

线纹香茶菜的组织培养与快速繁殖

黄珊珊, 陈瑜珍, 卢晓君 (广东食品药品职业学院, 广州 510520)

Tissue Culture and Rapid Propagation of Rabdosia lophanthoides

HUANG Shanshan, CHEN Yuzhen, LU Xiaojun

摘 要:[目的]研究线纹香茶菜($Rabdosia\ lophanthoides$) 离体快繁过程,获得相关快繁技术,为优良品种的培育奠定基础。[方法]以线纹香茶菜带茎尖或腋芽的茎段为外植体,进行彻底消毒,采用 MS 基本培养基,附加不同激素浓度的 BA 或不同浓度的 MS 培养基进行试验。[结果]低浓度($0\sim1~mg/L$)的 BA,可促进出芽;BA 浓度为1~mg/L 较为适宜,出芽率高达 100%,且出芽数量多;BA 浓度高于 3~mg/L 时,抑制出芽而促进愈伤组织的形成。生根培养基选择 1/2~MS+NAA~0.2~mg/L,生根率为 90%,且根系较粗壮。试管苗移栽,成活率为 90%。[结论]线纹香茶菜组培前的消毒处理较为关键,通过较彻底地消毒方法可保证无菌苗的获取,从而得到较高的快繁率,构建有效的离体再生体系。

关键词: 线纹香茶菜;组织培养;快速繁殖

DOI 编码: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2019.01.133

中图分类号: S 567.23+9 文献标志码: A

文章编号: 1001-4705(2019)01-0133-03

唇形科(Lamiaceae)香茶菜属(Rabdosia)植物线纹香茶菜[Rabdosia lophanthoides(Buch.—Ham.ExD.Don)H.Hara],是中药溪黄草的主要基原植物之一,为民间习用草药,主产于云南、四川、江西、湖南、湖北、广东、广西、福建等省区[1]。常生于山谷中阴凉潮湿的溪流旁,其新鲜叶片揉碎后汁呈黄色而得名[2]。其性味苦、寒,归肝、胆经,具有凉血散瘀、清热利湿、退黄等功效,主要用于治疗急性胆囊炎、黄疸型肝炎、湿热痢疾、肠炎、跌打瘀肿等。在广东各地应用普遍,是著名的岭南特色中药材。现已开发出多种保健品和中成药,如消炎利胆片、复方胆通胶囊、溪黄草冲剂、溪黄草袋泡茶等,对护肝利胆、抗肿瘤有着显著的作用。此外,溪黄草是广式凉茶的重要成分,是岭南地区的居民较常饮的凉茶之一[3]。

线纹香茶菜通常以扦插繁殖,由于扦插繁殖系数低,后代性状不稳定等制约了线纹香茶菜的推广与发

展。利用组培离体快繁技术,不仅能保持优良品种的特性,而且能实现优良品种在短期内迅速地推广种植,满足市场需求。本试验采用植物组织培养技术对线纹香茶菜进行无菌试管苗快速繁殖研究,可为工厂化育苗提供技术参考,也为线纹香茶菜的进一步开发与利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料

研究材料为 2017 年 4 月采集于广东食品药品职业学院引种园的线纹香茶菜(R.lophanthoides)栽培植株的茎尖或腋芽的茎段。由中国科学院华南植物园鉴定专家叶华谷教授鉴定。凭证标本存于广东食品药品职业学院标本馆。

1.2 方 法

采用 MS(Murashige and Skoog)基本培养基^[4],根据试验要求设置以下几种培养基:

不定芽诱导和增殖培养基: 1) MS+6-BA 0 mg/L; 2) MS+6-BA 0.5 mg/L; 3) MS+6-BA 1.0 mg/L; 4) MS+6-BA 2.0 mg/L; 5) MS+6-BA 3.0 mg/L。 生根培养基: 6) MS+NAA 0.2 mg/L; 7) 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L。 每个培养基均加入 0.7%的琼脂和 4%的蔗糖,pH=5.9。培养温度 $25\sim27$ °C,光照强度为 $28\sim35~\mu$ mol/(m²·s),光照时间为 12~h/d。

将裁剪成 $1\sim2$ cm 的茎尖或带节茎段装入烧杯中清洗,先用自来水清洗 $2\sim3$ 遍,滴入 $2\sim3$ 滴洗洁精混匀后再清洗 $1\sim2$ 次;然后用自来水清洗 $2\sim3$ 次初步去除洗洁精残液,再用约 2 滴吐温 80 与自来水混匀,使材料浸泡其中,再用自来水彻底清除洗洁精残液。然后将材料装入干燥、无菌的消毒瓶中,在超净工作台上用 0.1%升汞消毒 10 min,无菌水清洗 5 次 [5] ,稍晾干,接种于增殖培养基 1) 、(2) 、(3) 、(4) 和 (5) 上。

收稿日期 · 2018-07-28

基金项目:广东省科技计划应用重点专项(2016 B 020239004);广东省中医药局项目(20181189)。

作者简介:黄珊珊(1981—),女,江西宜春人:副主任中药师,博士,研究方向:药用植物、植物结构发育与分子生物学等; E-mail:huangss@gdyzy.edu.cn。



2 结果与分析

2.1 不定芽的诱导和增殖

接种约 13 d f. 陆续形成丛生芽。利用纯 MS 培养基培养的外植体出芽率为 70.0%,当外加 BA 一定浓度范围内,出芽率随着 BA 浓度的升高而增加。BA 浓度为 0.5 mg/L 时出芽率为 95.6%; BA 浓度为 1 mg/L以上时,出芽率均为 100%。

单个外植体诱导芽的数量与 BA 浓度有着直接的联系。BA 浓度为 0 mg/L 时, 芽数为 $2\sim3$ 个, BA 浓度为 0.5 mg/L 时, 芽数达 6 个以上; BA 浓度为 1 mg/L时, 芽数达 7 个以上; BA 浓度为 2 mg/L 时, 出 芽数仅 $4\sim5$ 个; BA 浓度为3 mg/L时, 出 芽数仅 $4\sim5$ 个; BA 浓度为3 mg/L时, 出 芽数仅 $3\sim4$ 个(表 1), 且后 2 种 BA 浓度长出的芽矮小, 叶色淡绿, 生长明显受抑制。 说明线纹香茶菜外植体附加 BA 的浓度,在一定低浓度($0\sim1$ mg/L) 范围内, 随着 BA 浓度的增加, 对出芽数有一定的促进作用; 但 BA 浓度高于 3 mg/L 时, 出芽数反而下降, 且对出芽生长有一定的抑制作用。因此, MS 附加 1 mg/L BA, 对芽的诱导与生长较为适宜。

接种约 30 d 后在培养基 3)上的外植体再进行增殖培养,增殖系数为 4~5;接种在培养基 4)上的外植体能产生更多的芽,但是在幼苗基部形成的愈伤组织较松脆,易玻璃化。而培养基 5)上的外植体形成的愈伤更明显,但大部分呈现白色玻璃化状。说明线纹香茶菜组织培养过程中外植体对激素较为敏感,比较容易形成玻璃化苗,而相对较高浓度的 BA 在一定程度上可促进愈伤组织的生成。

表 1 不同 BA 浓度对出芽的影响

6-BA 浓度 (mg /L)	外植体数 (个)	出芽率 (%)	单个外植体诱导芽的数量 (个)
0	33	70.0	2~3
0.5	35	95.6	$6\sim7$
1.0	41	100	$7\sim 10$
2.0	40	100	$4\sim5$
3.0	37	100	3~4

2.2 生根培养

将高约 4 cm、生长较健壮的无根苗接种到生根培养基 6)、7)上诱导生根。约 15 d 后幼苗基部开始长根,生根率分别是 30%及 90%。培养基 6)生长得根系细长;培养基 7)生长的根系较粗,每苗有 $3\sim5$ 条(图 1)。

2.3 试管苗的移栽

组培苗移栽前,先将瓶盖打开置于室温下炼苗约1周后,将幼苗取出,清除掉残余的培养基质,选择阴

天傍晚的时候,种于小型温室中的育苗床中(选用含较多腐殖质的土壤,且用0.1%多菌灵灭菌),保温、保湿、喷雾浇灌,直到长出新根为止。小苗成活率达90%以上(图2)。



图 1 线纹香茶菜组培苗



图 2 线纹香茶菜移栽成活的组培苗

2.4 其它因素

迄今为止,线纹香茶菜组织培养未见有成功的报道,仅在中药溪黄草另一基原植物溪黄草(R.serra)有相关报道^[6]。在进行线纹香茶菜的组培实验过程中,不定芽诱导极易污染,这很可能是因为线纹香茶菜叶和茎表面布满大量的红色腺点^[7],难以彻底消毒造成的。因此,本实验在前期对线纹香茶菜进行较为繁琐的清洗,目的就是为了降低线纹香茶菜离体培养的污染率。