

·栽培与育种·

明党参快速繁殖研究

谷巍,吴启南*,巢建国,陈建伟

(南京中医药大学药学院,江苏南京 210046)

摘要 目的:为明党参种质资源保护。方法:用组培快速繁殖。结果:选出最佳外植体为叶片,适宜形成愈伤组织的培养为 MS + 2,4-D 1.0 mg/L + Kt 1.0 mg/L;适宜芽分化培养基为 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L;适宜生根培养基为 MS + BA 0.4 mg/L 或 MS + NAA 0.4 mg/L。结论:通过组织培养,初步建立了明党参的快速繁殖系,为这一珍稀濒危药用植物资源可持续利用提供了有效途径。

关键词 明党参;组织培养;快速繁殖

中图分类号:R282.2 文献标识码:A 文章编号:1001-4454(2008)02-0179-02

Study on Rapid Propagation of *Changium myrsinoides*

GU Wei, WU Qi-nan, CHAO Jian-guo, CHEN Jian-wei

(College of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

Abstract Objective: For the protection of *Changium myrsinoides* Wolff germ-plasm resources. Methods Rapid propagation was conducted by tissue culture. Results The best explants were leaves. The optimum culture medium for the induction of callus was MS + 2,4-D 1.0 mg/L + Kt 1.0 mg/L; that of bud was MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; and that of root was MS + BA 0.4 mg/L or MS + NAA 0.4 mg/L. Conclusion: Rapid propagation of *Changium myrsinoides* is established with tissue culture, which provides an effective way for the sustainable utilization.

Key words *Changium myrsinoides* Wolff; Tissue culture; Rapid propagation

明党参 *Changium myrsinoides* Wolff 为伞形科多年生草本,根入药,有滋补强壮、润肺化痰、平肝解毒、安中和胃的功效。明党参为我国特有的单种属植物,分布于浙江、江苏、安徽等省^[1]。近年来由于山地开垦和过度采挖,以及种群自身恢复能力差,其分布区及种群数量呈现明显衰退倾向^[2,3],被列为国家三级重点保护植物^[4]。徐秀泉等曾以明党参嫩茎为外植体诱导植株再生^[5]。本研究以明党参叶和根为外植体进行组织培养、快速繁殖研究,旨在为明党参种质资源的保护提供更加有效的途径。

1 材料与方

试验用材料于 2006 年 4 月份采自南京近郊,经南京中医药大学中药资源学教研室巢建国教授鉴定为明党参 *Changium myrsinoides* Wolff。

外植体先用流水冲洗约 10 min,然后在超净工作台上用 75% 乙醇浸泡 30 s,再用 0.1% 升汞 (HgCl₂) 消毒,最后用无菌水冲洗 5~6 次。

1.1 培养基及培养条件 以 MS 为基本培养基,附加不同浓度的激素,蔗糖浓度为 3.0%,琼脂为 0.8%。光照强度 1000 lx,光照时间 12 h/d,培养温度 25 ± 2, pH 值 5.65-5.75。

1.2 外植体及愈伤组织诱导培养基选择 将叶片及根切成 0.3 cm² 小块,叶轴、叶柄割成长约 0.5 cm,接种于不同激素组合的 MS 愈伤化培养基,诱导愈伤组织。每种培养基接种 30 个外植体,于 30 d 统计愈伤组织诱导结果。选出最佳愈伤化培养基,并继代增殖培养 2~3 次,每次相隔 20 天。

1.3 不定芽诱导 将继代增殖培养的愈伤组织,接种于附加不同激素配比的 MS 分化培养基,50 d 统计产生丛生芽的结果。

1.4 根诱导 将分化产生的单芽转移至含不同生长素的 MS 1/2MS 生根培养基,于 40 d 统计试管苗生根情况。

1.5 试管苗移栽 当试管苗长出发达的根系,苗高 3~4 cm 时,打开瓶盖,3 天后取出再生植株,洗净培养基,直接移入搭有荫棚的试验小区内,每天浇一次水,二周后除去荫棚,使其在半阴的自然条件下生长。

2 结果与分析

2.1 外植体与愈伤组织 明党参的根、叶片、叶轴及叶柄接种在不同激素组合的愈伤化培养基上,2 周后,部分外植体开始膨大,切口处先后长出黄白色

基金项目:江苏省自然科学基金 (BD2003107)

作者简介:谷巍 (1969-),女,博士,副教授, Tel: 13951879869。

*通讯作者:吴启南, Tel: 13951700351。

愈伤组织。培养 30 天后,叶轴、叶柄及根愈伤化能力均较差,而叶片愈伤化效果较好,产生的愈伤组织多为淡黄白色,质地较疏松。将叶片产生的愈伤组织继代培养,结果(见表 1): 2, 4-D 对愈伤组织的诱导和生长非常有效。当 2, 4-D 浓度为 1.0 ~ 4.0 mg/L, Kt 浓度为 0.5 ~ 1.0 mg/L 时,嫩叶片均可诱导出愈伤组织;在使用同等浓度的 2, 4-D 时,增加 K 的浓度,出愈率显著增高。2 号培养基 MS + 2, 4-D 1.0 mg/L + Kt 1.0 mg/L, 出愈率达 100%。

表 1 不同激素配比对叶片愈伤组织诱导效果

培养基 编号	2, 4-D (mg/L)	Kt (mg/L)	出愈率 %	生长状况
1	1.0	0.5	80.65	++
2	1.0	1.0	100.00	++
3	2.0	0.5	30.47	+
4	2.0	1.0	67.50	+
5	4.0	0.5	77.78	+
6	4.0	1.0	86.49	++

注: Kt:激动素; +:少量; ++:长势较旺盛,浅黄色; +++:大量,长势旺盛,淡白色,质地较疏松

2.2 愈伤组织及芽的增殖 将愈伤组织接种到分化培养基上,一周后,部分分化出许多致密而平滑,多为淡黄绿色或乳白色的突起。两周后可见许多绿色芽点并形成芽苗。选择健壮的芽继代培养,结果(见表 2): 6-BA 能够显著促进愈伤组织再分化,协同使用 NAA 可以促进芽的增殖。除了 1 号培养基外,以 3 号培养基 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 出芽率最高,苗长势旺盛,继代培养后芽增殖成试管苗数量较多。

表 2 不同激素配比对愈伤组织再分化的影响

培养基 编号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	出芽率 %	芽生长 状况
1	0.5	0.1	0	-
2	2.0	0.1	20	+
3	3.0	0.2	80	+++
4	0.5	0.2	10	+
5	0.2	0.3	30	+
6	3.0	0.3	50	++

注: +:生长不良; ++:苗娇弱,生长慢; +++:苗长势旺盛,较紧密; -:无

2.3 试管苗生根诱导与移栽 将高 2.5 cm 以上

较健壮的不定芽转移至一组生根培养基上, 10 d 后,芽基部开始产生白色的小突起,然后迅速生长成具有浓密根毛的白色根。由表 3 可见, BA 和 NAA 均可以诱导生根。其中 4 号培养基生根比较慢,且苗及根的生长势不好,不利于移栽; 1 号和 3 号培养基生根率较高,但是苗长势较瘦弱,移植成活率较低; 2 号和 5 号培养基不仅生根率高,且苗生长健壮,移栽成活率在 65% 以上。6 号培养基,未添加任何激素,虽然生根率也较高,但是在切口处易形成大量的愈伤组织,不适合移栽。

表 3 不同培养基对明党参生根的影响

培养根 编号	基本 培养基	BA (mg/L)	NAA (mg/L)	生根率 %	生长 状况
1	1/2MS	0.5	0	71	++
2	MS	0.4	0	82	+++
3	MS	0.5	0	58	+
4	MS	1.0	0	5	+
5	MS	0	0.4	80	+++
6	MS	0	0	75	++

注: +:根较少,较短; ++:根较多,苗生长一般; +++:苗生长健壮,根数量多

3 结论

明党参采用不同激素配比的组织培养,显示:叶片用 MS + 2, 4-D 1.0 mg/L + Kt 1.0 mg/L, 出愈率达 100%,且愈伤生长数量多;芽诱导增殖较适宜的培养基为 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L;生根的适宜培养基为 MS + BA 0.4 mg/L 或 MS + NAA 0.4 mg/L,且根的生长数量较多,苗生长健壮,移栽易成活。

参 考 文 献

[1] 侯宽昭. 中国种子植物科属词典(修订版). 北京:科学出版社, 1982: 102.

[2] 邱英雄, 傅承新. 明党参的濒危机制及其保护对策的研究. 生物多样性, 2001, 9(2): 151-156.

[3] 李伟成, 葛滢, 盛海燕, 等. 濒危植物明党参种群生存过程研究. 生态学报, 2004, 24(6): 1187-1193.

[4] 国家环保局, 中国科学院植物研究所. 稀有濒危植物的保护和研究. 北京:环境科学出版社, 1991: 187-188.

[5] 徐秀泉, 严春艳, 于荣敏. 明党参愈伤组织诱导及植株再生. 中药材, 2005, 28(11): 971-973.

(2007 - 07 - 23 收稿

2007 - 11 - 27 修回)