

不同植物激素对冬凌草愈伤组织增殖及褐化的影响

李冬杰<sup>1</sup>, 魏景芳<sup>1</sup>, 鲁绍伟<sup>2</sup>, 张进献<sup>3</sup>, 胡玉霞<sup>4</sup>

(1. 河北科技大学生命科学与工程学院, 河北 石家庄 050018;  
2. 北京林业大学水土保持与荒漠化防治教育部重点开放实验室, 北京 100083;  
3. 河北省林业局, 石家庄 050081; 4. 北京市东城区第 177 中学, 北京 100011)

摘 要: 研究了不同种类的植物激素对冬凌草叶片诱导愈伤组织及褐化的影响, 结果表明: 培养基中植物激素的种类、浓度及其组合对愈伤组织增殖及褐变影响较大。适宜浓度的 2, 4- D、IAA 和 NAA 生长素、KT 和 6- BA 细胞分裂素及 GA<sub>3</sub>, 能不同程度地减轻或抑制褐化, 促进愈伤组织的生长, 其中以 2, 4- D (2. 5) + KT (0. 2) + GA<sub>3</sub> (0. 2) 效果最好。

关键词: 冬凌草; 植物激素; 愈伤组织; 褐化

中图分类号: Q946. 885 文献标识码: A 文章编号: 1005- 3409(2006) 03- 0149- 02

Effects of Different Phytohormone on Callus Tissue  
Growth and Browning of *Rabdosia rubescens*

LI Dong-jie<sup>1</sup>, WEI Jing-fang<sup>1</sup>, LU Shao-wei<sup>2</sup>, ZHANG Jin-xian<sup>3</sup>, HU Yu-xia<sup>4</sup>

(1. Department of Biological Science and EGINEERING,  
Science and Technology University of Hebei, Shijiazhuang 050018;  
2. Key Laboratory of Soil and Water Conservation and Desertification Combating,  
Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083;  
3. Forestry Department of Hebei Province, Shijiazhuang 050081, China;  
4. Beijing 177 Middle School, Beijing 100011, China)

**Abstract:** Effects of different kinds of phytohormone on callus tissue growth and browning of leaves of *Rabdosia rubescens* was studied. The results indicated that the kinds, concentration and combination of plant. growth. substance in a medium played an important role. The feasible concentration of auxin such as 2, 4- D, IAA and NAA and cytokinin such as KT, 6- BA, GA<sub>3</sub>, respectively promoted the callus growth, alleviated or restrained browning. And the optimal ratio was 2, 4- D (2. 5) + KT (0. 2) + GA<sub>3</sub> (0. 2).

**Key words:** *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara.; phytohormone; callus tissue; browning

冬凌草 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara., 为唇形科香茶菜属多年生草本或亚灌木植物。传统医学上具有清热解毒、消炎止痛的功效。近年来的药理研究充分证明, 冬凌草有良好的消炎、抗菌、镇痛作用, 尤其是冬凌草中的主要成分冬凌草甲素及冬凌草乙素, 有很强的抗癌活性<sup>[1, 2]</sup>。研究开发冬凌草细胞培养法生产抗癌新药前景广阔。因细胞培养大都是用愈伤组织建立起来的, 所以维持愈伤组织的长期培养是该研究的基础。但在培养过程中, 冬凌草愈伤组织褐化问题较普遍。本文着重从不同植物激素的角度探讨对冬凌草叶片诱导愈伤组织及褐变的影响。

1 材料与方法

1.1 愈伤组织诱导和培养

取冬凌草叶片, 用自来水洗净后, 先用 75% 酒精灭菌 30

s, 再用 2% 次氯酸钠溶液浸泡灭菌 8 min, 再用无菌蒸馏水冲洗 4 次。将叶片剪成 0. 5~ 1 cm<sup>2</sup>, 分别接种在添加不同激素配比的 MS 培养基中, 于 25 ± 2 °C 暗培养。随时调查愈伤组织的生长、增殖及褐化的情况。

1.2 愈伤组织生长参数

培养 30~ 35 d, 取样称量愈伤组织鲜重。愈伤组织增殖率(倍) = (收获鲜重 - 接种鲜重) / 接种鲜重。每种处理至少重复 3 次。

1.3 褐化指数

培养 40 d, 观察愈伤组织和培养基褐化程度, 确定其褐化等级。划分褐化等级(A)标准如下, 其中 A = 愈伤组织(或培养基)褐化面积/愈伤组织(或培养基)体积。

0 级: 外观新鲜, 黄白色, 无褐化(A = 0);

1 级: 轻度褐变, 基本为黄白色(A ≤ 1/4);

y 收稿日期: 2005- 12- 21

基金项目: 河北省科技厅: 河北省药用植物优良品种的鉴定与选拔(04220111D)

作者简介: 李冬杰(1966- ), 女, 河北承德人, 硕士, 副教授, 主要从事生物技术方面的教学与科研工作; 责任作者: 鲁绍伟(1972- ), 男, 河北省秦皇岛市人, 高级工程师, 博士, 硕士生导师, 研究方向: 森林生态与森林水文。

2 级: 褐变, 黄褐色 ( $1/4 < A \leq 1/2$ );  
3 级: 较严重褐变, 褐色 ( $1/2 < A \leq 3/4$ ); 4 级: 严重褐变, 黑褐色 ( $A > 3/4$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 生长素对愈伤组织生长及褐化的影响

生长素主要作用在于诱导愈伤组织的形成<sup>[3]</sup>。所以本实验首先比较了 2, 4- D、NAA、IAA 三种不同的生长素对冬凌草愈伤组织增殖及褐化的影响。每种生长素设定两种浓度 (1.5 mg/L、2.5 mg/L) 进行对比实验。结果显示, 同一种生长素不同浓度实验结果趋势基本一致, 既 2.5 mg/L 组比 1.5 mg/L 组愈伤组织生长旺盛期提早 1~2 d, 生长量有一定提高, 但褐化等级基本一致; 而不同生长素种类的对比实验结果为: 2, 4- D 组明显优于 NAA 组和 IAA 组, 尤其是 2.5 mg/L 2, 4- D 愈伤组织增殖率最高 (3.98 倍), 质量最好; 而 NAA 组和 IAA 组结果基本相同 (见表 1)。

表 1 不同生长素对愈伤组织增殖及褐化的影响				
激 素/ (mg · L <sup>-1</sup> )	褐化等级		生长情况	
	愈伤组织	培养基	旺盛生长始期/d	增殖率/倍
2, 4- D (1.5)	1	2	26	3.14
2, 4- D (2.5)	1	2	24	3.98
NAA (1.5)	2	3	27	3.12
NAA (2.5)	2	3	26	3.65
IAA (1.5)	2	3	27	2.89
IAA (2.5)	2	3	26	3.23

### 2.2 细胞分裂素对愈伤组织生长及褐化的影响

在红豆杉愈伤组织生长中附加一定浓度的 KT 或 6- BA 的有减轻褐变的作用<sup>[4]</sup>。所以本实验在含 2 mg/L 2, 4- D 的培养基中, 分别实验了 KT 和 6- BA 两种不同浓度 (0.2 mg/L、0.5 mg/L) 对冬凌草愈伤组织生长及褐化的影响, 结果表明: 在培养基添加适宜浓度的 KT 及 6- BA 都有减轻愈伤组织褐化和促进愈伤生长的作用。两种不同的细胞分裂素中, KT 对褐化的抑制作用好于 6- BA。特别是 0.2 mg/L 的 KT, 愈伤组织增殖率高, 褐变最低。(见图 1)。

### 2.3 GA<sub>3</sub> 对愈伤组织生长及褐化的影响

GA<sub>3</sub> 是促进细胞生长和分裂的调节因子<sup>[3]</sup>。在红豆杉的愈伤组织继代中, 盛长忠等<sup>[5]</sup>证明 GA<sub>3</sub> 有抑制 PPO 活性、减轻褐化的作用。所以本研究在含 2.5 mg/L 2, 4- D+0.2 mg/L KT (CK) 的培养基中, 分别添加了 0.1 mg/L、0.3 mg/L、0.5 三种浓度的 GA<sub>3</sub>, 实验 GA<sub>3</sub> 对冬凌草愈伤组织生

长及褐化的影响。结果如表 2 所示: GA<sub>3</sub> 三种浓度处理都能促进愈伤组织生长, 减轻褐化。但浓度之间差别不大。



左: 2, 4- D (2.5) + 6- BA (0.2) 右: 2, 4- D (2.5) + KT (0.2)

图 1 不同细胞分裂素对愈伤组织增殖及褐化的影响

表 2 GA <sub>3</sub> 对愈伤组织生长及褐化的影响				
激素组合 (mg/L)	褐化程度		生长情况	
	愈伤组织	培养基	旺盛生长始期/d	增殖率(倍)
2, 4- D (2.5) + KT (0.2) (CK)	0	1	25	3.98
2, 4- D (2.5) + KT (0.2) + GA <sub>3</sub> (0.1)	0	1	25	3.99
2, 4- D (2.5) + KT (0.2) + GA <sub>3</sub> (0.3)	0	0	24	4.08
2, 4- D (2.5) + KT (0.2) + GA <sub>3</sub> (0.5)	0	1	25	4.02

## 3 讨 论

本研究通过在培养基中添加不同种类、浓度及其组合的植物激素, 系统的研究了其对冬凌草叶片诱导愈伤组织及褐变影响, 获得了最佳配比, 这为冬凌草的细胞培养奠定了一定的基础。

在植物组织培养过程中褐化现象是常遇到的问题, 但一般多以木本植物中较严重<sup>[3]</sup>。但冬凌草属草本植物, 在培养中褐化也较严重。这也正说明了植物组培中褐化机理 (酶促褐变非酶促褐变、) 的复杂性, 影响因素 (如植物种类、基因型、外植体类型、生理年龄等) 的多样性、培养条件 (如培养基种类、激素、pH、温度、光照等) 的相关性等特点<sup>[3]</sup>。所以, 有关防止和克服愈伤组织褐化方法较多。如在培养基中添加一些抗氧化剂或吸附剂等加以防止<sup>[6]</sup>。但作为药用植物应该尽可能避免使用过多的化学药剂, 以免影响其药效。因为植物激素是组培中不可缺少的要素之一。那么在冬凌草组培中, 探索合理的植物激素种类及配比, 以期在调控生长的同时, 也能对褐化起到较好的抑制作用是最简易、首选的方法之一。

[1] 刘晨江, 赵志鸿. 冬凌草的研究进展[J]. 中国药学杂志, 1998, 33(10): 577-581.  
[2] 魏景芳, 李冬杰, 张进献, 等. 冬凌草组织培养与快速繁殖[J]. 安徽农业科学, 2004, 33(7): 12-27.  
[3] 曹孜义, 刘国民, 王蒂, 等. 实用植物组织培养技术教程[M]. 甘肃: 甘肃科学技术出版社, 1996.  
[4] 张宗勤, 杨建英, 吴耀武. 南方红豆杉组织培养及紫杉醇的产生[J]. 西北植物学报, 1998, 18(4): 488-492.  
[5] 盛长忠, 王淑芳, 王宁宁, 等. 红豆杉愈伤组织培养中褐变现象的初探[J]. 南开大学学报, 2001, 34(4): 120-122.  
[6] 梅兴国, 董妍玲, 潘学武. 红豆杉细胞继代培养防褐变措施的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(4): 8-11.

(上接第 148 页)

参考文献:

[1] 张倬元, 王士天, 王兰生. 工程地质分析原理[M]. 北京: 地质出版社, 1994.  
[2] 曹伯勋. 第四纪地质与地貌[M]. 武汉: 中国地质大学出版社, 1995.  
[3] 潘别桐, 黄润秋. 工程地质数值法[M]. 北京: 地质出版社, 1994.  
[4] 崔政权, 李宁一. 边坡工程——理论与实践新进展[M]. 北京: 中国水利水电出版社, 1999.  
[5] 张倬元. 典型人类工程活动与地质环境相互作用研究[M]. 成都: 西南交通大学出版社, 1994.