、半木质化(B)、木质化(C)三个级别进行处理,吸水纸吸干,先用 $\varphi = 75\%$ 酒精处理30 s,再用0.1%升汞消毒4~10 min(表1)。最后用无菌水冲洗5次,接入到初代培养基MS+6-BA1.0 mg/L+IBA0.1 mg/L中,每瓶接入1根。增殖培养:取生长状况基本相同的银脉单药花无菌苗,剪去过长的茎段,保证每苗上均带有相同数目的腋芽,接入增殖培养基中,具体培养基组合详见表2、表3。生根培养:取约2~3 cm带顶芽茎段,接入生根培养基(表4)中。培养基均用琼脂6 g/L,蔗糖30 g/L,pH5.8。

### 1.3 评价项目和方法

污染率(%) = 污染茎段数 / 接种数  $\times 100$ , 成活率(%) = 成活茎段数 / 未污染茎段数  $\times 100$ , 灭死率(%) = 灭死茎段数 / 未污染茎段数  $\times 100$ , 增殖系数(倍) = 转接后瓶数 / 转接前瓶数, 生根率(%) = 生根的苗数 / 总接种苗数  $\times 100$ 。

### 1.4 培养条件

将接种后材料置于1 500 lx左右光照条件下培养,光照时间为12 h/d,培养温度为(23  $\pm$  2)  $^{\circ}\text{C}$ 。每天观察其生长情况,30 d后统计数据并加以分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同灭菌时间对银脉单药花茎段灭菌效果的影响

从表1可知,不同灭菌时间对银脉单药花茎段进瓶诱导的影响较大,随着灭菌时间的增加,污染率呈下降趋势,而灭死率呈上升趋势。未木质化材料中处理A1在进瓶后第3 d就开始出现污染,接后几天出现成批污染,污染率较高,达60%;A2~A5也在第4 d后相继出现污染,第10 d出现污染高峰;相比较而言A3~A5的污染率相对较低,但已出现灭死现象,特别是A5灭死率已高达66%。半木质化材料中,处理B1~B2在进瓶4 d后开始出现污染且污染率较高,达50%,而B3~B5在进瓶后第8 d后也相继出现污染,但污染率相对较低;且直至升汞灭菌8 min后才出现灭死现象,同时发现茎段基部出现褐化,芽长势缓慢。在木质化程度较高材料中,只有C1~C2没有灭死现象,但C2污染率较高,生长势一般;而在升汞灭菌9 min以后出现灭死现象,且出芽晚、长势差、生长慢。综合污染率、成活率及生长状况三要素,发现半木质化茎段的芽生长较饱满,苗长势最好,故最佳的外植体材料为半木质化茎段,其最佳的灭菌处理为B4,即 $\varphi = 75\%$ 酒精30 s + 1 g/L升汞7.5 min(图1-1)。

### 2.2 不同种类细胞分裂素及其浓度对银脉单药花茎段增殖效果的影响

由表2可知,银脉单药花在L1~L3培养基中的增殖系数随6-BA浓度的增加呈上升趋势;其在L4~L6培养基中的增殖系数也随KT的浓度的增加呈上升趋势,其上升幅度并不是太大,但平均增殖系数却远远大于6-BA,约为6-BA的2.5倍。在IBA浓度相同的条件下,L4~L6的增殖系数相差不是太大,其中L4中的苗长势最好,而L5和L6中的苗均出现了不同程度的黄叶或枯叶现象,可能是由于KT浓度偏高所致。综合增殖系数及苗生长状况,较好培养基为L4:MS+KT0.5 mg/L+IBA0.1 mg/L。

表1 不同灭菌时间对银脉单药花茎段灭菌效果的影响

Tab.1 Effects of different treatment time on sterilization of stems of *Aphelandra squarrosa*

处理	灭菌时间		接种数 /根	污染数 /根	污染率 /%	成活数 /根	成活率 /%	灭死率 /%
	$\varphi = 75\%$ 酒精/s	1 g/L 升汞/min						
A1	30	4	40	24	60.0	14	87.5	0
A2	30	4.5	32	12	37.5	16	80.0	0
A3	30	5	36	8	22.2	24	85.7	11
A4	30	5.5	32	6	18.7	16	61.5	32
A5	30	6	36	6	16.7	4	13.3	66
B1	30	6	36	18	50.0	16	89.9	0
B2	30	6.5	36	16	44.4	20	100	0
B3	30	7	40	12	30.0	24	85.7	0
B4	30	7.5	28	4	14.3	24	100	0
B5	30	8	32	4	12.5	16	57.2	25
C1	30	8	40	24	60.0	14	87.5	0
C2	30	8.5	40	8	20.0	28	87.5	0
C3	30	9	36	4	11.1	24	75	11
C4	30	9.5	36	2	5.6	4	11.8	71
C5	30	10	28	2	7.1	4	15.4	75

表2 不同处理对银脉单药花增殖效果的影响

Tab.2 Effects of different treatment on proliferation of *Aphelandra squarrosa* in vitro

处理	培养基	增殖系数/倍	苗生长状况
L1	MS + 6 - BA0.5 + IBA0.1	1.3	增殖少, 苗比较弱
L2	MS + 6 - BA1.0 + IBA0.1	1.6	增殖少, 生长一般
L3	MS + 6 - BA2.0 + IBA0.1	2.0	增殖少, 生长较好
L4	MS + KT0.5 + IBA0.1	4.1	产生丛芽较多, 生长良好
L5	MS + KT1.0 + IBA0.1	4.35	产生丛芽较多, 有黄叶现象
L6	MS + KT2.0 + IBA0.1	4.55	产生丛芽较多, 有枯叶现象

### 2.3 不同基本培养基、生长调节剂及其浓度组合对银脉单药花茎段增殖效果的影响

由表3可知,KT浓度的R值最大(1.39),为最主要影响因子,其次是IBA,最后为基本培养基,3个因子的主次顺序是:KT > IBA > 基本培养基。当KT浓度由0.3 mg/L增至0.5 mg/L时,增殖系数明显增加,苗长势较好;而从0.5 mg/L到0.8 mg/L时,增殖系数反而有所下降,苗长势变差,甚至出现黄叶或枯叶现象,因此最适的KT浓度为0.5 mg/L。

增殖系数随IBA浓度增加先增加后降低,由表3可看出在IBA0.1 mg/L时增殖效果最好。对于基本培养基来说,用木本培养基增殖率最大,苗长势最好,生长健壮,效果最佳。

综合增殖系数及苗长势等指标,较好的增殖配方为 $A_3B_2C_2$ ,即: $M_{\text{木}} + \text{KT}0.5 \text{ mg/L} + \text{IBA}0.1 \text{ mg/L}$ ,但此培养基配方在实验中并未出现,根据各因子作用程度的大小与其最接近的培养基为: $\text{MS} + \text{KT}0.5 \text{ mg/L} + \text{IBA}0.1 \text{ mg/L}$ ,而且在此后的验证实验中也再次证实了 $M_{\text{木}} + \text{KT}0.5 \text{ mg/L} + \text{IBA}0.1 \text{ mg/L}$ 的增殖效果与 $\text{MS} + \text{KT}0.5 \text{ mg/L} + \text{IBA}0.1 \text{ mg/L}$ 相差无几(图1-2)。

### 2.4 不同处理对银脉单药花生根诱导的影响

据观察,银脉单药花在Y2中第6d开始生根,且根系生长健壮,生长速度较快;在Y5中第8d才开始生根;而在Y1、Y3、Y4和Y6中第10d才陆续生根,尤其在Y1和Y4中苗的根系生长细弱,虽然在Y3和Y6中根系生长较粗壮,但苗基部出现较多愈伤组织。

表 3 不同基本培养基、生长调节剂及其浓度组合对银脉单药花增殖效果的影响  
Tab.3 Effects of different basal culture media, growth regulator and its concentration  
on proliferation of *Aphelandra squarrosa* in vitro

处理	基本培养基(A)	KT(B)	IBA(C)	增殖系数/倍	长势
J1	MS(1)	KTO.3(1)	IBA0.05(1)	4.12	一般
J2	MS(1)	KTO.5(2)	IBA0.1(2)	5.98	比较好
J3	MS(1)	KTO.8(3)	IBA0.2(3)	3.68	增殖好,出现黄叶
J4	1/2 MS(2)	KTO.3(1)	IBA0.1(2)	5.23	好
J5	1/2 MS(2)	KTO.5(2)	IBA0.2(3)	5.56	好
J6	1/2 MS(2)	KTO.8(3)	IBA0.05(1)	5.02	增殖好,出现枯叶
J7	M木(3)	KTO.3(1)	IBA0.2(3)	4.25	一般
J8	M木(3)	KTO.5(2)	IBA0.05(1)	6.22	很好
J9	M木(3)	KTO.8(3)	IBA0.1(2)	5.78	丛芽较多,出现黄、枯叶
K1	13.78	13.6	15.36		
K2	15.81	17.76	16.99		
K3	16.25	14.48	13.49		
$\bar{K1}$	4.59	4.53	5.12		
$\bar{K2}$	5.27	5.92	5.66		
$\bar{K3}$	5.42	4.83	4.5		
R	0.83	1.39	1.16		

注: M<sub>\*</sub> 为 McCown & Lloyd(1982) 培养基, 又称为木本培养基<sup>[8]</sup>。

从表 4 可知, 银脉单药花在 Y2 和 Y5 中的生根率较高, 分别为 100% 和 84.6%; 而 Y1 和 Y4 的生根率较低, 仅为 68.1% 和 54.2%。当 NAA 浓度为 0.5 mg/L 时生根率最高, 生长速度快, 根基部无愈伤组织; 而当生长素达到 0.8 mg/L 时苗基部出现较多愈伤组织, 对苗生根不利。在 NAA 浓度相同的条件下, 基本培养为 MS 的生根率均比 1/2MS 要高, 而且苗的长势也更为健壮。综合生根率及苗生长状况, 较佳的银脉单药花生根诱导培养基为 MS + NAA0.5 mg/L (图 1 - 3)。

表 4 不同处理对银脉单药花生根诱导的影响  
Tab.4 Effects of different treatment on rooting induction  
of *Aphelandra squarrosa* in vitro

处理	培养基	接种苗数/根	生根苗数/根	生根率/%
Y1	MS + NAA0.2	44	30	68.1
Y2	MS + NAA0.5	48	48	100
Y3	MS + NAA0.8	40	36	90
Y4	1/2MS + NAA0.2	48	26	54.2
Y5	1/2MS + NAA0.5	52	44	84.6
Y6	1/2MS + NAA0.8	40	32	80

注: 1/2MS 为大量元素减半。

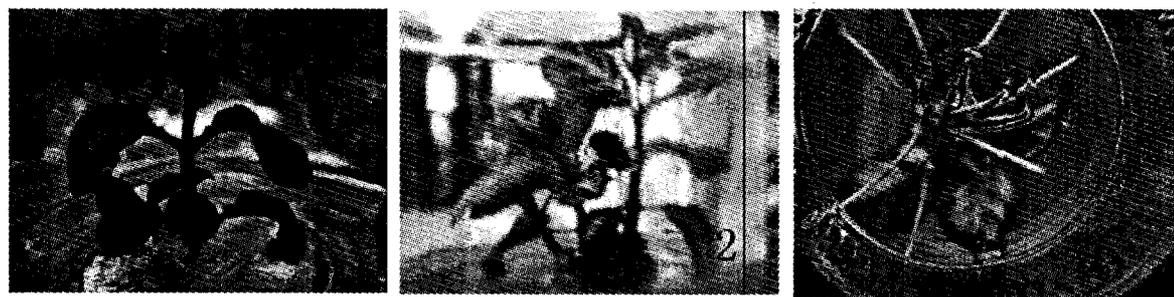


图 1 银脉单药花进瓶、增殖及生根培养

Fig.1 Inoculation, proliferation and rooting culture of *Aphelandra squarrosa*  
(注: 1 银脉单药花进瓶诱导; 2 银脉单药花增殖培养; 3 银脉单药花生根培养)

### 3 讨 论

姚丽娟等(2001) 主要采用芽为外植体通过愈伤组织诱导再生植株,

(下转第 533 页)

- [7] 向华林, 许宏大, 田文艺, 等. 中国皋茶(苦丁)茶降脂作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(8): 497 - 498.
- [8] 陈建华, 刘晓娟, 王启春, 等. 贵州黔南民间药苦丁茶的降脂及抗脂质过氧化作用的实验研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 1999, 5: 285 - 286.
- [9] 申梅淑, 张淑芹, 郭新民, 等. 苦丁茶对大鼠血脂和载脂蛋白的影响[J]. 中国林副特产, 2002(4): 7.
- [10] 潘慧娟, 王超英, 方志敏, 等. 苦丁茶对大鼠高脂血症及脂肪肝形成的影响[J]. 浙江中医杂志, 2003, 38(9): 404 - 405.
- [11] 杨雁芳, 阎玉凝. 中药构骨叶的化学成分研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(4): 33 - 34.
- [12] 罗源生, 吴忠, 梁松庆. 苦丁茶中总黄酮及微量元素研究[J]. 广东微量元素科学, 1995, 2(5): 65 - 67.
- [13] 周永红, 王立升, 韦藤幼. 苦丁茶化学成分研究[J]. 广西大学学报: 自然科学版, 1999, 24(3): 203 - 204.
- [14] 郑柏勤, 朱惠洪, 梁文权. 不同来源的花生壳总黄酮含量测定研究[J]. 广西大学学报: 自然科学版, 1999, 24(3): 203 - 204.

(上接第 512 页)

经历过程为芽 - 愈伤组织 - 芽 - 植株; 而本文以带芽茎段为外植体, 经历过程为芽 - 芽 - 植株。同时, 我们对银脉单药花再生体系进行了更为深入和系统的研究, 初步诱导时对外植体进行了分级处理; 在增殖培养过程中, 发现使用 KT 的效果要明显好于 6-BA; 生根诱导成功率高达 100%; 与姚丽娟等(2001)报道的结果均有所差异。

在银脉单药花进瓶诱导过程中, 在切取银脉单药花茎段时其茎段内会分泌出白色粘液, 给灭菌带来了一定的困难, 使灭菌往往有时不够彻底。因此, 在所有灭菌处理中, 均会出现不同程度的污染现象。在增殖培养过程中发现银脉单药花无菌苗的生长对 KT 浓度较为敏感, 浓度偏高甚至引起苗枯叶、黄叶现象, 其机理还有待于进一步研究。此外, 在增殖培养和生根培养过程中, 也只是分析了部分细胞分裂素及生长素等影响因子对银脉单药花茎段增殖和生根的影响, 对于其他种类的生长调节剂以及影响因子还有待于更深一步的研究。

#### 参考文献:

- [1] 熊树苏. 花叶俱美的银叶单药花[J]. 中国花卉盆景, 1999(6): 17.
- [2] 王里. 室内花卉新宠 - 叶色花美的银叶单药花[J]. 园林, 2000(7): 22 - 23.
- [3] 李永文, 李红, 张义奇. 金脉单药花的组织培养和快速繁殖[J]. 林业实用技术, 2007(4): 25.
- [4] 李永文, 李红. 金脉单药花组培工厂化技术研究[J]. 北方园艺, 2007(7): 179 - 181.
- [5] 蒋泽平, 李玉巧, 仲磊, 等. 黄脉爵床微体繁殖技术研究[J]. 广西农业生物科学, 2000, 19(4): 228 - 232.
- [6] 李玉巧, 徐勤明, 仲磊, 等. 黄脉爵床快速繁殖技术研究[J]. 江苏林业科技, 2001, 28(2): 20 - 22.
- [7] 姚丽娟, 柴一秋, 游聚斌, 等. 银脉单药花的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(3): 234.
- [8] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991.