

雪樱子组织培养及植株再生体系的研究

杜泽宇, 刘丹, 宗宪春, 李然红, 孙雪芳

(牡丹江师范学院生命科学与技术学院, 黑龙江 牡丹江 157011)

摘要:以雪樱子无菌苗叶片及茎段为外植体,研究了不同激素及不同浓度激素配比的培养基对雪樱子愈伤组织的诱导、不定芽分化及其生根的影响。结果表明,愈伤组织诱导以及芽分化最适培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L,出愈率为87.5%,分化率为65.0%;生根最适培养基为MS+IAA 0.2 mg/L。

关键词:雪樱子;愈伤组织;不定芽;生根

中图分类号:R282.71;S567.219 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-1463(2017)09-0027-03

doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2017.09.009

雪樱子 (*Amaranthus caudatus* L.) 学名为尾穗苋, 别名为老枪谷、仙人谷, 为苋科苋属一年生草本植物。雪樱子原产于热带、亚热带地区, 在我国各地均有栽培。作为一种药食两用植物, 其营养价值高, 在许多国家和地区都作为一种重要的农作物被大量种植。雪樱子种子脂肪和蛋白质含量高, 氨基酸成分均衡, 其中赖氨酸和蛋氨酸含量更是比豆类 and 谷类高^[1-2]。此外, 雪樱子还可作为常用中药使用, 全草入药, 具有健脾益血、解毒消肿止痛、生津止渴、补血强精的功效^[3-4]。Plate 等研究表明, 血胆固醇过高的兔子在食用雪樱子后, 其低密度脂蛋白及总胆固醇均有不同程度的减少^[5]。我国一些地方的地物志、药物志已将雪樱子作为常用中草药收录, 它含有一种与人垂体激素十分相似的植物激素, 可以促进精液的形成, 有着良好的性保健作用^[6-7]。目前国内外关于雪樱子的研究很少, 主要集中在研究其成分的提取和分析等方面, 对其植物组织培养方面的研究尚处于起步阶段, Bennici 等^[8]对不同变种的雪樱子愈伤组织的形成及分化进行了研究, 发现其分化再生具有品种特异性, 且该体系培养周期长, 再生频率较低。我们以雪樱子叶片及茎段为试验材料, 利用植物组织培养技术成功构建出其高效再生植株体系, 以期雪樱子快速繁殖、性状改良、转基因技术育种以及种质资源的保存和利用提供技术手段。

1 材料与方法

1.1 试验材料

雪樱子种子购自山东省寿光市问天种业。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基配制及培养条件设定 以MS为基础培养基, 附加琼脂3%、蔗糖0.8%, 加入不同浓度激素组合(表1), 调pH至5.8, 分装于100 mL组培瓶中, 每处理重复4次, 加膜封口, 于高压灭菌锅中121 °C下高压灭菌20 min。灭菌后置于温度25 °C、光照强度为1 800 Lx的组培室中, 光照16 h/d。

1.2.2 无菌苗培养 取颗粒饱满的雪樱子种子, 于70%乙醇浸泡30 s, 无菌水冲洗3次, 再用0.1%升汞浸泡5 min, 用无菌水冲洗至无升汞残留。用无菌滤纸吸干表面水分后接种于1/2MS培养基^[9], 暗培养1 d后移到培养间进行光照培养, 7 d后获得生长健壮的无菌苗。

1.2.3 愈伤组织诱导和不定芽分化培养基的筛选 取生长健壮的无菌植株, 将叶片剪成0.5 cm × 0.5 cm、茎剪成0.5 cm长的茎段作为接种的外植体。将已剪好的外植体接种至不同激素配比的培养基上进行培养, 激素组合选择6-BA 1.0、2.0、3.0 mg/L与IAA 0.1、0.2、0.3 mg/L排列组合方式。每种培养基上接种外植体10块, 4次重复, 15 d继代1次; 接种愈伤组织5块, 重复4次, 同样选择上述方法培养, 20 d后统计出愈率。出愈率=有愈伤组织形成的外植体数 / 接种外植体数 ×

收稿日期: 2017-07-16

基金项目: 黑龙江省大学生创新创业训练计划项目(201610233033)、黑龙江省教育厅备案项目“狗枣猕猴桃抗寒机理研究”(1351MSYYB007)、黑龙江省教育厅备案项目“食用菌菌糠在黑龙江地区生态农业中的应用研究”(1351MSYZD002)部分内容。

作者简介: 杜泽宇(1995—), 男, 黑龙江桦川人, 本科在读, 研究方向为生物技术。

通信作者: 刘丹(1982—), 女, 河南洛阳人, 实验师, 主要从事植物病理学研究。联系电话: (0)13604630351。E-mail: swxld1@126.com。

100, 30 d 后观察记录芽分化情况, 统计分化率。分化率 = 有芽形成的外植体数 / 接种的愈伤组织块数 × 100。

1.2.4 生根培养基筛选 生根培养以 MS 为基础培养基, 附加 IAA 作为诱导激素, 激素浓度选择 0.1、0.2、0.3 mg/L。将长 3~4 cm 的健壮芽剪下, 使之成为单株无根苗, 然后接种至不同生根培养基上, 每种培养基接种 10 个芽, 重复 4 次, 20 d 后观察根生长状况, 统计生根率。生根率 = 有根形成的芽数 / 接种的芽数 × 100。

2 结果与分析

2.1 不同激素对雪樱子外植体愈伤组织形成的影响

由表 1 可知, 雪樱子叶片外植体接种到不同激素组合的培养基中, 其出愈率和出芽率差异明显。5 号培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L 的出愈率和出芽率最高; 9 号培养基 MS+6-BA 3.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L 组合最低, 出愈率为 17.5%, 仅为 5 号培养基的 1/5, 出芽率为 0。并且在相同 6-BA 水平下, IAA 0.2 mg/L 浓度时的出愈率和出芽率明显高于其他 2 个 IAA 浓度水平, IAA 浓度 0.2 mg/L 时的愈伤组织呈淡绿或绿白色, 结构紧实, 芽点清晰, 生长速率高。相同 IAA 水平下, 6-BA 浓度 1.0 mg/L 时明显低于 2.0 mg/L 时的出愈率、出芽率, 此时愈伤组织呈白绿色, 结构松散, 芽点较少发白, 生长速率低; 而 6-BA 浓度 3.0 mg/L 时的出愈率和出芽率显著低于其他 2 个 6-BA 浓度水平, 愈伤组织发黑或褐色, 结构易散呈水渍状颗粒, 芽点干而脆, 大多数是盲芽, 生长速率无。上述结果表明, 激素组合为 MS+6-BA 2.0 mg/L+ IAA 0.2 mg/L 时的出愈率和出芽率最优。

表 1 不同激素组合对雪樱子叶片出愈率的影响

培养基 编号	激素种类和浓度 (mg/L)		接种外 植体数 /个	出愈 率 /%	接种愈伤 组织数 /块	出芽 率 /%
	6-BA	IAA				
1	1.0	0.1	40	27.5	20	35.0
2	1.0	0.2	40	47.5	20	55.0
3	1.0	0.3	40	40.0	20	20.0
4	2.0	0.1	40	40.0	20	35.0
5	2.0	0.2	40	87.5	20	65.0
6	2.0	0.3	40	45.0	20	30.0
7	3.0	0.1	40	10.0	20	15.0
8	3.0	0.2	40	32.5	20	25.0
9	3.0	0.3	40	17.5	20	0

2.2 生根培养基的筛选

由表 2 可知, 不定芽转接至生根培养基后, IAA 浓度为 0.2 mg/L 时根启动最早, 且不定根生

成明显, 生根率高达 98%, 主根粗而壮, 侧根较多; 而低浓度和高浓度的 IAA 均不利于雪樱子生根, 这与伍展红等^[10]的研究相似: 低浓度和高浓度的 IAA 培养基其根系较短、主根细长, 侧根较少或完全无侧根。

表 2 不同浓度 IAA 对雪樱子生根的影响

培养基 编号	IAA 浓度 (mg/L)	接种不 定芽数 /个	生根率 /%	根生长状态
1	0.1	40	72.0	根细长, 数量少, 无侧根
2	0.2	40	98.0	根粗, 数量多, 侧根多
3	0.3	40	89.0	根较粗, 数量多, 侧根少

3 结论与讨论

在植物组织培养技术中, 植物生长调节剂的使用是必不可少的, 6-BA 是植物组织培养中常用的细胞分裂素, 广泛应用于各种植物再生体系的建立^[11]。已有大量研究表明, IAA 和 6-BA 结合使用会提高大部分植物外植体的再生频率^[12], 但由于所选用植物种类及品种的不同, 其用法用量也有较大差别^[13-15]。本研究表明, 在 MS 培养基中附加不同 6-BA 和 IAA 的浓度配比, 雪樱子叶片和茎段外植体均能产生愈伤组织。愈伤组织诱导和芽分化可在同一种培养基上进行。雪樱子外植体分化芽的能力取决于培养基中生长素和细胞分裂素的比例。本研究结果表明, 雪樱子的出愈率和分化率在 2 种激素的不同浓度组合间存在很大差异。MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L 组合出愈率和出芽率最高, 说明中浓度的 6-BA 和 IAA 有利于雪樱子愈伤组织的形成和芽的分化。生根培养试验也表明, 中浓度的 IAA 生根率高且根系发达。本研究建立了雪樱子的植物组织培养再生体系, 可以将愈伤组织作为转基因植物的转化受体, 进而再分化得到转基因植株, 为雪樱子品种改良技术研究提供参考。

参考文献:

- [1] JOFRE-GARFIAS A E, VILLEGAS-SEP LVEDA N, CABRERA-PONCE J L, *et al.* Agrobacterium-mediated transformation of *Amaranthus hypochondriacus*[J]. *Plant Cell Reports*, 1997, 16: 847-852.
- [2] BRESSANI R. Amaranth: The nutritive value and potential uses of the grain and by-products [J]. *Food and Nutrition Bulletin*, 1998, 10: 49-59.
- [3] 徐志杰. 江西省产的菟科药用植物 [J]. *江西中医药*, 1986(1): 45-47.
- [4] 刘 阳, 吉都明, 吴 奔. 尾穗苋叶生药学研究[J]. *人参研究*, 2004(3): 21-23.

珠光香青挥发油对赤拟谷盗的趋避和触杀作用

鞠克升

(甘肃省酒泉市农产品质量安全监督管理站, 甘肃 酒泉 735000)

摘要: 采用水蒸气蒸馏法从珠光香青中提取挥发油, 采用 GC-MS 方法分析其化学组成, 并进行珠光香青挥发油对赤拟谷盗触杀和趋避的生物活性的测试。珠光香青挥发油的主要化学成分有石竹烯氧化物 (35.94%)、八氢 1, 7-二甲基-4-(甲基乙烷基)-1, 4-桥亚甲基-1 氢-茛 (11.84%)、2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基-双环 [4.4.0]-1-癸烯 (11.78%)、桉油烯醇 (7.91%)、喇叭茶醇 (7.88%)、 α -毕橙茄醇 (6.25%)。生物活性测试结果显示, 珠光香青挥发油对赤拟谷盗触杀的 LD₅₀ 值为 41.25 mg/头, 同时珠光香青挥发油对赤拟谷盗具有很强的趋避活性。

关键词: 珠光香青; 挥发油; 赤拟谷盗; 触杀; 趋避

中图分类号: S379.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)09-0029-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.09.010

Repellency and Contact Activity of the Essential Oil of *Anaphalis margaritacea* Against *Tribolium castaneum*

JU Kesheng

(Jiuquan Supervision and Management Station of Agricultural Product Quality Safety, Jiuquan Gansu 735000, China)

Abstract: The essential oil is extracted from *Anaphalis margaritacea* by steam distillation method, and the components of essential oil is analyzed by GC-MS method. Repellency and contact activity of the essential oil against *Tribolium castaneum* are tested. The main components of essential oil of *A. margaritacea* are caryophyllene oxide (35.94%), Alloisolongifolene (11.84%), 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene-Bicyclo [4.4.0] dec-1-ene (11.78%) and espatulenol (7.91%), palustrol (7.88%), α -cadinol (6.25%). The result of the biological activity test shows that the LD₅₀ value of the essential oil against *T. Castaneum* is 41.24 mg, and the essential oil possessed stronger repellency activity against *T. Castaneum*.

Key words: *Anaphalis margaritacea*; Essential oil; *Tribolium castaneum*; Contact activity; Repellency activity

赤拟谷盗 (*Tribolium castaneum*) 属鞘翅目拟步 甲科, 别名拟谷盗, 是一种危害严重的世界性仓

收稿日期: 2017-07-03

作者简介: 鞠克升 (1971—), 男, 甘肃酒泉人, 畜牧师, 主要从事农产品质量安全检测。联系电话: (0937)2669264。

- [5] PLATE A Y A, AREAS J A G. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits[J]. Food Chemistry, 2002, 76: 1-6.
- [6] 李 鸣. 伟哥蔬菜—雪樱子[J]. 农村新技术, 2007 (12): 64.
- [7] 王石麟, 吉美林. 雪樱子种植技术[J]. 上海蔬菜, 2010(5): 79.
- [8] BENNICI A, GRIFONI T, SCHIFF S, et al. Studies on callus growth and morphogenesis in several species and lines of *Amaranthus*[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1997, 49: 29-33.
- [9] 刘南波, 郑穗平. 尾穗苋种子萌发及愈伤组织的诱导研究[J]. 现代食品科技, 2009(1): 15-18.
- [10] 伍展红, 刘南波, 郑穗平. 尾穗苋子叶节离体再生体系的建立[J]. 中国园艺文摘, 2010(10): 1-3.
- [11] QIU D L, DIRETTO G, TAVARZA R, et al. Improved protocol for Agrobacterium mediated transformation of tomato and production of transgenic plants containing carotenoid biosynthetic gene CsZCD[J]. Scientia Horticulturae, 2007, 112: 172-175.
- [12] RICK C M. The potential of exotic germplasm for tomato improvement[M]. New York: Academic Press, 1982: 1-28.
- [13] 毛秀杰, 孙中峰, 武艳莉. 不同育性番茄叶片组织培养的差异研究[J]. 北方园艺, 2009(7): 56-59.
- [14] 肖省娥, 贺 红, 徐鸿华. 广藿香愈伤组织诱导和分化再生植株研究[J]. 广州中医药大学学报, 2009 (2): 115-117.
- [15] 曲雪艳, 周庆红. 樱桃番茄的组织培养与离体快繁技术研究[J]. 江西农业大学学报, 2006(28): 962-964.

(本文责编: 郑丹丹)