

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201307019

王瑛华, 石秋英, 陈雄伟等. 二花蝴蝶草的组织培养及植株再生[J]. 广西植物 2015, 35(2):250-254

Wang YH, Shi QY, Chen XW et al. Tissue culture and plant regeneration from *Torenia biniflora* [J]. *Guihaia* 2015, 35(2):250-254

二花蝴蝶草的组织培养及植株再生

王瑛华¹, 石秋英¹, 陈雄伟¹, 陈刚^{1*}, 金红²

(1. 肇庆学院 生命科学学院, 广东 肇庆 526061; 2. 深圳市仙湖植物园 科技部, 广东 深圳 518004)

摘要: 二花蝴蝶草 (*Torenia biniflora*) 为玄参科蝴蝶草属一年生植物, 分布于广东、广西等亚热带地区, 是一种观赏性较高的野生花卉。在自然生长条件下, 二花蝴蝶草繁殖速度慢、增殖率低, 而且花色和花型种类偏少, 无法满足市场多样化的要求。植物组织培养技术为观赏植物的品种改良和新品种选育提供了新途径, 目前蓝猪耳、蔓性蝴蝶草和单色蝴蝶草等蝴蝶草属植物的组织培养已获得成功, 但二花蝴蝶草的组织培养尚未见有相关报道。该研究以二花蝴蝶草全展叶片为外植体, 研究了培养基中添加不同种类和浓度植物生长物质对不定芽诱导和生长的影响, 以及离子强度和不同浓度 IBA 对生根的影响。根据不定芽的诱导率和平均芽数筛选出最佳不定芽诱导培养基, 并从生根率、平均根数和平均根长等方面筛选出最佳生根培养基。结果表明: 不定芽诱导与植物生长物质的浓度和种类有关, 以 MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹ 培养基的诱导效果最佳; 二花蝴蝶草生根的最佳基本培养基为 1/2MS, 不同浓度的 IBA 对二花蝴蝶草的生根影响也不相同, 其中以 IBA (0.05 mg·L⁻¹) 诱导不定芽的生根效果最佳。该研究建立了二花蝴蝶草的高频离体再生体系, 为二花蝴蝶草的快速繁殖和遗传转化研究奠定了基础。

关键词: 二花蝴蝶草; 不定芽; 不定根; 再生植株

中图分类号: Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2015)02-0250-05

Tissue culture and plant regeneration from *Torenia biniflora*

WANG Ying-Hua¹, SHI Qiu-Ying¹, CHEN Xiong-Wei¹,
CHEN Gang^{1*}, JIN Hong²

(1. College of Life Sciences, Zhaoqing University, Zhaoqing 526061, China; 2. Department of Science and Technology, Shenzhen Fairy Lake Botanical Garden, Shenzhen 518004, China)

Abstract: *Torenia biniflora* is a member of Scrophulariaceae *Torenia*, and it is an annual flowering plant that widely grows in Chinese subtropical area, such as Guangdong Province and Guangxi Zhuang Autonomous Region. *T. biniflora* is a wild flower with high great ornamental value. However, in natural growth condition, the reproduction speed of *T. biniflora* is slow, proliferation rate is low, and the kinds of flower colour and type are few, therefore, it is unable to meet the diversified need of market. Plant tissue culture technology provides a new way to improve and breed new varieties for ornamental plants. Up to now, a lot of members of *Torenia* plants have been successfully established *in vitro* regeneration system through tissue culture, such as *T. fournieri* Linden, *T. baillonii* Susie Wong and *T. concolor* Lindl. etc. While tissue culture for *T. biniflora* has never been reported. The main objective of this research was to establish *in vitro* regeneration system of *T. biniflora* through tissue culture and study the effects of plant growth substances such as IBA, 6-BA and NAA for clonal multiplication. In this study, we created a reliable protocol for regenerating *T. biniflora* plants in tissue

收稿日期: 2014-05-05 修回日期: 2014-09-17

基金项目: 肇庆市科技项目 (2008N001); 肇庆学院自然科学基金 (0731)。

作者简介: 王瑛华 (1979-), 女, 陕西商洛人, 博士, 讲师, 主要研究方向为植物细胞生理与逆境信号转导, (E-mail) wangyinghua_118@163.com。

*通讯作者: 陈刚, 博士, 副教授, 主要从事植物细胞工程和基因工程方面的教学与研究工作, (E-mail) chengang@zqu.edu.cn。

culture by using leaf explants. The effects of different concentrations and combinations of plant growth substances on adventitious bud induction and growth were studied, and the effects of different ionic strengths of media and concentrations of IBA on rooting were analyzed. According to a series of indices such as average number of buds, frequency of bud induction, frequency of rooting, average number of root and average length of root, the optimal media for inducing adventitious buds and rooting were screened respectively. The results showed that adventitious bud induction was related with the concentrations and combinations of plant growth regulator, and the optimal medium for buds induction was MS + 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The best medium for rooting was 1/2MS as basal medium with IBA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. In this study the *in vitro* plant reproductive system of *T. biniflora* with high frequency was completely established, and it would provide an important experiment foundation for the research of rapid propagation and genetic transformation for *T. biniflora*.

Key words: *Torenia biniflora*; adventitious buds; adventitious root; regenerated plant

二花蝴蝶草(*Torenia biniflora*)为玄参科蝴蝶草属植物,是分布于广东、广西等亚热带地区的一年生野生观赏花卉,叶片卵形,茎匍匐或上升,花冠黄色、稀白色而微带蓝,长约11 mm(中国植物志编辑委员会,1979)。黄白交错的精致小花给人精美、特别的视觉感受,具有较高的观赏价值。二花蝴蝶草与同属中的蔓性蝴蝶草(*T. baillonii*)一样,具有植株矮小易种植的特点,且花形精致特别,适合现代花园、花坛、盆栽和家庭吊篮种植,具有良好的市场前景。然而,在自然生长条件下,二花蝴蝶草以种子繁殖,繁殖速度慢、增殖率低;另外其花色和花型种类均偏少,无法满足市场多样化的要求。

植物组织培养技术为观赏植物的品种改良和新品种选育提供了新途径。迄今,蝴蝶草属植物仅有蔓性蝴蝶草(王瑛华等,2011)、蓝猪耳(Kobayashi *et al.*, 1995;陶均等,2004;王瑛华等,2007)、单色蝴蝶草(陈刚等,2007)和紫斑蝴蝶草(陈刚等,2009)的组织培养研究有报道,而二花蝴蝶草的组织培养尚未见相关报道。本研究以二花蝴蝶草叶片为材料,利用植物组织培养技术,研究二花蝴蝶草的适宜培养条件,为其快速繁殖和遗传转化奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 外植体消毒、接种及培养

二花蝴蝶草植株采自肇庆市鼎湖山国家级自然保护区。在晴天,选取植株带节茎段,用自来水冲洗0.5~1 h后,75%的酒精浸泡约30 s,转入0.1%升汞溶液中灭菌5~6 min,无菌水冲洗3~5次,接于1/2MS培养基中培养,待长出叶片后备用。

1.2 植物生长物质对不定芽诱导和生长的影响

取培养的无菌全展叶片,将其剪成0.5 cm × 0.5 cm的小块,分别接种在6-BA与NAA不同浓度组

合的MS培养基上。每组处理接8瓶,每瓶接4个叶片小块,于培养室进行光照培养, $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,每天光照14 h,光照强度: $30 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。观察不定芽分化状况,统计不定芽诱导率和平均芽数。

1.3 离子强度对二花蝴蝶草组培苗生根的影响

选取不定芽高约2 cm的二花蝴蝶草单芽,分别接种到MS、1/2MS、1/3MS和1/4MS等生根培养基中, pH6.2。每处理8瓶,每瓶4个小苗,观察根系生长状况,统计生根率、平均根数和平均根长。

1.4 不同浓度 IBA 对二花蝴蝶草组培苗生根的影响

将高约2 cm的二花蝴蝶草单芽接种于含不同浓度IBA的1/2MS培养基中, pH6.0。每个处理8瓶,每瓶4个小苗,观察根系生长状况、统计生根率、平均根数和平均根长。

1.5 二花蝴蝶草试管苗移栽

打开培养瓶的瓶盖,室温内炼苗2~3 d,小心取出,去除根上的培养基,移入塘泥和腐殖质(1:3)的混合基质中,湿度在70%~90%,温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,统计成活率。

2 结果与分析

2.1 植物生长物质对二花蝴蝶草不定芽诱导的影响

将二花蝴蝶草叶片分别接种在含不同浓度6-BA和NAA组合的6种MS培养基中,6 d叶片开始稍卷曲,9 d时,S1、S2和S3叶子边缘出现小突起,长到14 d时,可肉眼观察到芽点。接种后第21天以芽长大于0.5 cm为标准进行统计,结果发现6种培养基上芽分化率均超过90%(表1)。表1显示,单一使用6-BA进行不定芽诱导时,芽分化率与使用6-BA和NAA组合大致相当,但平均芽数相对较少;使用6-BA和NAA组合进行诱导时,诱导出的芽点较多,平均芽数比单一使用6-BA的多,诱导效果

更好。因此二花蝴蝶草不定芽诱导的最适培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹, 芽诱导率达 100% ,且不定芽的生长状态最佳。

表 1 不同浓度 6-BA 与 NAA 组合对二花蝴蝶草不定芽诱导的影响 (接种后 21 d)

Table 1 Effects of different concentrations and combinations of 6-BA and NAA on adventitious bud induction of *Torenia biniflora* (21 d after inoculation)

| 培养基 Medium | 植物生长物质 Plant growth substance | | 平均芽数 Average number of bud | 诱导率 Frequency of bud induction (%) |
|---------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|---|
| | 6-BA | NAA | | |
| | (mg · L ⁻¹) | (mg · L ⁻¹) | | |
| S1 | 0.5 | 0 | 6.72 ± 4.74 | 91 |
| S2 | 1.0 | 0 | 3.88 ± 3.47 | 94 |
| S3 | 2.0 | 0 | 8.24 ± 3.21 | 100 |
| S4 | 0.5 | 0.2 | 11.72 ± 7.01 | 100 |
| S5 | 1.0 | 0.2 | 4.24 ± 3.82 | 100 |
| S6 | 2.0 | 0.2 | 6.27 ± 2.99 | 100 |

注:以芽长大于 0.5 cm 为标准统计芽数。

Note: The buds longer than 0.5 cm were counted.

2.2 植物生长物质对二花蝴蝶草不定芽生长的影响

在 S1-S6 培养基上分化出的不定芽,有些不伸长或伸长缓慢,还有一些发生卷曲萎蔫,不能继续正常发育。接种后第 42 天以芽长大于 1.0 cm 为标准进行统计。观察发现大多芽的高度在 0.5 ~ 2.0 cm 之间,但不同培养基上的芽生长速度不同,其中 S1 和 S4 中芽长到 2.0 cm 需 45 ~ 49 d,而其他组则需要 49 d 以上。从表 2 可知,无论是单独使用 6-BA,还是使用 6-BA 和 NAA 组合,随着 6-BA 浓度的增加,芽长大于 1.0 cm 的不定芽个数逐渐减少,尤其是 S3 和 S6 培养基上不定芽的个数明显少于 S1 和 S4 上的,这说明高浓度的 6-BA 反而会抑制不定芽后期的进一步生长。因此,二花蝴蝶草不定芽后期生长的最适培养基与芽诱导培养相同,即 MS + 6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹。

2.3 离子强度对二花蝴蝶草组培苗生根的影响

从诱导的不定芽上切取约 2 cm 高的单芽,接种在不同离子强度的培养基中培养。观察发现接种到 1/2MS 和 1/3MS 培养基上的小苗,7 d 时可肉眼看到有根端形成,而 MS 和 1/4MS 培养基上的小苗则在 9 d 时才能观察到根的形成,14 d 时除 MS 外其他 3 组培养基上的生根率均超过 90%,21 d 时 4 种培养基上的生根率均达 100%。此时 MS 培养基上小苗平均根数为 1.33 条,根粗短,1/2MS 和

表 2 不同浓度 6-BA 与 NAA 组合对二花蝴蝶草不定芽生长的影响(接种后 42 d)

Table 2 Effects of different concentrations and combinations of 6-BA and NAA on the growth of adventitious bud of *Torenia biniflora* (42 d after inoculation)

| 培养基 Medium | 植物生长物质 Plant growth substance | | 平均芽数 Average number of bud | 诱导率 Frequency of bud induction (%) |
|---------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|---|
| | 6-BA | NAA | | |
| | (mg · L ⁻¹) | (mg · L ⁻¹) | | |
| S1 | 0.5 | 0 | 12.35 ± 5.70 | 100 |
| S2 | 1.0 | 0 | 6.21 ± 5.29 | 100 |
| S3 | 2.0 | 0 | 6.03 ± 3.77 | 100 |
| S4 | 0.5 | 0.2 | 13.59 ± 7.26 | 100 |
| S5 | 1.0 | 0.2 | 7.19 ± 4.17 | 100 |
| S6 | 2.0 | 0.2 | 4.72 ± 2.90 | 100 |

注:以芽长大于 1.0 cm 为标准统计芽数。

Note: The buds longer than 1.0 cm were counted.

1/3MS 培养基上的根均较粗长,根数差异不大(表 3),但 1/2MS 上的根长势更好且分布均匀,叶片舒展,植株较高,生长较快(图 1)。1/4MS 培养基比 1/3MS 培养基上小苗的根稍细短,植株也相对较矮(图 1)。MS 上的根短而粗,植株只见叶片长大,株高无明显增加。从表 3 看出,MS 培养基中离子强度太高或太低均会影响二花蝴蝶草根的生长,培养基中低离子强度也能促进根系形成,但过低离子强度会影响植株高度和整体生长速度。所以,综合考虑生根时间、根数、植株的生长速度和株高等指标,以 1/2MS 作为基础培养基的生根效果最佳。

2.4 不同浓度 IBA 对二花蝴蝶草组培苗生根的影响

将二花蝴蝶草的不定芽接种到含不同浓度 IBA 的 1/2MS 培养基上,10 d 可观察到 R2 和 R3 培养基上有白色根部突起形成,R1 上没有明显变化;14 d 可肉眼看到 R2 和 R3 上有不定根的形成。到第 21 天时,生根率达到 100%。由表 4 可知,各种培养基上的生根率差别不大,但 R2 的生根数目和长根的速度优于 R1 和 R3,且 R2 的植株较高、长势较好,生长也较快。通过比较可知,添加一定量的 IBA (< 0.05 mg · L⁻¹) 能明显促进根的生长,但 IBA 浓度过高时(>0.05 mg · L⁻¹) 反而不利于二花蝴蝶草根的生长。因此,添加 0.05 mg · L⁻¹ 的 IBA 最有利于二花蝴蝶草的生根培养。结合表 2 和表 3 的结果,得出二花蝴蝶草的最适生根培养基为 1/2MS + 0.05 mg · L⁻¹ IBA。

2.5 二花蝴蝶草的试管苗移栽

当二花蝴蝶草的试管苗长至 6 ~ 8 cm 时,先在室内开盖炼苗 2 ~ 3 d,然后取出小苗,洗净根上的培

表 3 培养基中不同离子强度对二花蝴蝶草组培苗生根的影响
Table 3 Effects of different ionic strengths of media on rooting of *Torenia biniflora*

| 接种后天数 (d) Days after inoculation | 培养基 Medium | 生根率 (%) Frequency of rooting | 平均生根个数 (个) Average number of root | 平均根长 (cm) Average length of root | 平均株高 (cm) Average height of plantlet |
|-------------------------------------|---------------|---------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|---|
| 14 | MS | 12.5 | 0.5 ± 0.58 | 0.23 ± 0.64 | 2.14 ± 0.25 |
| | 1/2 MS | 95.8 | 2.30 ± 1.02 | 0.46 ± 0.52 | 3.42 ± 0.46 |
| | 1/3 MS | 100 | 2.67 ± 1.01 | 0.30 ± 0.14 | 2.81 ± 0.29 |
| | 1/4 MS | 100 | 2.34 ± 0.88 | 0.27 ± 0.14 | 2.65 ± 0.31 |
| 21 | MS | 75.0 | 2.00 ± 0.65 | 0.30 ± 0.16 | 2.25 ± 0.18 |
| | 1/2 MS | 100 | 4.04 ± 1.27 | 0.79 ± 0.51 | 4.59 ± 0.66 |
| | 1/3 MS | 100 | 3.91 ± 1.02 | 0.64 ± 0.26 | 3.53 ± 0.53 |
| | 1/4 MS | 100 | 3.88 ± 1.33 | 0.63 ± 0.30 | 3.25 ± 0.43 |



图 1 MS 中不同离子浓度对二花蝴蝶草组培苗生根的影响

Fig. 1 Effects of different ionic strengths of media on rooting of *Torenia biniflora* A: MS; B: 1/2MS; C: 1/3MS; D: 1/4MS.

表 4 不同浓度 IBA 对二花蝴蝶草组培苗生根的影响
Table 4 Effects of different concentrations of IBA on rooting of *Torenia biniflora*

| 接种后天数 Days after inoculation (d) | 培养基 Medium | IBA 浓度 Concentration of IBA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | 生根率 Frequency of rooting (%) | 平均根数 (条) Average number of root | 平均根长 Average length of root (cm) | 平均株高 Average height of plantlet (cm) |
|--|---------------|---|------------------------------------|---------------------------------------|--|--|
| 21 | R1 | 0 | 100 | 4.13 ± 0.64 | 0.44 ± 0.21 | 4.45 ± 0.68 |
| | R2 | 0.05 | 100 | 4.50 ± 1.57 | 0.80 ± 0.15 | 4.63 ± 0.73 |
| | R3 | 0.1 | 100 | 4.08 ± 1.93 | 0.45 ± 0.18 | 4.22 ± 0.46 |
| 28 | R1 | 0 | 100 | 5.25 ± 0.71 | 0.78 ± 0.30 | 5.04 ± 0.79 |
| | R2 | 0.05 | 100 | 7.50 ± 0.76 | 0.89 ± 0.41 | 5.96 ± 1.32 |
| | R3 | 0.1 | 100 | 5.63 ± 1.19 | 0.81 ± 0.33 | 4.92 ± 1.24 |

培养基 移栽到塘泥与腐殖质 (1: 3) 的混合基质中, 保持湿度 70% ~ 90%, 控制温度 (25 ± 2) °C 和光照强度 $120 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 其成活率在 90% 以上, 移栽后可以开花结实 (图 2)。

3 讨论与结论

本研究首次建立了二花蝴蝶草的离体再生体系, 为其快速繁殖和遗传转化奠定了实验基础。6-BA 是启动细胞分化的主要植物生长物质之一。一般认为 6-BA 可以有效地诱导芽的萌发与不定芽增殖; 而低浓度的生长素可以促进茎的伸长。因此, 在

诱导不定芽时 6-BA 常被单独使用或者和 NAA 组合使用。陈菊等 (2006) 研究何首乌 (*Polygonum multiflorum*) 组织培养时发现 6-BA 为 $1.26 \sim 1.99 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA 和 $0.05 \sim 0.48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 不定芽的增殖数达到最优。本研究中, 使用 6-BA 和 NAA 组合对二花蝴蝶草进行不定芽诱导时, 效果比单一使用 6-BA 好, 表现为芽点较多, 诱导率更高。这与同属植物蓝猪耳 (王瑛华等, 2007) 和单色蝴蝶草 (陈刚等, 2007) 的研究结果类似。

6-BA 浓度对二花蝴蝶草不定芽早期诱导和后期生长都有重要影响。接种后 21 d 统计发现, 随着 6-BA 浓度的增加, 芽点增多, 诱导率升高; 但 42 d



图2 二花蝴蝶草试管苗移栽及开花

Fig. 2 Planting and flowering of *Torenia biniflora* in a pot

按照芽长大于 1.0 cm 的标准统计时,则发现随着 6-BA 浓度的增加,平均芽数呈现逐渐下降的趋势,同时出现不定芽卷曲、萎蔫、不能正常伸长等现象。这说明高浓度的 6-BA 不利于二花蝴蝶草不定芽后期的进一步生长。分析原因,可能是二花蝴蝶草通过自身对外源 6-BA 的吸收、积累,造成生长点的细胞分裂素含量增高,抑制了芽的进一步正常生长和发育,导致畸形芽的出现。这与大豆子叶节、番茄子叶和玉米幼胚的离体培养研究结果相似(李文霞等, 2007;李桂兰等, 2009;马庆等, 2008)。

培养基中离子强度会对组培苗的不定根诱导产生显著影响。例如, Fadel *et al.* (2010) 发现诱导留兰香 (*Mentha spicata*) 生根, 1/2MS 培养基效果最好, 平均根数和根长均优于 MS, 而 1/4MS 则无不定根形成。其他研究者也报道了降低培养基离子强度有利于植物离体培养中根的形成, 例如玫瑰 (Sauer *et al.*, 1985)、桉叶唐棣 (杜保国等, 2005) 和蔓性蝴蝶草 (王瑛华等, 2011)。本实验中, 降低离子浓度能很好地促进二花蝴蝶草试管苗不定根形成, 1/2MS、1/3MS 和 1/4MS 培养基诱导不定根的效果均优于 MS 培养基。但是离子浓度过低时 (1/4MS) 虽然也能够较好地诱导不定根的形成, 但随后不定根和整个植株的生长都受到明显影响, 表现为根较短且植株矮小。这可能是由于离子浓度过低, 不能为不定根后期生长提供足够充分的营养, 造成植株生长受到抑制。1/2MS 作为基本培养基时, 不定根的生长势较好, 与其他三组相比, 根数和根长都有明显优势, 故可认为 1/2MS 为二花蝴蝶草的最佳基本生根培养基。

在诱导的二花蝴蝶草组培苗不定根时, 添加适

量的外源植物生长物质 IBA 能够显著提高生根率和不定根以及试管苗的生长速度, 在培养后期的生长中作用尤其明显。但是, 当 IBA 的浓度大于 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时就会抑制试管苗生长, 造成根数减少、根粗短、植株矮小、长速慢, 这与同属中的蓝猪耳组培苗不定根诱导现象相似 (王瑛华等, 2007)。

植物生长调剂对二花蝴蝶草叶片离体培养不定芽的诱导和生长影响巨大, 诱导芽分化的最佳培养基为 MS + 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。植物生长物质及培养基中离子浓度则对二花蝴蝶草组培苗不定根再生具有决定性的作用, 不定根诱导的最适培养基为 1/2MS + IBA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

参考文献:

- Chen G (陈刚), Chen XW (陈雄伟), Wang YH (王瑛华). 2007. Tissue culture and rapid propagation of *Torenia concolor* Lindl. (单色蝴蝶草的组织培养和快速繁殖) [J]. *Plant Physiol Comm* (植物生理学通讯) **43**(3):499
- Chen G (陈刚), Wang YH (王瑛华), Chen XW (陈雄伟). 2009. Tissue culture and rapid propagation of *Torenia fordii* Hook. f. (紫斑蝴蝶草的组织培养和快速繁殖) [J]. *Plant Physiol Comm* (植物生理学通讯) **45**(3):273-274
- Chen J (陈菊), Chen GH (陈国惠). 2006. Study of the concentration of 6-BA and NAA in the rapid propagation of *Polygonum multiflorum* Thunb (6-BA 与 NAA 浓度对比对何首乌不定芽增殖的影响) [J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报) **22**(11):173-175
- Du BG (杜保国), Yang TX (杨途熙), Wei AZ (魏安智) *et al.* 2005. Tissue culture of *Amelanchier alnifolia* (桉叶唐棣组织培养研究) [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报) **25**(2):400-404
- Fadel D, Kintzios S, Economou AS *et al.* 2010. Effect of different strength of medium on organogenesis, phenolic accumulation and antioxidant activity of spearmint (*Mentha spicata*) [J]. *Open Hort* **3**:31-35
- Editorial Committee of Flora of China, CAS (中国科学院中国植物志编辑委员会). 1979. Flora of China (中国植物志). Second section (第2分册) [M]. Beijing (北京): Science Press (科学出版社):153-157
- Li GL (李桂兰), Qiao YK (乔亚科), Wu BY (武宝悦) *et al.* 2009. Optimization the hormones used in tomato cotyledon culture *in vitro* (番茄子叶离体培养中激素的优化) [J]. *J Agric Univ Hebei* (河北农业大学学报) **32**(5):27-30
- Li WX (李文霞), Ning HL (宁海龙), Li WB (李文滨) *et al.* 2007. Effect of 6-BA on regeneration of soybean cotyledonary node (6-BA 对大豆子叶节再生的影响) [J]. *Acta Nucl Agric Sin* (核农学报) **21**(5):502-505
- Kobayashi S, Amaki W, Higuchi H. 1995. Effects of medium pH on shoot growth and flowering of *Torenia internodal stem segments in vitro* [J]. *Acta Hort* **393**:135-142
- Ma Q (马庆), Qi LL (齐璐璐), Li XY (李晓玉) *et al.* 2008. Differentiation of leaf primordium in maize regulated by exogenous (下转第 249 页 Continue on page 249)

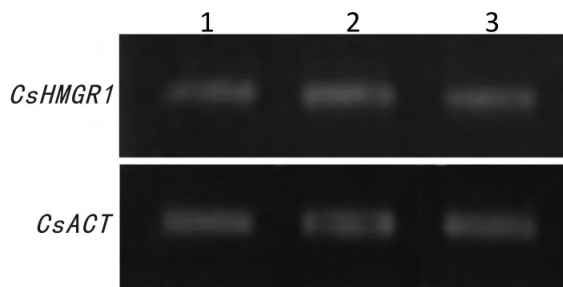


图 6 *CsHMGR1* 的组织表达分析

1. 大叶龙叶芽; 2. 母株叶芽; 3. 母株花芽。

Fig. 6 Tissue expression analysis of *CsHMGR1*

1. Leaf buds of *C. sinensis* cv. Dayelong; 2, 3. Leaf buds and floral buds of mother plants, respectively.

参考文献:

- Bochar DA, Stauffacher CV, Rodwell VW. 1999. Sequence comparisons reveal two classes of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase [J]. *Mol Genet Metab* **66**:122–127
- Dai Z, Cui GH, Zhou SF *et al.* 2011. Cloning and characterization of a novel 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene from *Salvia miltiorrhiza* involved in diterpenoid tanshinone accumulation [J]. *J Plant Physiol* **168**(2):148–157
- Friesen JA, Rodwell VW. 2004. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A (HMG-CoA) reductases [J]. *Genome Biol* **5**(11):2 481–2 487
- Goldstein JL, Brown MS. 1990. Regulation of the mevalonate pathway [J]. *Nature* **343**(6 257): 425–430
- Grochowski LL, Xu HM, White RH. 2006. *Methanocaldococcus jannaschii* uses a modified mevalonate pathway for biosynthesis of isopentenyl diphosphate [J]. *J Bacteriol* **188**(9): 3 192–3 198
- He ZR(贺志荣), Xiang W(项威), Xu Y(徐燕) *et al.* 2012. Progress in the research of biosynthesis of volatile terpenoids and their glycosides in tea plant(茶树挥发性萜类物质及其糖苷化合物生物合成的研究进展) [J]. *J Tea Sci(茶叶科学)* **32**(1):1–8
- Istvan ES, Deisenhofer J. 2000a. The structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase [J]. *Bioch Bioph Acta*, **1 529**:9–18
- Istvan ES, Palnitkar M, Buchanan SK *et al.* 2000b. Crystal structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase: insights into regulation of activity and catalysis [J]. *EMBO J* **19**(5):819–830
- Istvan ES, Deisenhofer J. 2001. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase [J]. *Science*, **292**(5 519):1 160–1 164
- Kelley LA, Sternberg MJE. 2009. Protein structure prediction on the web: a case study using the Phyre server [J]. *Nat Protoc* **4**:363–371
- Kuzuyama T, Hemmi H, Takahashi S. 2010. Mevalonate pathway in bacteria and archaea [J]. *Compr Nat Prod II: Chem Biol* **1**:493–516
- Ma L(马颢), Ding P(丁鹏), Yang GX(杨广笑) *et al.* 2006. Advances on the plant terpenoid isoprenoid biosynthetic pathway and its key enzymes(植物类萜生物合成途径及关键酶的研究进展) [J]. *Biotechnol Bull(生物技术通报)* Supp(增刊):22–29
- Rodríguez-Concepción M, Boronat A. 2002. Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics [J]. *Plant Physiol* **130**:1 079–1 089
- Rohmer M. 2007. Diversity in isoprene unit biosynthesis: the methylerythritol phosphate pathway in bacteria and plastids [J]. *Pure Appl Chem* **79**(4):739–751
- Roitelman J, Olender EH, Bar-Nun S *et al.* 1992. Immunological evidence for eight spans in the membrane domain of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase: implications for enzyme degradation in the endoplasmic reticulum [J]. *J Cell Biol* **117**(5):959–973
- Wass MN, Kelley LA, Sternberg MJ. 2010. 3DLigandSite: predicting ligand-binding sites using similar structures [J]. *Nucleic Acids Res* **38**:W469–473
- Xu LL(徐玲玲), Zhang MY(张美云), Li TJ(李同建) *et al.* 2009. Study on anatomy actin gene and molecular marker of tea cultivar Dayelong(大叶龙茶解剖学、肌动蛋白基因及分子标记的研究) [J]. *J Tea Sci(茶叶科学)* **29**(4):263–270
- Zhang CB(张长波), Sun HX(孙红霞), Gong ZJ(巩中军) *et al.* 2007. Plant terpenoid natural metabolism pathways and their synthases(植物萜类化合物的天然合成途径及其相关合酶) [J]. *Plant Physiol J(植物生理学通讯)* **43**(4):779–786
- Yu XY(于欣洋), Yue WJ(岳文杰), Li JH(李金辉) *et al.* 2008. Research progress on aromatic components of tea(茶叶香气研究进展) [J]. *Tea Sci & Technol(茶叶科学技术)* **3**:9–12
- Zhang ZZ(张正竹), Shi ZP(施兆鹏), Wan XC(宛晓春). 2000. Terpenoid substances and tea aroma(萜类物质与茶叶香气) [J]. *J Anhui Agric Univ(安徽农业大学学报)* **27**(1):51–54
- Zhou CH(周春华), Sheng YY(盛艳乐), Zhao DQ(赵大球) *et al.* 2009. Advances in the biosynthesis research of ginkgo terpenone lactones(银杏萜内酯的生物合成研究进展) [J]. *J Chin Med Mater(中药材)* **32**(6):994–999
- Wang YH(王瑛华), Chen G(陈刚), Chen XW(陈雄伟). 2007. Establishment of a high frequency efficient regeneration system from leaf in *Torenia fournieri* Linden(蓝猪耳叶片高频率再生体系的建立) [J]. *J Zhaoqing Univ(肇庆学院学报)* **28**(2):58–61
- Wang YH(王瑛华), Chen XW(陈雄伟), Chen G(陈刚) *et al.* 2011. Study on tissue culture and plant regeneration from *Torenia baillonii*(蔓性蝴蝶草叶片的组织培养及植株再生) [J]. *North Hortic(北方园艺)* **20**:121–124
- cytokinin(外源细胞分裂素对玉米叶原基分化的调控) [J]. *Acta Agron Sin(作物学报)* **34**(11):2 053–2 058
- Sauer A, Walther F, Preil W. 1985. Different suitability for *in vitro* propagation of rose cultivars [J]. *Gartenbauwiss* **3**:133–8
- Tao J(陶均), Li L(李玲). 2004. Study on the conditions of tissue culture and plantlet regeneration of *Torenia fournieri* L.(蓝猪耳组织培养和植株再生条件研究) [J]. *J S Chin Norm Univ:Nat Sci Ed(华南师范大学学报·自然科学版)* **4**:100–105

(上接第 254 页 Continue from page 254)