

药用植物红芽大戟的组织培养

陈芳清

(湖北三峡学院师范学院生物系, 宜昌 443000)

丘安机 徐祥浩

(华南农业大学生物系, 广州 510642)

摘 要 针对药用植物红芽大戟结实率和种子萌发率较低的情况, 探讨了利用组织培养方法解决生产中繁殖的问题。结果表明, 在茎、叶和芽3种外植体中, 芽的出愈率最高, 愈伤组织褐化率低, 生长最好, 且易被诱导出不定芽, 是较理想的快速繁殖材料; 而茎和叶的愈伤组织褐化率高, 难以诱导出不定芽。较适宜的诱导愈伤组织的激素组合是 $6-BA\ 2.0\ mg/L + NAA\ 0.4\ mg/L$, 诱导不定芽的适宜激素组合是 $6-BA\ 5.0\ mg/L + NAA\ 0.05\ mg/L$, 根的诱导则在 $1/2MS + NAA\ 0.2 + \text{蔗糖}\ 1.5\% + \text{琼脂}\ 0.8\%$ 培养基上进行。

关键词 红芽大戟; 组织培养; 愈伤组织; 不定芽

TISSUE CULTURE OF MEDICAL PLANT *KNOXIA VALERIANOIDES*

Chen Fangqing

(Teachers College, Hubei Three Gorge University, Yichang 443000)

Qiu Angi Xu Xianghao

(Department of Biology, South China Agriculture University, Guangzhou 510642)

Abstract Because the fruiting rate and germinative percentage of *Knoxia Valerianoides* are lower, tissue culture was explored to solve the propagating problem in the production. The results show that the bud is the best material in speeding propagation among the three explants (stem, leaf and bud) as it has the biggest inductivity, the best growth, the lowest brown percentage and it is easy to be induced adventitious buds. The brown percentage of the callus from stem and leaf is quite high and the callus is difficult to be induced adventitious buds in our experiment. The suitable phytohormone compositions to induct callus, adventitious buds and roots are respectively $6-BA\ 2.0\ mg/L + NAA\ 0.4\ mg/L$, $6-BA\ 5.0\ mg/L + NAA\ 0.05\ mg/L$, $1/2\ MS + NAA\ 0.2\ mg/L + \text{sugar}\ 1.5\% + \text{agar}\ 0.8\%$.

Key words *Knoxia valerianoides*; tissue culture; callus; adventitious bud

红芽大戟 (*Knoxia valerianoides* Thorel.) 属于茜草科红芽大戟属, 是一种分布于我国南方的多年生草本珍稀药用植物^[1,2], 由于原生地的植被退化及人工滥采乱挖, 野生资源数量急剧减少。广东省于1990年开始人工驯化栽培试验, 我们在野外调查及栽培试验中发现, 该植物的结

实率及种子萌发率较低^[1]，我们曾利用其根颈进行繁殖，虽然获得成功，但由于根颈的分蘖能力很低，根的长度小，致使繁殖系数以及药材收获率均较低，为此，我们采用了组织培养技术进行快速繁殖。

1 材料和方法

1.1 材料

材料为广东省阳西县鸡啼岭采取的野生植株，带土移栽于广州试验地，取其茎段（不带芽）、叶和芽作外植体。

1.2 培养基

基本培养基为 MS。按不同处理方案添加不同类型及浓度的激素，用 0.2 N KOH 和 0.2 N HCl 调节 pH 值为 5.8，然后在高压灭菌锅中高温（120℃）灭菌 20 min。

1.3 培养方法

取茎段、叶和芽为外植体，先用 70%酒精擦洗表面，再放入 0.1%升汞溶液中消毒 15 min，用无菌水冲洗 4~5 次，在超净工作台上将外植体切成 0.5 cm 长的小段接种于诱导愈伤组织培养基上，将培养出的愈伤组织切成小块接种于分化培养基上，最后将形成不定芽的块段移到生根培养基，以培育出试管苗。

表 1 不同激素组合对愈伤组织的影响

Table 1 Effect of different photohormone composition on the caus induction

激素组合(mg/L) Phytohormone Composition	茎 Stem		叶 Leaf		芽 Bud	
	出愈率 Inductivity	生长量 Growth amount	出愈率 Inductivity	生长量 Growth amount	出愈率 Inductivity	生长量 Growth amount
6-BA 1.0	44.4	小	0	无	22.3	小
6-BA 2.0	80.3	小	0	无	50.0	小
6-BA 3.0	75.0	小	0	无	100	小
6-BA 2.0+NAA 0.5	100	大	88.9	中	100	大
6-BA 2.0+NAA 0.25	100	大	40.7	小	100	大
6-BA 2.0+NAA 0.1	100	小	0	无	100	小
6-BA 2.0+NAA 0.2	100	中	0	无	100	中
6-BA 2.0+NAA 0.4	100	大	100	中	100	大

1.4 观察

分别每过 5 d，观察记录不同处理的生长状况。

2 结果与讨论

2.1 愈伤组织的诱导

红芽大戟的茎段、叶和芽形成愈伤组织的能力不一样（表 1）。经多种激素组合试验结果表明，愈伤组织出愈率以芽最高，茎次之，而叶片形成愈伤组织的能力最差，虽然能通过改变激素种类与浓度来调节叶的出愈率，但其愈伤组织的生长量仍较低，愈伤组织较紧密，易褐化枯死。

从表 1 中可以看出，激素在促进愈伤组织形成以 6-BA 2.0 mg/L 左右为宜，NAA 则以 0.4 mg/L 左右为宜。该组合下诱导的愈伤组织出愈率高，生长量多，且较疏松、难褐化。

芽是一种特殊的外植体，许多植物的快速繁殖都以它为培养材料^[3~5]。红芽大戟的芽在培养过程中既能形成愈伤组织、叶片，又能分化出一些不定芽，形成芽丛。其生长状况与 NAA 浓度有关。在缺少 NAA 时，当 6-BA 为 2.0 mg/L，能促使芽生长出大量叶片，当 NAA 为 0.4 mg/L 时，除生长一些叶片外，芽切口处还产生大量愈伤组织；NAA 为 0.2 mg/L 时，除产生愈伤组织外，还分化出不定芽，形成芽丛。

2.2 诱导不定芽及生根

由茎段、叶和芽培养出的愈伤组织转到新培养基上继代培养，生长状况差异较大（表 2）。

由茎段、叶培养出的愈伤组织在低浓度的 6—BA 培养基中增长量较小, 易褐化, 但不定根的分化率较高; 在高浓度的 6—BA 培养基中, 愈伤组织的生长量较大, 但不定根的分化率较低。在所有 6—BA 与 NAA 的激素组合中, 茎段和叶的愈伤组织均未能分化出不定芽。

芽的愈伤组织在继代培养中既能分化出不定根又能分化出不定芽。实验表明, 在高浓度的 6—BA、低浓度的 NAA 组合中, 不定芽的分化率最高。当 6—BA 为 3.0 mg/L, NAA 为 0.05 mg/L, 不定芽的诱导率为 57.1%, 平均每块分化出 3.1 个不定芽; 而当 6—BA 为 5.0 mg/L, NAA 为 0.05 mg/L

表 2 不同激素组合对愈伤组织幼苗分化的影响

激素组合 (mg/L) Phytohormone Composition	Seedling differentiation of callus			
	茎愈伤组织 Stem Callus	芽愈伤组织 Bud callus		叶愈伤组织 Leaf callus
	根诱导率% Frequency of root induction	根诱导率% Frequency of root induction	芽丛诱导率% Frequency of bud clump induction	根诱导率% Frequency of root induction
6—BA1.0 NAA0.02 + 2—BA 0.01	46.7	46.4	9.5	38.9
6—BA2.0+NAA0.2	64.3	69.7	28.9	78.0
6—BA0.5+NAA0.1	13.5	41.2	16.7	20.4
6—BA2.0+NAA0.1	66.7	50.0	33.4	33.2
6—BA5.0+NAA0.05	19.0	33.3	100	0
6—BA3.0+NAA0.4	31.3	6.7	5.9	12.1
6—BA3.0+NAA0.2	30.7	8.2	13.9	
6—BA3.0+NAA0.05	36.4	44.4	57.1	

时, 不定芽的诱导率为 100%, 每块平均分化出 4.3 个不定芽。不定根的分化率为 33.4%。

培养产生的不定芽转入生根培养基 (1/2 MS+NAA 0.2+蔗糖 1.5%+琼脂 0.8%) 进行培养, 不定根的诱导率达 90% 以上。

2. 3 试管苗移栽

把培养出的试管苗移到室温放置 5~7 d, 然后打开瓶盖炼苗 2~3 d, 再洗净根部培养基移栽到经 0.2% 高锰酸钾消毒的细河砂中, 保温保湿培养 10 d (温度 18~24 ℃, 湿度 90% 左右), 再移入沙土培养, 待小苗长出 3~4 个小叶片后便可移栽到大田。

3 小 结

红芽大戟的茎段、叶和芽在不同激素组合的培养基上的出愈率不一样。以芽的愈伤组织生长最好, 而叶最难诱导, 且易褐化。培养愈伤组织最好的激素组合是 6—BA 2.0 mg/L+NAA 0.4 mg/L。

在继代培养中, 茎段、叶的愈伤组织能进一步增殖并产生不定根, 但不能形成不定芽。只有芽的愈伤组织能形成不定芽。其原因待进一步研究。芽是快速繁殖红芽大戟较理想的材料, 它的出愈率高, 愈伤组织生长量大, 且不易褐化。用它的愈伤组织在 6—BA 5.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L 的 MS 培养基上能分化出较多的不定芽。把培育出的不定芽再转入生根培养基, 可培养出试管苗。本研究对于扩大红芽大戟的生产, 保护野生药用植物资源有积极的意义。

本研究得到了广东省医药总公司的支持, 特此致谢。

参 考 文 献

1 陈芳清, 徐祥浩. 药用植物红芽大戟的个体生态学研究. 武汉植物学研究, 1995 13 (2): 147~151

2 《全国中草药汇编》编写组. 《全国中草药汇编》(上册). 北京: 人民卫生出版社, 1975, 382~383

3 黄敏玲, 陈诗林. 透百合离体快速繁殖. 植物生理学通讯, 1993, 29 (6): 437

4 周 纯, 田惠桥. 濒危植物毛茛泽泻的组织培养. 植物生理学通讯, 1994, 30 (4): 277

5 范双喜, 解淑贞. 石刁柏茎尖及茎段培养. 植物生理学通讯, 1994, 30 (5): 359

6 兰 涛, 金建平, 顾烟. 二叉鹿角蕨茎顶的组织培养. 植物生理学通讯, 1993, 29 (1): 49

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.