

· 试验研究 ·

山麦冬的组织培养与快速繁殖

李勇慧, 化文平, 李向民

(陕西师范大学生命科学院, 陕西 西安 710062)

提 要:取幼嫩叶片做为外植体, 在不同激素浓度的培养基中诱导形成愈伤组织、不定芽、不定根及完整植株。结果: 诱导形成愈伤组织的最佳培养基是: MS + 6-BA 2 mg/l + NAA 0.2 mg/l; MS + 6-BA 2 mg/l + NAA 0.5 mg/l; MS + 6-BA 2 mg/l + NAA 1 mg/l; 诱导不定芽分化的最佳培养基是: MS + 6-BA 2 mg/l + NAA 0.2 mg/l; 最佳生根培养基是: 1/2 MS + NAA 0.3 mg/l。

关键词:山麦冬; 组织培养; 快速繁殖

山麦冬为百合科 *Liliaceae* 山麦冬属 *Liriope* 多年生草本植物, 花淡紫色或淡蓝色, 花期 5~8 月, 果期 8~10 月。民间以其块根入药, 性甘微苦、寒, 具有养阴润肺、清心除烦、益胃生津的功能, 主要用于治疗肺燥干咳、吐血、咯血、肺痿、肺癰、虚劳烦热、消渴、热病津伤、咽干口渴、便秘等症^[1~4]。山麦冬 *Liriope spicata* 在性味、功能、主治等方面与麦冬 *Ophiopogon japonicus* 极为相似, 《中国药典》对二者均有收载^[5, 6], 近年来, 山麦冬已逐渐替代中药麦冬成为药材市场的主流品种。此外, 山麦冬也常用作园林绿化草种, 在城市道路两旁、公园、校园等场所多见栽培观赏。但是, 由于其用药部位以块根为主, 加之种子繁殖受季节的限制, 自然资源破坏严重。因此, 采用组织培养的方法可以获得大量获得种苗, 以供快速繁育栽培。与前人文献相比^[1, 3], 笔者首次以叶片为材料, 成功建立了器官发生和植株再生体系, 对其规模化和商品化生产开发, 并为利用生物技术改良其品质, 建立无病毒株系等均有一定的参考价值。百合科的一些种属的组织培养已有报道^[7, 8], 但山麦冬未见报道, 尤其以叶片为外植体进行离体培养实属此种首例。

1 材料与方法

1.1 材料

山麦冬 (*Liriope spicata* (Thunb.) Lour.), 又名大叶麦冬、土麦冬, 采于陕西西安, 经陕西师范大学生命科学院植物分类教研室鉴定。

1.2 培养基

以 MS 为基本培养基, 蔗糖浓度为 3%, pH

5.8~6.0, 用约 0.7% 琼脂固化, 分装后 115℃ 条件下灭菌 25min。

1.3 外植体的消毒

取生长旺盛的山麦冬植株, 自其叶基部剪取新生的幼嫩叶片, 用毛刷刷洗叶片, 并用 0.1% 的洗衣粉溶液浸泡 20min, 之后用自来水冲洗约 2h, 在超净工作台上先用 75% 的酒精处理约 30~40s, 再转入 0.1% 的 HgCl₂ 溶液处理 8~9min, 无菌水冲洗 5 次, 以无菌滤纸吸干叶片表面水分, 用解剖刀分别从叶片基部、中部及顶部切取 0.7cm×0.7cm 的叶片小块, 然后接种。

1.4 培养条件

将幼嫩的叶片基部及叶片中部和顶部的切块接种到不同培养基上, 基本培养基为 MS 培养基, 附加不同种类激素、3% 蔗糖、0.7% 琼脂粉, pH 5.8~6.0。生根培养基为 1/2MS 培养基。各分化阶段在培养基中添加的激素种类及浓度见表 1~3, 培养温度为 (25±2)℃, 光照时间 12h/d, 光强度为 2 000 lx。

表 1 激素对山麦冬愈伤组织诱导的影响

编号	愈伤组织培养基			生长情况
	6-BA (mg/l)	NAA (mg/l)	IBA (mg/l)	
1	2.0	0.2		增殖较快
2	2.0	0.5		增殖较快
3	2.0	1.0		增殖较快
4	2.0		0.2	生长较为缓慢
5	2.0		0.5	生长较为缓慢
6	2.0		1.0	生长较为缓慢

注: 基本培养基 MS。

表2 激素对山麦冬芽分化的影响

编号	芽分化培养基		芽生长情况
	6-BA (mg/l)	NAA (mg/l)	
1	2.0	0.2	愈伤组织不再增殖,丛生芽分化较多,且较均匀。
2	2.0	0.5	愈伤组织不再增殖,丛生芽分化较少,且不均匀。
3	2.0	1.0	愈伤组织增殖缓慢,有小芽出现,但不形成芽丛。

注:基本培养基 MS。

表3 激素对山麦冬根的影响

编号	生根培养基		生根率 (%)	根生长情况
	6-BA (mg/l)	NAA (mg/l)		
1	0	0.1	40	根生长较慢
2	0	0.3	90	根生长较快
3	0	0.5	60	根生长较慢

注:基本培养基 1/2MS。

2 结 果

2.1 愈伤组织的诱导及增殖培养

接种到6种培养基的外植体,11 d后,叶片切口处接触培养基的部位开始膨大肿胀,初期为白色,18 d后,转为淡黄色、质地紧密的愈伤组织,28 d左右出现少量绿色颗粒状物,并不断扩大。以后每10 d继代一次,以获得大量愈伤组织。培养基4号、5号、6号中愈伤组织生长较为缓慢,培养基1号、2号、3号上的愈伤组织增殖较快,30 d后,愈伤组织可增殖2.5倍,并在继代过程中出现少量芽的分化,适于作芽诱导培养基。

2.2 不定芽的分化及增殖培养

将培养基1号、2号、3号中的绿色颗粒状愈伤组织切成小块转接到相同培养基上进行不定芽分化培养,培养10d后,愈伤组织上有不定芽分化,再培养20d后形成大量丛生芽。1号培养基效果最佳,愈伤组织不再增殖,分化的小芽多而均匀。将芽丛分切成小芽丛,在1号培养基上进行继代培养,每10d继代一次,3代后,不定芽增殖系数可达2~3。

2.3 生根培养

将丛生不定芽分切为单芽,接种于1号、2号、3号培养基上,7d后开始生根,15d时均产生4~5条根,25d后,根平均长度2~2.5cm,以2号培养基的效果最佳,生根率达90%以上,且根粗壮,植株生长旺盛。

2.4 炼苗与移栽

将生根试管苗的玻璃瓶置于室温自然光(避免太阳光直射)下打开瓶口炼苗3 d,然后小心取出试管苗,洗净基部培养基,栽植于含水量为60%的蛭石育苗盘中,喷洒1:700的多菌灵溶液,保持适当的温湿度,2周后,苗成活率达98%以上。

3 讨论与结论

(1)以山麦冬叶片为外植体,产生的愈伤组织,继而分化成苗的途径,繁殖系数大,有一定的应用价值。

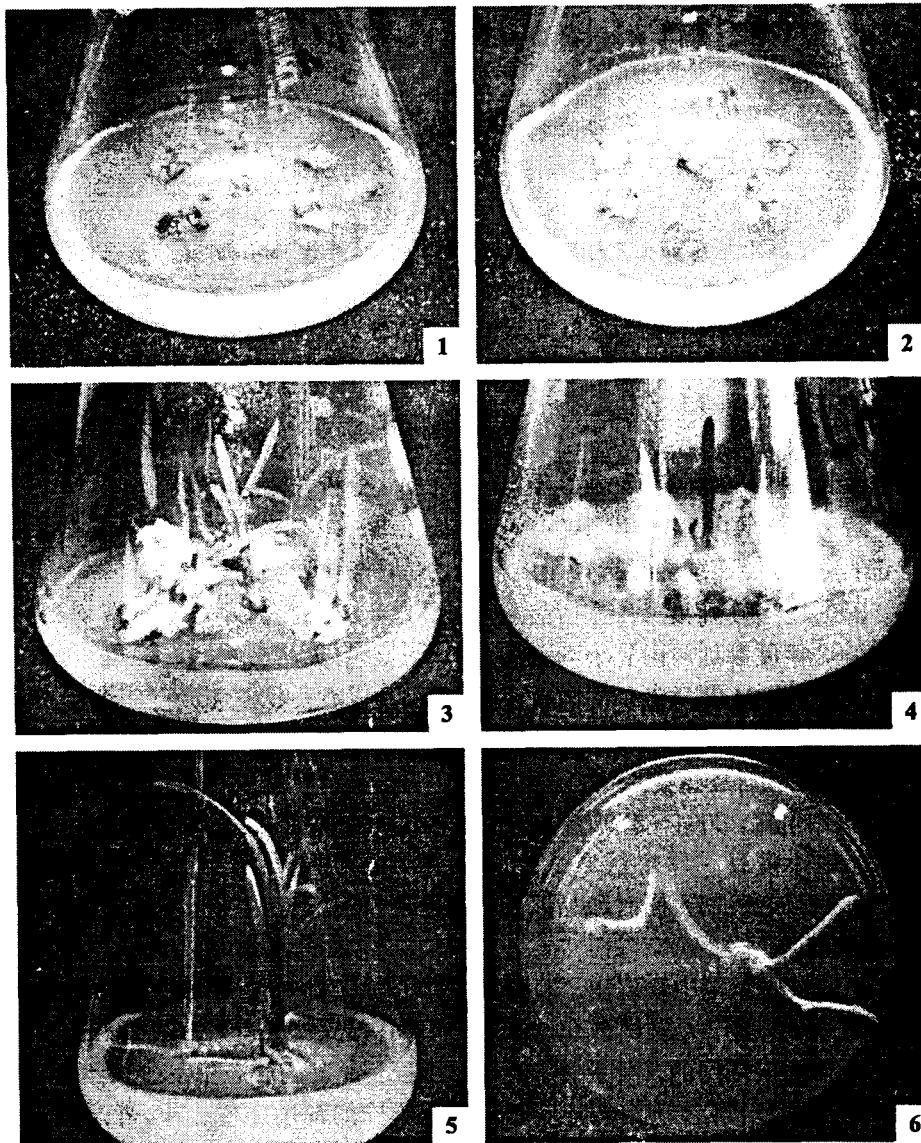
(2)目前,麦冬和山麦冬的组织培养已有报道^[1-3],本研究首次以叶片为材料,成功建立了器官发生和植株再生体系。

(3)诱导山麦冬叶片形成愈伤组织的最佳培养基是:附加2 mg/l 6-BA、0.2 mg/l NAA;附加2 mg/l 6-BA、0.5 mg/l NAA;附加2 mg/l 6-BA、1 mg/l NAA和3%蔗糖的MS培养基,所含细胞分裂素与生长素的比例分别为10:1、4:1、2:1;诱导不定芽分化的最佳培养基是:附加2 mg/l 6-BA、0.2 mg/l NAA和3%蔗糖MS培养基;在附加0.3 mg/l NAA和3%蔗糖的1/2MS培养基上最终诱导生根。

(4)生根试管苗炼苗3 d后栽植于含水量为60%的蛭石育苗盘中,2周后,苗成活率达98%以上。

参 考 文 献:

- [1]别运清,等. 麦冬的组织培养与快速繁殖[J]. 农村经济与科技, 2001, 12 (103): 23.
- [2]陈崇兵. 麦冬与其混淆品及伪品的鉴别[J]. 时珍国医国药, 2003, 14 (11): 672.
- [3]林美爱,等. 山麦冬组织培养技术的研究[J]. 中药材, 2004, 27 (12): 893~894.
- [4]赵冰清. 麦冬与山麦冬的鉴别[J]. 湖南中医杂志, 2003, 19 (1): 53~54.
- [5]国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [6]国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [7]许宝辉. 百合子房组织培养研究[J]. 西南科技大学学报, 2003, 18 (3): 65~67.
- [8]赵庆芳,等. 东方百合组织培养和快速繁殖研究[J]. 西北师大学报, 2003, 39 (1): 66~68.



图版说明:1—2 山麦冬叶片形成愈伤组织;3—4 丛生不定芽;5 再生植株;6 山麦冬试管苗再生不定根

●小常识●

提高肥效的“四种”新技术

1、有无结合。有机肥料与无机肥料结合施用。农家肥称为有机肥,它的养分齐全,肥效持久;化学肥称为无机肥,它的养分单一,含量较高,见效又快。在农业施肥技术上必须将有机肥与无机肥两者配合施用,取长补短,提高肥效。将人畜粪与氯化铵、过磷酸钙、氯化钾进行配合施用,比单施等量肥料增产10%~15%。

2、配方施肥。将氮、磷、钾与微量元素配合施用,叫配方施肥。据试验,单施尿素,氮的利用率为30%~38%,而配方施用,氮的利用率提高58%~60%,单施磷肥、五氧化二磷的利用率为12%~14%,进行配方施用,利用率提高35%~38%;单施氯化钾利用率只有31%~35%,配方施用,利用率提高57%~61%。

3、氮肥深施。氮素化肥进行深施能有效地防止养分流失,提高氮素利用率。据试验:碳酸氢铵撒施,氮的利用率为28.6%,进行深施,氮的利用率提高到58.6%;尿素撒施,氮的利用率为42%,进行深施,氮的利用率提高到80%以上,特别是碳铵进行撒施,极易造成作物烧苗和中毒。

4、集中施用。将有限的肥料优先施于中低产田。据试验:将同等量的5kg尿素和氯化钾同时施在高产田、中产田、低产田三种类型的田里,增产效果大不一样,平均每施1kg尿素,高产田增产稻谷3.5kg,中产田增产稻谷5.8kg,低产田增产稻谷8.8kg。