

药用植物桔梗组培快繁体系的建立

唐伟斌, 石晓云

(邢台学院 生物系, 河北 邢台 054001)

摘要:以药用植物(桔梗)种发无菌苗幼嫩茎尖、茎段为外植体,附加不同种类、不同质量浓度的激素进行组织培养,建立了快速繁殖体系.得出如下最佳培养基组合:诱导分化培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L;增殖培养基 MS+6-BA 0.4 mg/L + NAA 0.1 mg/L;生根培养基 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L 和 1/2 MS+IBA 0.5 mg/L.为桔梗优良株系的繁育和利用提供了有效途径.

关键词:桔梗;快速繁殖;诱导;愈伤组织

中图分类号:Q 945.5

文献标识码:A

文章编号:1000-5854(2006)05-0599-03

桔梗(*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) DC.)又名道拉基、包袱花,为桔梗科桔梗属多年生草本植物.其根具有重要药用价值,可宣肺利咽、祛痰排脓、化湿邪、调畅气机、行气活血、止惊悸安心神^[1];其花和花蕾颇具观赏性,幼叶和根亦是良蔬,可谓集药、食、赏为一身,市场需求旺盛,野生资源远不能满足需求.笔者实验建立和完善了桔梗诱导、分化、增殖、移栽等一整套离体快繁体系,不但可以满足桔梗的工厂化生产,而且对桔梗种质保存、新品种的培育推广,以及野生植物资源的保护具有重要意义.

1 材料与方 法

1.1 材 料

当年生桔梗种子采自河北省邢台县白岸乡摩天岭山顶草甸(海拔 1 650 m).MS 培养基,(23±2)℃条件下无菌萌发,以种发无菌苗为实验材料.

1.2 方 法

1) 诱导培养:无菌条件下取种发无菌桔梗苗上 0.5 mm 长的茎尖和带叶节的 1 cm 长的茎段,接种在诱导分化培养基上.茎尖 4 个/瓶,每处理重复接 5 瓶;茎段 4 段/瓶,每处理重复接 20 瓶.观察新芽出现的时间,计算平均出芽率(芽丛数/接种数)和分化率.

2) 增殖培养:将分化的丛生芽块分切成 0.5 cm 见方的小块,分别接种于各组增殖培养基上,3 块/瓶,每处理重复接 5 瓶.观察并计算增殖率.

3) 生根培养:切取生理状态较一致、含生长点的组培苗约 2 cm,下部分别插接入生根培养基中.4 株/瓶,每处理重复接 20 瓶.观察并计算生根率和根数.

4) 再生苗移植:当组培苗根系生成后,于组培室中去除瓶塞,晾瓶 7 d 后洗去苗根部琼脂,移栽于蛭石中,放于温室中锻炼.25 d 后移栽于土壤中,正常管理.

1.3 条 件

基本培养基采用 MS 配方,生根培养采用 1/2 MS 培养基.蔗糖 30 g/L,琼脂 7 g/L,pH 5.8.附加不同质量浓度和配比的 6-BA, NAA 和 IBA 等激素组成各处理和组合(见表 1~表 3).培养温度为(25±2)℃,光照强度 1 200~1 500 lx,光照时间为 14 h/d.

2 结果与分析

2.1 诱导培养

桔梗茎尖培养 7 d 左右芽体开始膨大,18 d 左右开始露出新生芽尖,40 d 后形成芽丛.茎段培养 10 d

收稿日期:2005-10-19;修回日期:2005-12-19

基金项目:河北省科学技术厅攻关计划项目(20034201);邢台学院自然科学研究基金资助项目

作者简介:唐伟斌(1967-),男,四川省营山县人,邢台学院副教授,硕士,主要从事植物学教学和研究工作,发表论文 40 余篇.

有部分段体两端开始出现膨大现象,20 d 左右与培养基接触部位渐形成马蹄形瘤状物,颜色由白色变淡绿色,28 d 开始分化出现针状芽,形成芽丛.培养 45 d 后调查结果见表 1.

表 1 不同组合和质量浓度的植物激素对桔梗诱导成芽的影响

组合号	植物激素/(mg·L ⁻¹)		出现新芽时间/d		出芽率/%		分化率/%	
	6-BA	NAA	茎尖	茎段	茎尖	茎段	茎尖	茎段
1-1	1.0	0.10	20	28	90a*	186a	90a	95a
1-2	1.0	0.05	21	31	90a	181a	90a	96a
1-3	0.8	0.10	18	30	90a	170b	90a	90b
1-4	0.8	0.05	22	32	85b	179a	85b	94ab
1-5	0.5	0.10	25	35	90a	119d	90a	70d
1-6	0.5	0.05	25	36	85b	133c	85b	75c

注:*代表邓肯氏新复极差测验,不同小写英文字母为差异达显著水平,下同.

由表 1 可知,桔梗幼嫩茎尖和茎段在附加不同配比植物激素的 MS 培养基上均能较好地诱导出新芽,但出芽的时间存在差异,较高质量浓度的 6-BA 能缩短出新芽的时间.茎段的分化率与 6-BA 质量浓度成正相关,而茎尖的分化率对 6-BA 质量浓度的变化不敏感.NAA 实验浓度范围内对桔梗新芽的影响无明显差异.1-1,1-2,1-4 组合茎尖和茎段的诱导效果最好,1-1,1-2 组合的分化率最高.考虑到节约成本,故确定 1-2 组合(MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L)为桔梗诱导培养的最佳培养基配方.

2.2 增殖培养

丛生芽切分后接种在增殖培养基上培养 30 d,各处理成苗情况见表 2.

由表 2 可知,在 6-BA 质量浓度相对较高和较低的组合中,成苗情况均不理想,质量浓度高的处理还出现了比较明显的玻璃化现象,而在中等质量浓度的处理中芽丛发育良好.另外,源于茎尖芽丛的成苗率要略高于源于茎段芽丛的成苗率,这可能与茎尖分生细胞的活力要高于茎段分生细胞相关.尽管如此,6-BA 的质量浓度对丛生芽增殖的影响是一致的,即 0.4 mg/L 左右促进桔梗丛生芽的增殖.NAA 的 2 个实验浓度对丛生芽增殖的影响则反映出较高的质量浓度具有促进作用,源于茎尖芽丛的效果相对要明显一些.在试验的 6 个处理中,MS+6-BA 0.4 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是桔梗丛生芽增殖培养的最佳培养基配方.

2.3 生根培养

生根培养基接种培养 30 d 后各处理发根情况见表 3.

表 3 不同组合和质量浓度的植物激素对桔梗苗生根的影响

组合号	植物激素/(mg·L ⁻¹)		生根时间/d		生根率/%		平均根数	
	IBA	NAA	茎尖	茎段	茎尖	茎段	茎尖	茎段
3-1	0	0.1	18	17	100a	99a	2.6e	2.7d
3-2	0	0.5	8	8	100a	100a	4.8a	4.6a
3-3	0.1	0	21	22	98a	100a	3.2d	3.1c
3-4	0.5	0	11	9	100a	98a	4.9a	4.6a
3-5	0.5	0.1	12	11	99a	100a	3.8b	3.7b
3-6	0.1	0.5	13	11	100a	99a	3.5c	3.6b

分析可知, 桔梗苗生根率接近 100%。从生根时间上看, 相对质量浓度较高(0.5 mg/L)的植物激素可以缩短生根时间, 尤以 NAA 效果明显。从生根数量上看, 相对质量浓度较高的 IBA 和 NAA 单独使用都有促发新根数量的作用, 但同时使用时效果反而下降。综合上述结果, 以 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L 和 1/2 MS + IBA 0.5 mg/L 作为桔梗苗生根培养配方为最佳。

2.4 再生苗的移植

移植于蛭石中的再生苗平均成活率为 94%, 经过锻炼后的再生苗移栽于土壤中全部成活。

3 讨 论

以桔梗叶片、茎尖、茎段、上胚轴和下胚轴为外植体进行离体培养已经取得成功^[2-7]。与前人相比, 笔者实验采用种发无菌苗幼嫩的茎尖和茎段, 不但可以省略外植体消毒的烦琐过程, 减少了对植株的损伤, 获得了较高诱导率, 而且材料数量多, 易获得, 利于生产中推广应用。

从实验结果看, 茎尖和茎段都可以作为外植体进行离体培养, 但在诱导出芽时间、出芽率和分化率上存在差别。茎尖出芽时间明显要短于茎段, 这可能与茎尖含分生细胞多、生活力较强有关; 而茎段及其培养端面的数量, 以及诱导出的芽丛数量则要远多于茎尖培养。尽管如此, 最后得到的再生植株在质量上无明显差异。依据这一特点, 在生产上对幼嫩萌发苗的茎尖和茎段应采取同时利用、分别培养的原则, 充分发挥茎尖培养时间短、茎段培养数量多的优点, 从而大大降低生产成本。再生苗先在蛭石中适应一段时间后再移栽到土壤中, 成活率高于直接移栽到土壤中^[5]。练苗过程中空气湿度是关键。应采取覆盖塑料膜等保水措施, 空气相对湿度从 90% 左右逐渐降低, 并注意中午遮阳。温度控制在 28~30℃ 为宜。14 d 后可逐渐揭膜, 25 d 左右即可定植。

参考文献:

- [1] 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, 2002. 225.
- [2] 李晶, 李世承, 李金祥. 桔梗组织培养研究(表) [J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(2): 107.
- [3] 秦金山, 郭龙. 桔梗叶片的离体培养和植株再生 [J]. 植物生理学通讯, 1986, (1): 44.
- [4] 牛德水. 桔梗下胚轴愈伤组织诱导及植株再生 [J]. 植物生理学通讯, 1983, (5): 42.
- [5] 杨耀文, 钱子刚, 李保军, 等. 药用植物桔梗的组织培养初步研究 [J]. 云南中医学院学报, 2002, 25(4): 9-10.
- [6] 舒雯, 高山林. 桔梗的组织培养 [J]. 植物资源与环境学报, 2001, 10(3): 63-64.
- [7] 朱玉灵, 吴涛, 范泽民. 桔梗外植体的离体培养和植株再生 [J]. 安徽农业科学, 2000, 28(1): 93-94.

Establishment of Tissue Culture and Rapid Proliferation System for Medical Plant *Platycodon grandiflorum*

TANG Wei-bin, SHI Xiao-yun

(Department of Biology, Xingtai College, Hebei Xingtai 054001, China)

Abstract: To establish the rapid proliferation system of the medical plant *Platycodon grandiflorum*. The shoot apices and segment of *P. grandiflorum* were used as explants and cultured on different media supplemented with various portion of phytohormone. MS medium containing 6-BA 1.0 mg/L and NAA 0.05 mg/L was the best for callus induction; MS medium containing 6-BA 0.4 mg/L and NAA 0.1 mg/L was suitable for crowd bud propagation; 1/2 MS medium containing IBA 0.5 mg/L and 1/2 MS medium containing NAA 0.5 mg/L were suitable for inducing root. The rapid proliferation of *P. grandiflorum* by tissue culture method could be established, which will provide the effective ways of the breeding and clone of excellent varieties and utilization of *P. grandiflorum*.

Key words: *Platycodon grandiflorum*; rapid proliferation; induction; callus

(责任编辑 柴 键)