

醉蝶花离体培养植株再生研究

王健美 高 辉 刘志斌 吴 俊 李旭锋*

(四川大学生命科学学院, 成都 610064)

摘 要: 诱导醉蝶花下胚轴和子叶形成愈伤组织, 以 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L + KT 0.5 mg/L 培养基中子叶的出愈率最高, 达到 100%, 下胚轴出愈率最高只有 93%。MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.05 mg/L 最适合于芽的诱导, 诱导率达到 100%。再生苗在 MS + NAA 0.1 mg/L 培养基中生根完成植株再生。带单个侧芽的茎作为外植体接种在 MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.05 mg/L 培养基中, 一个月以后形成无数丛生芽。

关键词: 醉蝶花; 离体培养; 植株再生

中图分类号: S 68 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 01-0115-02

Studies on Plant Regeneration of *Cleome spinosa* Jacq. in Vitro

Wang Jianmei, Cao Hui, Liu Zhibin, Wu Jun, and Li Xufeng*

(College of life science, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: Taking MS as basic media, adopting 6-BA, NAA, KT of different concentration compounds to induce callus from cotyledons and hypocotyls of *Cleome spinosa* Jacq., the result showed that the medium of MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L + KT 0.5 mg/L was the best to induce callus from cotyledons with a rate of 100% frequency, and the highest rate of hypocotyl callus inducement was 93%. And the differentiation medium MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.05 mg/L was the best to induce buds and had a 100% plant regeneration. And it was for rooting media, MS + NAA 0.1 mg/L, to produce roots from seedlings. Taking the stems with single bud as explants on MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.05 mg/L, it was found that there are lots of buds after a month.

Key words: *Cleome spinosa* Jacq.; Culture in vitro; Plant regeneration

1 目的、材料与方法

醉蝶花 (*Cleome spinosa* Jacq.) 是原产热带美洲的一年生草本植物^[1], 也是优良的蜜源植物, 现热带和温带均有栽培以供观赏。作者对其进行离体再生体系的研究, 旨在为其广泛应用和遗传转化提供基础。

醉蝶花种子来源于市售栽培品种。基本培养基为 MS + 30 g/L 蔗糖 + 8 g/L 琼脂, pH 6.0。培养温度 25℃, 光照 16 h/d, 光照强度 2000 lx。用滤纸包好种子, 常规灭菌后播种于无激素的 MS 培养基上。无菌苗长到 2 cm 高时将下胚轴切成 0.5 cm 的切段, 子叶切成 0.5 cm 见方的小块作为外植体。另外, 将栽培植株上带单个侧芽的茎剪下, 常规灭菌后作为快繁的外植体。

2 结果分析与讨论

2.1 愈伤组织诱导

将外植体培养在表 1 所示的培养基中 (无任何植物生长调节剂的培养基为对照), 6 d 后, 对照没有明显变化, 其它培养基中下胚轴切段面膨大并陆续出现愈伤组织, 9 d 后子叶边缘出现愈伤组织, 30 d 后愈伤组织大量增殖, 呈黄绿色 (见封三图版, 1)。试验表明, 在 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L + KT 0.5 mg/L 中子叶出愈率最高, 达到 100%; 下胚轴出愈率不及子叶, 最高只有 93%。

收稿日期: 2003 - 04 - 14; 修回日期: 2003 - 07 - 01

* 通讯作者 Corresponding author

表 1 植物生长调节剂组合对醉蝶花外植体愈伤组织诱导的影响

Table 1 The effects of plant growth regulator concentration compoundings on explant callus inducement of *Cleome spinosa* Jacq.

培养基 Medium	浓度 Concentration (mg/L)			子叶 Cotyledons			下胚轴 Hypocotyls		
	6-BA	NAA	KT	外植体数 No. of explant	愈伤组织数 No. of callus	诱导率 Frequency (%)	外植体数 No. of explant	愈伤组织数 No. of callus	诱导率 Frequency (%)
MS	—	—	—	60	3	5	60	0	0
MS	0.5	0.5	0.5	60	60	100	60	56	93
MS	1	0.1	—	60	48	80	60	51	85
MS	—	0.1	0.5	60	52	87	60	56	93
MS	4	0.1	—	60	30	50	60	49	82
MS	6	—	—	60	20	33	60	33	55

2.2 芽分化培养

将愈伤组织转移到表 2 所示的分化培养基上, 12 d 后愈伤组织增殖, 且陆续出现绿点, 20 d 以后绿点发育为芽 (见封三图版, 2)。25 d 时可以看出 6-BA 2 mg/L + NAA 0.05 mg/L 的组合最适合于芽的分化, 诱导率达到 100%。来源于下胚轴和子叶的愈伤组织在芽分化中没有差异。

2.3 生根培养

将愈伤组织上长出的健壮幼苗转移到 MS + NAA 0.1 mg/L 和 1/2 MS + NAA 0.1 mg/L 培养基上进行生根培养, 两者均可促使芽生根, 但前者生根较多, 且根相对较粗, 植株长势超过后者。

2.4 快速繁殖

将带单个侧芽的茎作为外植体接种在 MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.05 mg/L 培养基中, 30 d 后形成无数丛生芽 (见封三图版, 3), 其繁殖系数为 5.0 ~ 17。在继代增殖时应用团块比单芽效果好。

试验表明, (1) 醉蝶花对植物生长调节剂十分敏感, 在不加植物生长调节剂的对照组中愈伤组织诱导率和芽分化率都很低, 子叶愈伤组织诱导率只有 5%, 下胚轴没有愈伤出现。而且该愈伤组织在继代培养中容易出现褐化。在附加植物生长调节剂的培养基中诱导率突增, 说明醉蝶花细胞中富含与细胞分裂素具有高亲和力的受体蛋白, 在离体培养条件下细胞分裂素调控基因表达促进蛋白质的生物合成, 从而促进细胞的分裂^[2]。(2) 在相同的 NAA 条件下, KT 对醉蝶花脱分化培养的影响超过 6-BA, 附加 KT 的脱分化频率明显高于附加 6-BA 的。推测醉蝶花细胞表面的激素受体有特异性, 而且对 KT 的亲合力超过 6-BA。(3) 6-BA 在 0.1 ~ 4 mg/L 范围内, 愈伤组织和芽的产量、形态、颜色都正常, 尤其芽的产量高, 1 块愈伤组织最多可以出现 17 个芽, 而 NAA 对脱分化和分化的影响不大。当 6-BA 达到 6 mg/L 时, 培养基中分化的芽的叶色趋向浅色, 而且出现玻璃化。将其转移到 MS 培养基上, 7 d 以后叶色转深绿, 玻璃化消失。说明高浓度 6-BA 不利于芽的正常分化。(4) 子叶的脱分化频率比下胚轴高, 只是子叶出现愈伤组织的时间比下胚轴平均晚 4 d, 表现为子叶与下胚轴对植物生长调节剂的敏感程度和影响效果不同, 而在分化时二者区别并不大, 其原因及影响机理尚待进一步研究。

参考文献:

- 1 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴. 北京: 科学出版社, 1972. 29
- 2 潘瑞炽. 植物生理学. 第 3 版. 北京: 高等教育出版社, 1995. 281 页

表 2 植物生长调节剂组合对醉蝶花愈伤组织芽分化的影响

Table 2 The effects of plant growth regulator concentration compoundings on callus bud differentiation of *Cleome spinosa* Jacq. cotyledons and hypocotyls

培养基 Medium	浓度 Concentration (mg/L)			愈伤组织数 No. of callus	出芽数 No. of bud	诱导率 Frequency (%)
	6-BA	NAA	KT			
MS	—	—	—	40	2	5
MS	0. 1	—	0. 5	40	37	93
MS	1. 5	0. 50	—	40	38	95
MS	2. 0	0. 05	—	40	40	100
MS	4. 0	0. 05	—	40	37	93
MS	6. 0	0. 50	—	40	24	60

王健美等：醉蝶花离体培养植株再生研究

Wang Jianmei, et al., Studies on Plant Regeneration of *Cleome spinosa* Jacq., in Vitro



图版说明：

1. 用子叶诱导的愈伤组织；
2. 愈伤组织分化出芽；
3. 带侧芽的茎诱导的丛生芽。

Explanation of plates:

1. Callus induced from cotyledon;
2. Plantlet regeneration from callus;
3. Tussock plantlets induced from stem with single bud.

欧李新品种‘燕山1号’
(见137页文)

