

- [8] Witham F H, Blydes D F, Devlin R M. *Experiments in Plant Physiology* (植物生理学实验) [M]. Beijing: Science Press, 1974.
- [9] Shanghai Plant Physiology Academy. *Experiment Handbook in Plant Physiology* (植物生理学实验手册) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1985.
- [10] Zhang L X, Zhang T F, Li L Y. *Method and Technology of Biochemical Experiments* (生化实验方法和技术) [M]. Beijing: Higher Education Press, 1997.
- [11] Xiang Y. *Laser Biology* (激光生物学) [M]. Changsha: Hunan Science and Technology Press, 1995.
- [12] Li H J, Wang Y Z. Embryology of *Gentiana macrophylla* Pall. [J]. *Acta Bot Boreali-Occidentalia Sin* (西北植物学报), 1994, 14(4): 243-248.

紫花洋地黄的组织培养和植株再生

施和平, 权 宏*

(华南师范大学生命科学学院 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广东 广州 510631)

紫花洋地黄 *Digitalis purpurea* L. 是玄参科毛地黄属的可供药用和观赏的两年或多年生的草本植物, 原产欧洲。其叶片为制备强心药物西地兰和地高辛的原料或将叶片直接作原料药药用。临床试验表明, 其药用成分洋地黄强心苷等具有加强心肌收缩力, 减慢心率, 抑制传导的作用, 并用于充血性心肌功能不全症治疗等^[1]。有报道表明, 洋地黄的细胞培养物具有羟基化的生物转化能力, 能将洋地黄毒苷转化为羟基洋地黄毒苷^[2,3]。但至今少见有关紫花洋地黄组织培养和植株再生的正式报道。本实验报道利用紫花洋地黄叶片外植体诱导形成愈伤组织并得到再生植株的实验结果。

1 材料和方法

1.1 植物材料: 取紫花洋地黄 *Digitalis purpurea* L. 种子用清水吸胀后, 置于细纱布袋中, 先用 75% 酒精消毒 30 s, 再置入 0.1% 升汞溶液中浸泡 24~26 min, 用无菌水冲洗 5~6 遍后, 将种子置于盛 MS 培养基湿润滤纸的灭菌三角瓶中萌发。

1.2 愈伤组织的诱导: 将萌发生长 20 d 的无菌苗叶片切成 0.5~1.0 cm² 的小块, 接种至含 2, 4-D 1.0 mg/L + KT 0.5 mg/L 和 NAA 0.2 mg/L 的 MS 培养基上诱导愈伤组织和继代培养。愈伤组织每周继代一次。

1.3 芽和根的分化: 将叶片产生的新鲜浅黄绿色愈伤组织转接至含 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的 MS 培养基上诱导芽的分化。将所得到的芽从愈伤组织上切下, 转接至含 NAA 0.5 mg/L 或不含任何外源生长调节剂的 MS 培养基上诱导根的形成。

1.4 培养条件: 以上所用的培养基均加 0.7% 琼脂, 3% 蔗糖 (A.R.), pH 5.8。除愈伤组织诱导在 (25 ± 2) °C, 光照 12~14 h/d, 1 200 lx 下培养外; 幼芽分化及生根诱导均在 (25 ± 2) °C, 光照 12~14 h/d, 光强 2 000 lx 下进行培养。

2 结果

2.1 愈伤组织的诱导及芽的分化: 幼嫩的紫花洋地黄叶片外植体在愈伤组织诱导培养基上培养 1 周后, 叶片外植体切块不同程度卷曲, 并整体膨大; 2~3 周后从叶片外植体产生大量疏松浅黄绿色或淡黄色愈伤组织; 且随着培养时间延长, 愈伤组织体积逐渐增大。但若在该愈伤组织培养基上生长太久 (30~40 d), 老的愈伤组织就开始变黄, 或轻微变褐 (图 1)。

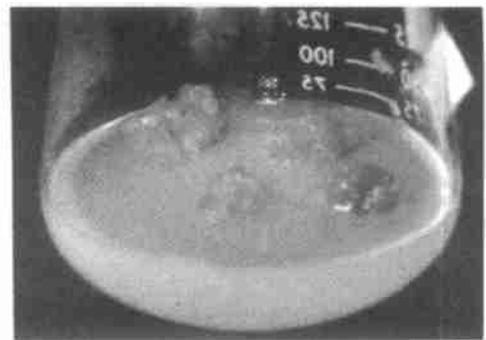


图 1 紫花洋地黄叶片外植体产生的愈伤组织
Fig. 1 Callus formation from *D. purpurea* blade explants

将叶片外植体上产生的新鲜愈伤组织转接至 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的芽分化培养基中, 约 5~6 d 后愈伤组织变得更疏松, 呈浅

* 收稿日期: 2003-07-22

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (003062)

作者简介: 施和平 (1964—), 男, 湖南浏阳人, 博士, 副研究员, 从事植物生长发育调控方面的科研教学工作。

E-mail: shihp@scnu.edu.cn Tel: (020) 85214793

绿色或部分愈伤组织呈绿色, 并开始出现零星的绿色小芽点, 约 10~ 12 d 后, 从愈伤组织上长出绿色小芽, 至 30 d 后发育成具许多绿色小芽的芽丛, 愈伤组织的芽分化率为 100%, 平均每个愈伤组织上产生 30~ 40 株幼芽(图 2)。同时还发现, 随着从叶片愈伤组织不断产生幼芽, 最先形成的幼芽基部则开始产生白色具根毛的根。



图 2 从紫花洋地黄叶片愈伤组织再生的幼芽
Fig. 2 Young shoots regenerated from callus of *D. purpurea* blade

2.2 生根与试管苗移栽: 将愈伤组织上产生的幼芽切下并接入 MS+NAA 0.5 mg/L 的生根培养基中, 5~ 6 d 后开始生根, 形成完整的再生植株。所产生的幼芽在无外源生长调节剂的 MS 培养基中培养 8~ 9 d 后, 也可见从其基部生根, 但数目明显比加 NAA 诱导所产生的根数少。

待生根幼苗长至 4~ 5 cm 时, 将生根的试管苗塑料封口薄膜打开, 室内放置 2~ 3 d 后, 取出试管小苗, 洗去其根部培养基, 种植于经过消毒处理的泥炭土和椰糠等体积混合的基质中(图 3)。起始时用塑料薄膜袋保湿 3~ 4 d 后, 转入温室中培养, 成活率可达 95% 以上。



图 3 盆栽的紫花洋地黄再生植株
Fig. 3 Pot-grown regenerated plantlets of *D. purpurea*

3 讨论

紫花洋地黄既是一种提取洋地黄强心苷的重要药源植物, 也是一种有较高观赏价值的花卉植物。本实验中我们利用紫花洋地黄叶片成功地诱导了愈伤组织并获得了再生植株, 而且其繁殖系数较高。该组培体系的建立, 不仅为今后利用细胞培养方式大规模生产洋地黄强心苷奠定了基础; 同时也为我们接下来通过含编码洋地黄强心苷次生代谢有关基因的农杆菌对紫花洋地黄的遗传转化, 获得转基因植株来进行洋地黄强心苷的次生代谢调控机制的研究, 提供了高效的植株再生系统。

References:

[1] Aldous S, Thomas R. Absorption and metabolism of lanatoside C. II. Fate after oral administration [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 1977, 21: 647-658.

[2] Furuya T, Hirotsani M, Shinohara T. Biotransformation of digitoxin by suspension callus culture of *Digitalis purpurea* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1970, 18: 1080-1082.

[3] Hu ZB, Gu ZM, Huang LD, et al. Relationship between the hydroxylation capacity of *Digitalis lanata* plants and cell culture [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1988, 30(6): 590-595.

常年供各种灵芝原料

药用菌场基地供大量椴木灵芝、黑灵芝、血芝、袋料灵芝、鹿角灵芝、灵芝切片、灵芝腿、灵芝盆景、椴木灵芝孢子粉(过 300 目)、破壁孢子粉(抗氧化处理破壁率 98%)、灵芝超细粉、虫草菌丝体粉、北虫草、灵芝多糖、冬虫夏草多糖、香菇多糖、猴头多糖、云芝糖以及各种液体菌丝提取物。量小可办理邮寄, 量大看货面议。

场长: 孙绪春
地址: 山东梁山县韩岗药用菌场
邮编: 272610

电话: (0537) 7627316 13791796588
传真: (0537) 7620700
网址: www.lzccw.com