

出版社, 1980 39

6 杜泽乡. Chenia, Vol. 3~ 4 123

7 林齐维. 雷公山自然保护区科学考察集. 贵阳: 贵州人民大众出版社, 1989 342

8 赵遵田,曹 同. 山东苔藓植物志. 济南: 山东科技出版社, 1998: 15

(1999-11-24收稿)

杭菊花花瓣组织培养

南京农业大学园艺系 (210095) 王康才* 张雪琼 茅毓英

摘 要 为了实现杭菊花优良种苗的有效快繁,用杭菊花始花期刚露白花蕾的花瓣为材料,按不同接种方向接种于不同激素配比的培养基上诱导分化。结果表明:以 MS+ NAA 0.2 mg/L+ KT 2 mg/L培养基较好,培养 40 d 后芽分化率为 72.2%~ 81.8%,不同的 KT 浓度与不同接种方向对花瓣组培形成不定芽有显著影响;不同品种类型间花瓣组培结果也有明显差异。

关键词 杭菊花 花瓣 组织培养

杭菊花是我国传统中药之一,具有散风清热,平肝明目之功效,主要用于风热感冒、头痛眩晕、目赤肿痛、眼目昏花等病痛。随着祖国中医药事业的不断发展,各种开发产品如菊花茶、菊花酒不断推出,菊花用量急剧增加。但目前生产上存在品种混乱、退化等现象,因此良种选育工作势在必行。菊花多为无性繁殖,这对新品种快速繁殖有一定限制。本试验利用杭菊花花瓣为材料进行组培实验,其目的是为了找到一种繁殖系数和芽分化率高的快速繁殖方法。

1 材料与方法

1.1 材料:取自于南京农业大学校内试验基地的杭菊花(大白菊、小白菊、黄菊)始花期花蕾的花瓣。

1.2 培养条件:以 MS培养基为基本培养基,光照强度为 2 000 lx,光照时间 12 h,昼夜培养温度 (25± 2)℃。

1.3 方法

1.3.1 不同 KT 浓度处理:将小白菊的花瓣经过灭菌消毒处理后,在 NAA浓度相同 KT 浓度不同的培养基 MS+ NAA 0.2 mg/L+ KT 1 mg/L和 MS+ NAA 0.2 mg/L+ KT 2 mg/L进行培养。

1.3.2 正反接种方向的结果:为了确定花瓣不同接种方向对芽诱导的影响,将小白菊灭菌花瓣用正反两种方法(即将靠近花瓣基部的切面插入培养基中叫正接,反之,将靠近花瓣顶端的切面插入培养基中叫反接)。接种在 MS+ NAA 0.2 mg/L+ KT 2 mg/L培养基上培养,3次重复。

1.3.3 不同品种类型间差异:将小白菊、大白菊和黄菊 3个品种的无菌花瓣接种于 MS+ NAA 0.2 mg/L+ KT 2 mg/L培养基上培养,3次重复。

1.3.4 沙培花瓣组织苗的观察:观察记录愈伤组织起动期、愈伤组织大小、质地、色泽、发芽块数等。

2 结果

2.1 KT 浓度对愈伤组织及芽形成的影响:从表 1 可知,KT 不同浓度对杭菊的愈伤组织形成率及大小差异不明显 ($P > 0.05$)。但从表 2 可知,KT 浓度对愈伤组织芽分化的影响差异明显,在 MS+ NAA 0.2 mg/L+ KT 2 mg/L上愈伤组织诱芽率在培养 20 d 后就达 80.8%,而培养基 MS+ NAA 0.2 mg/L+ KT 1 mg/L仅为 34.4%,即使培养 40 d 后也只有 42.3%。由此可见,在生长素浓度相同

表 1 KT 浓度对愈伤组织形成的影响

处理	M S(mg /L)		外植体	培养 20 d后			培养 40 d后		
	K T	N A A		愈伤组织	愈伤组织	愈伤组织	愈伤组织	愈伤组织	愈伤组织
				形成块数	大小 (cm)	形成率(%)	形成块数	大小 (cm)	形成率(%)
I	1	0. 2	26	23	0. 2 [△] 0. 7	88. 5	23	0. 4 [△] 1	88. 5
II	2	0. 2	26	22	0. 1 [△] 0. 8	84. 6	26	0. 3 [△] 1	100

△供试品种为小白菊;正接

Address: Wang Kangcai, Department of Horticulture, Nanjing Agriculture University, Nanjing
王康才 1985年毕业于吉林农业大学中药材学院,分配到南京农业大学任教,在工作期间攻读硕士学位,现任中药材教研室副主任、副教授。在完成《药用植物栽培学》等课程教学任务同时,进行科研和中药材生产指导工作,主要研究方向为薄荷、菊花、丹参、太子参等药材的栽培技术、栽培生理、组织培养。近年来获江苏省科技进步三等奖等奖励。

的条件下,较高 KT浓度对芽诱导有利,以 2 mg /L 为较适浓度

2.2 花瓣不同接种方向对不定芽形成的影响:由表 3可知,正接、反接两种方法的愈伤组织诱导率相同,但是反接的花瓣愈伤组织芽分化率为 0,而正接

的花瓣愈伤组织芽分化率为 80.8%。以上两者之间有极显著差异 ($P < 0.01$)(表 3)。培养过程中还发现反接的花瓣愈伤组织有向下生长的趋势,但不能出芽。

2.3 不同品种杭菊愈伤组织及芽分化的关系:从表

表 2 KT浓度对愈伤组织芽分化的影响

处理	MS(mg/L)			培养 20 d后			培养 40 d后		
	KT	NAA	外植体	愈伤组织 形成块数	愈伤组织 诱芽数	芽分化率 (%)	愈伤组织 形成块数	愈伤组织 诱芽数	芽分化率 (%)
I	1	0.2	26	23	9	34.6	23	11	42.3
II	2	0.2	26	22	21	80.8	26	22	81.8

表 3 不同接种方向对芽诱导的影响

接种方向	外植体数	培养 20 d后				培养 40 d后			
		愈伤组织 形成块数	愈伤组织 大小 (cm)	发芽块数	发芽分率 (%)	愈伤组织 形成块数	愈伤组织 大小 (cm)	发芽块数	发芽分率 (%)
正接	26	22	0.1 [△] 0.8	21	80.8	26	0.3 [△] 1	22	81.8
反接	26	22	0.1 [△] 2.3	0	0	22	0.2 [△] 0.4	0	0

△供试品种为小白菊;培养基:MS+ NAA 0.2 mg /L+ KT 2 mg /L

4可见,不同品种杭菊培养 20 d后愈伤组织诱芽率有明显差别。小白菊的诱芽率均达 80% 以上,而黄菊的诱芽率仅为 17.4%,大白菊诱芽率为 66.7%,

同时可见不同花色品种间不定芽形成能力有强弱,白色(大白菊、小白菊)明显强于黄色(黄菊),而小白菊的芽分化率又高于大白菊。

表 4 杭菊不同品种类型愈伤组织与芽诱导结果

品种	外植体数	培养 20 d后			培养 40 d后		
		愈伤组织 形成块数	愈伤组织 发芽数	诱芽率 (%)	愈伤组织 形成块数	愈伤组织 发芽数	诱芽率 (%)
大白菊	26	23	17	66.7	23	19	72.2
黄菊	26	20	5	17.4	20	6	21.1
小白菊	26	22	21	80.8	26	22	81.8

培养基为 MS+ NAA 0.2 mg /L+ KT 2 mg /L;正接

3 讨论

3.1 通过试验及相关资料可知,菊花花瓣的适宜培养期为始花期花蕾,形成的愈伤组织块大,成苗率高。这是因为始花期花蕾中所含营养物质丰富,花蕾直径以 1.5~ 2.0 cm刚露白时为佳,外植体长度以 0.5~ 0.7 cm 为好^[1]。培养基最适配比为 MS+ NAA 0.2 mg /L+ KT 2 mg /L。

3.2 激素浓度对花瓣愈伤组织及芽诱导的影响取决于生长素与细胞分裂素之比。因为花瓣组织内缺乏内源激素,当培养基中加入的外源激素 NAA /KT 值低时就能促使不定芽分化,当外源激素不能满足芽分化即 NAA /KT 比例高则形成愈伤组织^[2]。本试验的结果与该结论相符。

3.3 不同花色对外植体产生的不定芽数影响很大,不定芽形成强弱顺序为白色>黄色>红色>粉红色,这可能是由于过氧化物同功酶不同而引起的,因在菊花几个重要性状的酶谱表达中,花色差异最

大^[2];而过氧化物同功酶在植物组织生理功能之一是具有吡啶乙酸氧化酶的作用,它可控制不定芽形成和生长发育^[3~ 6]。花瓣接种方向不同而产生明显的结果差异,正向接种芽的分化率高于反向接种的原因还有待于探讨。

3.4 通过对花瓣组培苗的沙培观察,一般花瓣组培苗不易成活,因此成苗率偏低,而本试验组培苗沙培成苗率高达 90% 以上,且菊苗叶色正常,叶形裂缺深浅与供试品种土培苗无明显差别,植株生长旺盛,但就其染色体是否丢失或加倍而导致药效改变,因实验条件限制,有待以后进一步试验。从实验看出,在相同的激素水平条件下,不同菊花品种愈伤组织的诱导率和愈伤组织块大小不同;同一菊花品种在生长素相同,而细胞分裂素不同的条件下,虽然愈伤组织诱导率相同,但愈伤组织诱芽率则以高水平的 KT 高,所以在菊花组培中,要根据不同品种采用不同激素浓度。

参 考 文 献

- 1 刘兴玉. 西南农业大学学报, 1990, 12(2): 203
- 2 侯喜林. 南京农业大学学报, 1990, 13(3): 42
- 3 李招文. 园艺学报, 1989, 16(3): 233

- 4 袁文达, 李曙轩. 浙江农业大学学报, 1983, 9(3): 243
- 5 李 英, 黄建华, 董彩霞, 等. 河南职技师院学报, 1992, 20(1): 37
- 6 钱秀苇. 上海农学院学报, 1996, 14(3): 201

(1999-06-29收稿)

沙苑子及其伪品的可溶性蛋白质电泳鉴别

河北省职工医学院(保定 071000) 马晓莉* 周文英

摘 要 对沙苑子及其伪品进行了可溶性蛋白质电泳鉴别,同时比较了两种蛋白质染色剂考马斯亮蓝 R-250和 G-250的染色效果

关键词 沙苑子 伪品 电泳鉴别

沙苑子为少常用中药,药典收载的正品为豆科植物扁茎黄芪 *Astragalus complanatus* R. Br. 的干燥成熟种子。由于同属植物种子性状相似,沙苑子的异物同名品甚多,各地区的使用情况也不尽相同,我们用连续性非解离型聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,对沙苑子及其伪品进行了分析,所得蛋白电泳图谱有显著差异,可作为鉴别依据,同时比较了两种蛋白质染色剂考马斯亮蓝 R-250和 G-250的染色效果

1 实验材料、仪器与药品

1.1 实验材料

沙苑子: 豆科植物扁茎黄芪 *Astragalus complanatus* R. Br. 种子。

紫云英: 豆科植物紫云英 *A. sinicus* L. 种子。

华黄芪: 豆科植物华黄芪 *A. chinensis* L. 的种子。

沙大旺: 豆科植物直立黄芪 *A. adsurgens* Pall 的种子。

以上材料由保定市药检所提供经张建英鉴定

1.2 仪器: DYY-III 2型稳压稳流电泳仪(北京市六一仪器厂),圆盘电泳槽(北京市六一仪器厂), LD5-10型离心机(北京医用离心机厂)

1.3 药品: 丙烯酰胺为化学纯,双丙烯酰胺为进口原装,四甲基乙二胺为生化试剂,考马斯亮蓝 R-250和 G-250为进口分装,其余药品均为分析纯

2 实验方法

2.1 试剂的配制及凝胶的制备: 见文献^[1,2],凝胶浓度为 6.3%。

2.2 样品液的制备: 取实验材料 0.5 g,加电极缓冲液 5 mL 研磨成匀浆,静置 30 min,移至离心管中,按 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液 0.5 mL

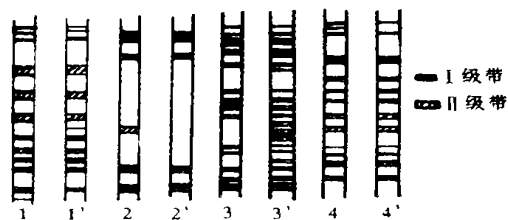
加入 0.05% 溴酚蓝示踪指示剂 1~2 滴,混匀备用

2.3 电泳: 调节电流按 1毫安/管进行电泳, 2 min 后按 3.5毫安/管进行电泳,待示踪指示剂行至距末端 0.5 cm 时,关闭电源,全程约 40 min

2.4 染色: 考马斯亮蓝 R-250 染色法: 将胶条置固定液中固定 10 min,再置 90℃染色液中染色 10 min,最后用洗脱液反复洗脱,至背景清晰为止。考马斯亮蓝 G-250 染色法: 将胶条置染色液中,室温条件下染色 30 min 即得。

3 结果与讨论

3.1 沙苑子及其伪品的蛋白质电泳图谱(图 1)各不相同,有显著差别,通过多次重复实验,重现性好,结果可靠,可作为鉴别依据



1, 1' 沙苑子 2, 2' 紫云英 3, 3' 华黄芪 4, 4' 沙大旺 1~4用考马斯亮蓝 G-250染色所得图谱 1'~4'用考马斯亮蓝 R-250染色所得图谱

图 1 沙苑子及其伪品的蛋白电泳图谱

3.2 我们按颜色的深浅将谱带分为 2级,色深者为 I 级,色浅者为 II 级。同种实验材料在相同条件下,分别用两种蛋白质染色剂考马斯亮蓝 R-250和 G-250染色,所得电泳图谱基本相同,只是一些细带、弱带略有差异,如沙苑子和华黄芪用 G-250染色所得图谱与用 R-250染色所得图谱相比,少了一些弱

* Address Ma Xiaoli, Hebei Medical College of Continuing Education, Baoding