

活血丹组织培养与快速繁殖技术研究

陈光登, 黎云祥*, 韩素菊, 李 婷, 兰 英

(1. 西华师范大学 四川省环境科学与生物多样性保护重点实验室, 四川 南充 637002;

2. 西华师范大学 生命科学学院, 四川 南充 637002)

摘要: 以活血丹为材料, 应用组织培养和快速繁殖技术, 对适于活血丹增殖分化的培养基、培养方式进行了系统的研究。用活血丹叶片作为外植体, 在 MS 添加生长素 2,4-D 和细胞分裂素 BA 的培养基上成功诱导出愈伤组织, 并对其继代培养条件进行研究, 分析了继代培养中褐化的原因。在 MS 添加 NAA 和 BA 的培养基中, 活血丹的茎尖和带腋芽茎段能直接诱导出大量丛生芽, 随后将不定芽转入 MS 添加 IBA 和 KT 的培养基中, 可生成不定根, 完成快速繁殖技术体系。结果表明: 活血丹愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+2,4-D(1.5 mg/L)+BA(1.0 mg/L), 诱导率高达 91.38%。丛生芽诱导的适宜培养基为 MS+NAA(0.1 mg/L)+BA(1.0 mg/L), 在此培养基上, 出芽率达 100%, 芽增殖系数接近于 10, 有利于生物量的积累。而根的诱导则在 MS+IBA(1.0 mg/L)+KT(1.0 mg/L) 培养基上进行最好, 此基础上能诱导出健康、粗壮的根。试管苗炼苗后移栽, 成活率达 100%。

关键词: 活血丹; 组织培养; 愈伤组织; 快速繁殖

中图分类号: Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)02-0265-07

Studies on tissue culture and rapid propagation techniques of *Glechoma longituba*

CHEN Guang-Deng, LI Yun-Xiang*, HAN Su-Ju, LI Ting, LAN Ying

(1. Sichuan Provincial Key Laboratory of Environmental Science and Biological Diversity Conservation, China West Normal University, Nanchong 637002, China; 2. College of Life Sciences, China West Normal University, Nanchong 637002, China)

Abstract: Tissue culture and rapid propagation of *Glechoma longituba* were systematically studied in order to explore suitable medium and culture conditions. The leaf as explants could induce the callus on the MS with 2,4-D and BA. And it was studied with the different conditions of subculture and analyzed the cause of browning phenomenon. The stem tips and the stems with auxiliary-bud could induce cluster bud, then cluster buds were replanted on the MS medium with IBA and KT, indefinite-root would be induced and the system of fast propagation would be set up. The results showed that: The best medium for the induction of tissue culture was MS+2,4-D(1.5 mg/L)+BA(1.0 mg/L), the inducing rate could reach 91.38%, and the optimum medium for cluster bud was MS+NAA(0.1 mg/L)+BA(1.0 mg/L), the rate of sprout could be up to 100%. Propagating coefficient might be close to 10, it was propitious to the accumulation of biomass. And the optimum medium for the induction of roots was MS+IBA(1.0 mg/L)+KT(1.0 mg/L); it could induce healthy roots. The survival rate of plantlets transplanted in soil could be up to 100% after nursling plantlets.

Key words: *Glechoma longituba*; tissue culture; callus; rapid propagation

收稿日期: 2005-06-23 修回日期: 2006-01-05

基金项目: 四川省杰出青年学科带头人培养计划项目(04ZQ026-047); 四川省科技厅基础项目(03JY029-021-22); 西华师范大学学生创新科研基金(2004); 四川省重点学科建设项目(SZD0420)[Supported by the Personnel Training Plan of Outstanding Youth Academic Leader of Sichuan Province(04ZQ026-047); Department of Science and Technology of Sichuan Province(03JY029-021-22); Scientific Research Innovation Foundation for Students of China West Normal University(2004); Key Subjects Construction Program of Sichuan Province(SZD0420)]

作者简介: 陈光登(1982-), 男, 四川金堂人, 硕士研究生, (E-mail)gd_chen05@yahoo.com.cn。

* 通讯作者, 博士, 教授(Author for correspondence, E-mail: yx_li@263.net)

活血丹(*Glechoma longituba* (Nakai) Kupr.) 别名连钱草、金钱草、佛耳草等,唇形科(Labiatae)活血丹属(*Glechoma* Linn.),为多年生匍匐草本植物。《中华人民共和国药典》将活血丹干燥地上部分收载为连钱草,具有清热解毒,利尿排石,散瘀消肿的功效,用于治疗热淋,石淋,湿热黄疸,疮痈肿痛,跌扑损伤等。研究表明,活血丹干燥地上部分连钱草含黄酮类(祝德秋等,2003)和熊果酸(罗启剑等,2003)等多种有效化学成分。目前,由于其生长环境的破坏和过度开采,野生活血丹已不能满足市场需求,而传统的种子和扦插繁殖法,繁殖率低、时间长,还可能会导致种质退化。植物组织培养与快速繁殖技术可以快速、高效地进行植物的繁殖,并且不受地理、环境和气候条件的影响。20 世纪以来,组织培养与快速繁殖技术已经广泛应用于各种唇形科药用植物,但有关活血丹的组织培养与快速繁殖技术尚未见公开报道,本研究利用组织培养的方法,研究活血丹的快速繁殖技术以提高活血丹的繁殖率,为其大规模生产提供重要技术支持,同时也为保护其种质资源提供重要手段。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料来源于四川嘉陵江流域南充段野生活血丹,整株采集移栽于西华师范大学试验地,以便于外植体的获取。

1.2 方法

于2~6月陆续从母株上取活血丹叶片、茎尖和腋芽,自来水冲洗表面杂物,洗洁净溶液浸泡10 min,自来水冲洗20 min,双蒸水清洗外植体后,放入培养皿内,酒精擦拭后放入超净工作台。70%乙醇,浸泡消毒30 s,双蒸水清洗4次。次氯酸钠浸泡1~15 min(视材料的幼嫩程度而定),放入培养皿中双蒸水清洗数次。剪取叶片(0.5 cm×0.5 cm)、茎尖和腋芽(0.2~1 cm)接种到培养基上。

1.3 培养条件

所选用的基本培养基为MS,按不同处理方案添加不同类型和浓度的生长素2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、 α -萘乙酸(NAA)、3-吲哚丁酸(IBA)和细胞分裂素6-苄基腺嘌呤(BA)、6-呋喃氨基嘌呤(KT)。用0.1 mol/L NaOH 和0.1 mol/L HCl 调节pH为5.8,高压(121℃)灭菌15 min。接种后置

于HPG-280H人工气候箱内培养,温度为(24±2)℃,光照强度为2 000 mg·m⁻²·s⁻¹,光照时间为12 h/d。

1.4 愈伤组织培养

将叶片(0.5 cm×0.5 cm 小块)接种在附加一定激素配比的培养基上进行愈伤组织诱导。如发现外植体染菌,立即将此瓶取出人工气候箱。培养30 d后,将未染菌外植体计算出愈率,计算公式如下:出愈率(%)=出愈外植体块数/(接种数-染菌块数)×100%。

1.5 丛生芽增殖培养

切取活血丹茎尖、腋芽(0.5~1 cm)接种于MS附加不同配比的植物激素的培养基上诱导生长,从叶腋不断形成丛生芽,30 d后统计长出丛生芽的外植体数,按下式计算:出芽率=长出丛生芽的外植体数/接种的外植体数×100%;增殖系数=增殖后有效芽数/接种芽数。

1.6 不定根诱导培养

当活血丹的不定芽生长至3~4 cm,剪下,在MS附加不同浓度植物激素IBA和KT培养基上进行生根诱导,观察其生长状况,30 d后统计,并计算不定根的积累量。

2 结果与分析

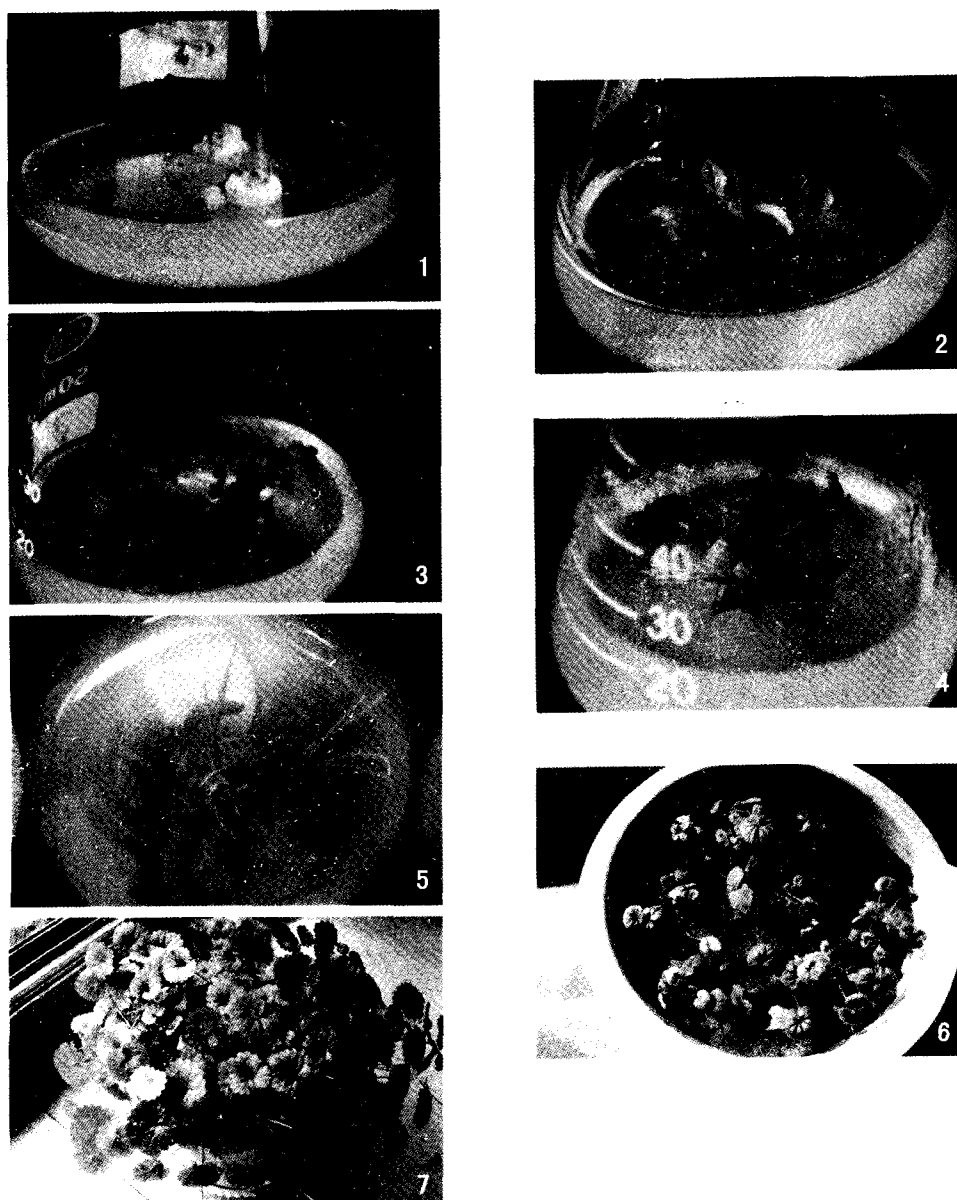
2.1 愈伤组织的诱导

愈伤组织诱导培养基上的幼嫩叶片接种20 d左右,在叶片边缘伤口处出现细小白色颗粒状愈伤组织,随着时间增加,愈伤组织不断增多,加厚,并不断向叶片内部扩增,形成愈伤组织团,30 d后,整个叶片全部愈伤组织化,颜色由最初边缘处的白色细小颗粒变为淡黄色愈伤组织团(图版I:1)。

通过不同配比的激素诱导(表1)表明,活血丹幼叶在MS为基本培养基,添加以生长素2,4-D和细胞分裂素BA的情况下,在激素浓度相对比较宽的范围内都能诱导出愈伤组织,但是不同配比的激素浓度对其诱导率和愈伤组织生长状况都有显著的差异;通过2,5,8,11号比较得出,2,4-D浓度在0~1.5 mg/L范围内,随着其浓度的增加,愈伤组织诱导率增大,当其浓度超过1.5 mg/L时,则诱导率呈下降趋势,说明高浓度的2,4-D(≥1.5 mg/L)抑制活血丹愈伤组织的诱导生成;通过7,8,9号比较得出,BA浓度在1.0 mg/L时,愈伤组织诱导率最高,

长势良好,而当其浓度偏低($<1.0\text{ mg/L}$)或者偏高($>1.0\text{ mg/L}$)时,愈伤组织诱导率下降。综合来看,MS+2,4-D(1.5 mg/L)+BA(1.0 mg/L)是活

血丹叶愈伤组织形成的最佳培养基,在此激素配比的培养基上,叶愈伤组织出愈率高达 91.38%,并且愈伤组织生长良好(图版 I:1)。



图版 I BC. 褐色愈伤组织; FC. 疏松易碎状愈伤组织。1. 诱导出的愈伤组织; 2. 增殖后的愈伤组织(2,4-D 2.0 mg/L); 3. 增殖培养基上的嫩茎分化出丛生芽; 4. 芽在生根培养基上生根; 5. 活血丹的不定根; 6. 移栽后的再生植株(7 d 后); 7. 移栽后的再生植株(60 d 后)。
Plate I BC. Brown callus; FC. Fragile callus. 1. Callus derived from *Glechoma longituba*; 2. Callus of the multiplication (2,4-D 2.0 mg/L). 3. Bush-buds from infancy stem segments on the multiplication of medium; 4. Rooting plantlets on the medium; 5. Indefinite-roots of *G. longituba*; 6. Regenerated plants after transplantation(7 days later); 7. Regenerated plants after transplantation(60 days later).

2.2 愈伤组织的继代培养

活血丹叶诱导出愈伤组织后,取愈伤组织,于含 MS+2,4-D(1.5 mg/L)+BA(1.0 mg/L)固体培养基的 50 mL 接种瓶中继代培养,并记录接种量[接种量(mg/瓶)=接种后瓶重(mg/瓶)-接种前瓶重

(mg/瓶)]。以每瓶愈伤组织鲜重的增长系数表示培养过程中的生长变化,进行愈伤组织生长动态实验。每间隔 2 d 取 6 瓶进行继代接种,并称其收获量[收获量(mg/瓶)=收获前瓶重(mg/瓶)-收获后瓶重(mg/瓶)]。计算增殖系数:增殖系数=收获

表 1 不同激素配比对诱导愈伤组织的影响

Table 1 Effect of different kinds and concentrations of hormones on induction of callus

编号 No.	基本培养基 Basal medium	激素 (mg/L) Hormone		接种块数(个) No. of inoculation	愈伤组织数(块) No. of callus	出愈率(%) Callus inducing rates	愈伤组织生长情况 Growing condition of callus
		2,4-D	BA				
1	MS	0.5	0.5	59	27	45.76	+
2	MS	0.5	1.0	54	25	46.30	++
3	MS	0.5	1.5	60	8	13.33	+
4	MS	1.0	0.5	60	32	53.33	+++
5	MS	1.0	1.0	61	30	49.18	++++
6	MS	1.0	1.5	60	27	45	++
7	MS	1.5	0.5	60	53	88.33	+++
8	MS	1.5	1.0	58	53	91.38	+++++
9	MS	1.5	1.5	60	52	86.67	+++
10	MS	2.0	0.5	60	35	58.33	+++
11	MS	2.0	1.0	63	40	63.49	++++
12	MS	2.0	1.5	59	28	47.46	++

量(mg/瓶)/接种量(mg/瓶)。以增殖系数为纵坐标,绘制活血丹愈伤组织生长的时间进程图。

图 1 显示,接种于 MS+2,4-D(1.5 mg/L)+BA(1.0 mg/L)配方培养基上进行继代培养的愈伤组织,在继代接种后进入延迟期,第 1、2 天内生长极其缓慢甚至有生长停滞的现象,第 3 天到第 7 天,愈伤组织有缓慢的生长,第 8 天进入对数生长期,愈伤组织细胞积累量明显增加,到第 20 天左右,愈伤组织积累量几乎不再增加,进入静止期,其愈伤组织细胞生长积累基本符合“S”型增长曲线规律。这与水母雪莲(*Saussurea medusa* Maxim.)愈伤组织细胞生长(赵德修等,1998)相似,但在进入各生长时期的时间上,由于物种间的差异和培养基配方的不同,两者存在差异。接种于 MS+2,4-D(2 mg/L)+BA(1.0 mg/L)培养基上的愈伤组织,继代接种后前两天仍无明显变化,第 3 天开始,继代前接触培养基的部分愈伤组织表面逐渐变褐(图版 I:2,BC),出现褐化现象,另一部分原先未接触培养基的愈伤组织缓慢生长出新的易碎状愈伤组织(图版 I:2,FC)。说明 2,4-D 浓度对愈伤组织继代培养有明显影响,高浓度 2,4-D 会使其愈伤组织产生褐化现象。

2.3 丛生芽的诱导

丛生芽诱导培养基上接种的活血丹带腋芽茎段和茎尖 7 d 后开始增殖生长,10 d 后开始从叶腋长出 1~2 个不定芽,随时间增加,丛生芽也不断增多,15 d 后丛生芽进入增殖高峰期,而 30 d 后培养基内营养物质被消耗减少,芽的增殖趋于平缓(图 2)。

试验表明,生长素 NAA 配比细胞分裂素 BA 能有效抑制活血丹匍匐茎的形成,而直接诱导活血

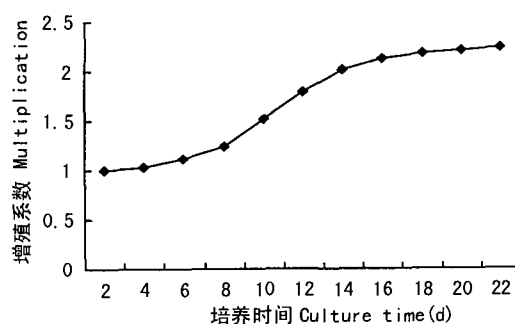


图 1 活血丹愈伤组织生长的时间进程

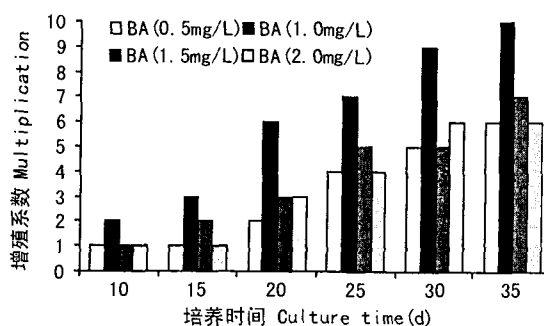
Fig. 1 Time-course of callus growth in *G. longituba*

图 2 不同 BA 浓度下活血丹芽生长的时间进程

Fig. 2 Time-course of buds growing in different concentrations of BA

丹丛生芽的形成。表 2 显示:随着生长素 NAA 浓度的变化,活血丹丛生芽的生长形成有较大影响,低浓度 NAA(≤ 0.1 mg/L)有利于丛生芽的诱导及其生物量的积累;当 NAA 浓度大于 0.1 mg/L 时,随着浓度的增加,出芽率和增殖系数都有所降低,0.5 mg/L 的 NAA 条件下断裂处有少量愈伤组织生成;同时,在添加生长素 NAA(0.1 mg/L)配比不同浓

度细胞分裂素 BA 的培养基上进行丛生芽诱导培养时,细胞分裂素 BA 对不定芽的生成具有很大的影响(图 2),低浓度的 BA 在诱导丛生芽的过程中有少量愈伤组织的生成,增殖效率低,而高浓度 BA 诱导出的丛生芽表现出细长柔弱、叶片薄的形态,不利于生物量的积累。30 d 时统计不同激素浓度配比下活血丹出芽情况显示,当 NAA 浓度 0.1 mg/L, BA 浓度为 1.0 mg/L 时,出芽率达 100%,且生长健康(图版 I:3),增殖系数接近于 10。因此,最适丛生芽诱导培养基为 MS+NAA(0.1 mg/L)+BA

(1.0 mg/L),其对丛生芽的生长、增殖效果好,丛生芽生长健壮。

2.4 不定根的诱导

当活血丹的不定芽生长至 3~4 cm,将其剪下并转接在 MS 附加不同浓度植物激素 IBA 和 KT 培养基上进行生根诱导。试验表明,适宜条件下,活血丹较易生根,6 d 后,开始出现白色细小根,12 d 后已经长出白色幼嫩的不定根(约 0.5 cm),并且在切口处出现少量绿色致密愈伤组织。15 d 后,愈伤组织不再生长,而不定根生长迅速(图版 I:4),表面

表 2 不同配比的激素对丛生芽诱导的影响

Table 2 Effect of different kinds and concentrations of plant growth regulators on induction of cluster bud

编号 No.	基本培养基 Basal medium	激素 (mg/L) Hormone		接种外植体数 No. of explants	长出丛生芽 的外植体数 No. of explants	出芽率(%) Rate of induction	有效总出芽数 No. of induction	增殖系数 Propagating coefficient
		NAA	BA					
1	MS	0.05	0.5	45	41	91.11	312	6.93
2	MS	0.05	1.0	47	47	100	402	8.55
3	MS	0.05	1.5	48	43	89.58	346	7.21
4	MS	0.1	0.5	48	45	93.75	295	6.15
5	MS	0.1	1.0	43	43	100	421	9.79
6	MS	0.1	1.5	46	39	84.78	320	6.96
7	MS	0.1	2.0	39	16	41.03	82	2.10
8	MS	0.2	0.5	44	41	93.18	328	7.45
9	MS	0.2	1.0	45	41	91.11	305	6.78
10	MS	0.2	1.5	45	38	84.44	270	6.00
11	MS	0.5	0.5	46	36	78.26	229	4.98
12	MS	0.5	1.0	45	35	77.78	215	4.78
13	MS	0.5	1.5	46	32	69.57	142	3.09

表 3 不同激素对比对不定根诱导影响 (30 d 后)

Table 3 Effect of different kinds and concentrations of hormones on induction of indefinite-root (30 days later)

编号 No.	基本培养基 Basal medium	激素 (mg/L) Hormone		接种芽数(个) No. of inoculation	不定根平均数量(个) Average quantity of indefinite- root	不定根平均长短(cm) Average length of indefinite- root	不定根粗壮程度 Robust degree of indefinite- root
		IBA	KT				
1	MS	0.5	0.5	60	10.20	3.11	++++
2	MS	0.5	1.0	60	14.25	4.12	+++++
3	MS	0.5	1.5	60	9.50	4.02	++++
4	MS	1.0	0.5	59	17.92	6.17	++++
5	MS	1.0	1.0	60	20.02	8.35	+++++
6	MS	1.0	1.5	61	18.16	7.03	+++
7	MS	1.5	0.5	60	17.02	6.01	+++
8	MS	1.5	1.0	60	18.13	7.32	++++
9	MS	1.5	1.5	60	16.65	5.94	+++
10	MS	2.0	0.5	58	15.28	5.21	++
11	MS	2.0	1.0	60	16.67	5.69	++
12	MS	2.0	1.5	59	14.72	4.81	++

被根毛(图版 I:5),30 d 后已经布满三角瓶底。

植物激素 IBA 和 KT 对不定根的生长速度、生长量及粗壮程度都有一定的影响(表 3)。在一定范围内(0.5~1.0 mg/L),随着 IBA 浓度的增加,不定

根的生长速度加快,但当 IBA 浓度大于 1.5 mg/L 时,不定根生长量减少,并且形成的不定根显得略细,表面根毛少;在 KT 低于 1.0 mg/L 时生长略慢,但不定根生长正常,当 KT 达到 1.5 mg/L 时,

其诱导产生的不定根粗壮程度下降。不定根的诱导以 MS+IBA(1.0 mg/L)+KT(1.0 mg/L)的培养基为最佳。

2.5 试管苗的炼苗与移栽

在活血丹移栽时,因为试管苗长期在营养丰富的无菌条件下生长,根系活动能力和植株适应能力均较低,所以应注意炼苗和管理,提高成活率,使之应用于生产。其方法:揭开活血丹培养瓶封口膜,在培养基表面添加薄薄一层自来水,炼苗 2 d。取出试管苗,轻轻地彻底洗掉粘附在活血丹根上的琼脂培养基,以防止移栽后发霉。移栽到经 0.1% 甲醛消毒的细河沙土中,表面覆盖,保温保湿培养 10 d(图版 I:6),再移入土中培养,待小苗幼茎长至 8~10 cm 时(图版 I:7)即可移栽到大田,成活率达 100%。

3 结论与讨论

活血丹叶在一定条件下能通过脱分化形成未分化细胞群的愈伤组织。这种愈伤组织从叶伤口处长出,但与叶有显著的不同,它已经失去了特殊的功能,最后形成了外部形态一致的细胞群。有文献报道,叶片愈伤组织形成机制与其酸性环境有关(祖元刚等,2005),培养基配方中的酸性物质使植物叶片处于酸性环境中并导致植物正常细胞首先发生细胞壁酸性降解,随后出现原生质体脱离细胞壁,进一步发生细胞器重组或细胞重建,人工培养基的酸性环境使细胞壁强制性地降解后,植物原生质体失去细胞壁的包被后直接处于较酸性的环境中,可能会促使原生质体出现酸性快速分裂。而谷瑞升等(1999)认为,植物愈伤组织的诱导、增殖及形态建成主要受外植体本身、培养基和培养环境三大因素的调控,植物生长调节剂对愈伤组织的诱导及分化具有十分复杂而重要的影响,在植物形态建成过程中,起主要作用的是培养基中生长调节剂组合的配比,本试验研究结果表明,培养基中生长调节剂组合的成分是诱导活血丹叶片愈伤组织极为重要的因素。在通常条件下生长素和细胞分裂素对诱导和保持愈伤组织的高速生长是必要的,特别是当生长素和细胞分裂素配合使用时,能有效地诱导愈伤组织的形成。生长素 2,4-D 在一定浓度范围内能有效促进活血丹叶愈伤组织的形成,这与 2,4-D 对唇形科另一植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bung)的脱分化效应影响是相同的(梁红等,1997),但随着其浓度增高(≥ 2.0

mg/L),诱导率下降。因此,生长素 2,4-D 对活血丹叶愈伤组织诱导率影响呈正态分布曲线。细胞分裂素 BA 在低浓度下(≤ 1.0 mg/L)与生长素配比能增加活血丹叶愈伤组织的诱导率。通过 MS 基本培养基配比不同浓度生长素和细胞分裂素的研究表明,MS+2,4-D(1.5 mg/L)+BA(1.0 mg/L)是活血丹愈伤组织诱导的最佳培养基,在此条件下,愈伤组织诱导率可高达 91.38%,形成愈伤组织无性系。

活血丹叶愈伤组织在继代培养过程中,在 2.0 mg/L 浓度 2,4-D 的培养基中出现部分褐化现象(图版 I:2,BC),这与陆地棉(*Gossypium hirsutum* L.)胚性愈伤组织继代培养中观察到的形态变异现象相同(王喆之等,1994),但王喆之等观察到褐色愈伤组织上长出新的灰色疏松状愈伤组织经 2~3 次继代后,产生了胚状体,而本试验在继代 3 次后未观察到胚状体的出现。至于其褐化部分,徐振彪等(1997)认为褐化的发生可分为两种形式:一是由于细胞受胁迫条件或其它不利条件影响所造成的细胞死亡(称为程序化死亡)或自然发生的细胞死亡(称为坏死)而形成的褐化现象,不涉及酚类物质的产生;二是因为酚类物质所引起。环境胁迫条件包括温度、2,4-D 浓度、培养基种类、继代次数、外植体接种于培养基中的放置方式、灭菌技术、光照、以及培养基中的附加成分等,本试验显示,2,4-D 浓度是影响活血丹叶愈伤组织继代培养过程中褐化现象的一个重要因素。另有报道,外植体的来源是植物组织培养过程中产生褐化现象的影响因素(周俊辉等,2000;王玖瑞等,2004),活血丹的外植体来源是否对其愈伤组织褐化有影响,我们尚在进一步研究之中。

活血丹丛生芽诱导试验显示出生长素 NAA 和细胞分裂素 BA 对比对活血丹匍匐茎克隆分株体的有效抑制,以至于活血丹带腋芽茎段和茎尖能顺利从叶腋诱导出大量不定芽。试验显示,NAA 和 BA 对丛生芽诱导率、增值效应和生长状况都起着重要的影响,当 NAA 浓度 0.1 mg/L,BA 浓度为 1.0 mg/L 时,丛生芽诱导率达 100%,增值效应最好,增值系数接近于 10,有利于活血丹生物量的积累。因此,0.1 mg/L 的生长素 NAA 与 1.0 mg/L 的细胞分裂素 BA 是其最佳丛生芽诱导增值激素配比,这与丹参快速繁殖中丛生芽的诱导具有极大的相似性(冯玲玲等,2004);但同是唇形科植物,活血丹丛生芽诱导最佳 BA 浓度却明显低于南丹参(*Salvia bowleyana*)的 2.0 mg/L(段英姿等,2003),与黄芩

(*Scutellaria baicalensis*) 所需激素浓度配比(高山林等, 2004)更是有着显著的不同, 这可能与同科不同种植物之间内源激素的差异性相关。

有文献报道, 施肥处理对活血丹植株根生长的影响较大, 而对地上部分影响较小, 在越贫瘠的土壤中, 根量越大, 这是同植株在贫瘠生境中对资源获取的效率相关联的(陶建平等, 2000)。本试验显示, 在试管苗生根诱导培养中, 植物激素对活血丹不定根的诱导生长影响同样是非常大的。前者从生态角度研究活血丹个体觅食行为的一种表现, 而本试验是从生理角度研究了外源激素对活血丹生理机制的影响。低浓度的生长素 IBA ($< 1.5 \text{ mg/L}$) 能与细胞分裂素搭配诱导不定芽生出健康粗壮的根, 这在伞形科植物积雪草 [*Centella asiatica* (Linn.) Urban] 植株再生试验中已经得到证实 (Patra 等, 1998), 本试验中 IBA 诱导活血丹生根效应与之相同, 在高浓度 IBA 下, 活血丹则显示出细弱的不正常根系。同时, 配比 KT 在诱导过程中起着相似的效应, 其浓度大于 1.0 mg/L 时同样产生不利的影响。这与其内源激素与外源生长素的协调机制相关, 内源激素与外源生长素的不协调致使活血丹根原基处于发育停滞状态, 而不能正常发育成根。

参考文献:

- 中华人民共和国卫生部药典委员会. 2000. 中华人民共和国药典 2000 年版(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社: 134—135
- 中国科学院植物研究所. 1974. 中国高等植物图鉴(第 3 册)[M]. 北京: 科学出版社, 8: 636
- 李俊明. 2003. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 12: 32—34
- 罗启剑, 祝德秋, 崔岚, 等. 2003. 分光光度法测定连钱草中熊果酸含量[J]. 药学服务与研究, 3(4): 268—269
- 郭勇, 崔堂兵, 谢秀祯. 2002. 植物细胞培养技术与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 6: 211—222
- 祝德秋, 罗启剑, 崔岚, 等. 2003. 连钱草中总黄酮的含量测定[J]. 药学服务与研究, 3(1): 62
- 徐振彪, 傅作申, 原亚萍, 等. 1997. 植物组织培养过程中的褐化现象[J]. 国外农学—杂粮作物, 1: 55—56
- Chu CC(朱至清). 2002. Contributions of chinese botanists to plant tissue culture in the 20th Century(二十世纪我国植物学家对植物组织培养的贡献)[J]. Acta Bot Sin(植物学报), 44(9): 1 075—1 084
- Duan YZ(段英姿), Niu YZ(牛应泽), Liu YZ(刘玉贞), et al. 2003. In vitro rapid propagation and induction of polyploidy with colchicines in *Salvia bowleyana*(南丹参离体快速繁殖与多倍体诱导)[J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 39(3): 201—205
- Feng LL(冯玲玲), Guo SJ(郭胜娟), Zhou SY(周诗毅), et al. 2004. Research on propagative technique of *Salvia miltiorrhiza* Bunge in vitro(丹参离体微繁殖技术研究)[J]. J Wuhan Bot Res(武汉植物学研究), 22(5): 463—468
- Gao SL(高山林), Chen BJ(陈柏君). 2004. Optimization on cloning rapid-propagation technology by tissue culture in *Scutellaria baicalensis*(黄芩组织培养快速繁殖技术的优化)[J]. Chin Trad Herb Drug(中草药), 35(3): 312—315
- Gu RS(谷瑞升), Jiang XN(蒋湘宁), Guo ZC(郭仲琛), et al. 1999. Advances in the studies on the mechanism of plant organogenesis in vitro(植物离体培养中器官发生调控机制的研究进展)[J]. Chin Bull Bot(植物学通报), 16(3): 238—244
- Liang H(梁红), He YQ(何宇清), Zhao J(赵洁). 1997. The effect of growth regulating substances on dedifferentiation and roots and buds differentiation from blade of *Salvia miltiorrhiza* Bunge(生长调节物质对丹参叶片脱分化及根芽分化的效应)[J]. J Central China Normal Univ(Nat Sci)(华中师范大学学报(自然科学版)), 31(3): 328—331
- Murashige T, Shoo F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures[J]. Physiol Plant, 15: 473—497
- Patra A, Rai B, Rout GR, et al. 1998. Successful plant regeneration from callus cultures of *Centella asiatica* (Linn.) Urban[J]. Plant Growth Regulation, 24: 13—16
- Tao JP(陶建平), Zhong ZC(钟章成). 2000. Morphological responses to different nutrient supply in the stoloniferous herb *Glechoma longituba*(匍匐茎草本活血丹在不同养分条件下的克隆形态)[J]. Acta Ecol Sin(生态学报), 20(2): 207—211
- Tian ZH(田志宏), Li XL(李小丽), Yan H(严寒), et al. 2004. Effect of different growth regulators on callus induction from explants in Creeping Dichondra(不同生长调节剂对马蹄金愈伤组织诱导的影响)[J]. Guihaia(广西植物), 24(3): 253—258
- Wang JR(王玖瑞), Liu MJ(刘孟军), Qi YF(祁业凤), et al. 2004. Studies on browning during immature embryo culture of Chinese jujube(*Ziziphus jujube* Mill.)(枣幼胚培养中褐化的研究)[J]. J Agric Univ Hebei(河北农业大学学报), 27(2): 45—47
- Wang ZZ(王喆之), Li KQ(李克勤), Zhang DL(张大力), et al. 1994. Variation and high frequency somatic embryogenic callus in *Gossypium hirsutum*(陆地棉胚性愈伤组织的变异及高频胚胎发生)[J]. Acta Bot Sin(植物学报), 36(5): 331—338
- Zhao DX(赵德修), Qiao CL(乔传令), Wang Y(汪沂). 1998. Cell culture and selection of high flavonoids producing cell lines in *Saussurea medusa*(水母雪莲的细胞培养和高产黄酮细胞系的筛选)[J]. Acta Bot Sin(植物学报), 40(6): 515—520
- Zhou JH(周俊辉), Zhou JR(周家荣), Zeng HS(曾浩森), et al. 2000. Advance of studies on browning and antibrowning techniques in the tissue culture of horticultural plants(园艺植物组织培养中的褐化现象及抗褐化研究进展)[J]. Acta Hort Sin(园艺学报), 27(增刊): 481—486
- Zu YG(祖元刚), Yu JH(于景华), Tang ZH(唐中华), et al. 2005. Possible mechanisms involved with the formation of leaf callus(植物叶片愈伤组织形成的可能机制)[J]. Bull Bot Res(植物研究), 25(1): 1—2