

• 生物技术

孩儿参组织培养及无性系建立的研究

陈鹏彦, 高琳娜, 姜长阳

(辽宁师范大学 生命科学学院, 大连 116029)

摘要: 以具有腋芽的嫩茎为材料, 对孩儿参组织培养及无性系建立进行了研究。结果表明: 1/2MS+BA 0.1 mg/L+IAA 0.1 mg/L 是诱导孩儿参腋芽生长的理想培养基; MS+BA 0.4 mg/L+IAA 0.1 mg/L 是孩儿参不定芽分化培养的理想培养基; 1/3MS+IAA 0.4 mg/L 是生根培养的理想培养基; 河沙和炉灰渣是试管苗移栽的理想基质。

关键词: 孩儿参; 无性系; 快速繁殖

中图分类号: S688.4; Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6500(2008)05-0004-04

Study on Tissue Culture and Establishment of Asexual System of *Pseudostellaria heterophylla*

CHEN Peng-yan, GAO Lin-na, JIANG Chang-yang

(College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China)

Abstract: A study on the technique of tissue culture and establishment of asexual system of *Pseudostellaria heterophylla* was conducted by the tender stem with axillary bud as material. The results indicated that the ideal medium for induction and differentiation of buds from stem segments were 1/2MS+BA 0.1 mg/L+IAA 0.1 mg/L and MS+BA 0.4 mg/L+NAA 0.1 mg/L, respectively. The medium of 1/3MS+IAA 0.4 mg/L was suitable for root growth. River sand and slag was the optimal medium for transplanting the tube seedling.

Key words: *Pseudostellaria heterophylla*; clone; rapid propagation

孩儿参(*Pseudostellaria heterophylla*)又叫太子参、异叶假繁缕, 属于石竹科假繁缕属多年生草本植物^[1,2]。根可入药, 也可代人参使用, 具有滋养壮力、补气生津、健脾等功效, 能治肺虚咳嗽、脾虚心悸、口渴、食欲不振、肝炎、神经衰弱、体弱无力、自汗盗汗等多种疾病^[2]。由于孩儿参具有多种药用价值, 并且可以代替人参使用, 近年来人们的大肆采集, 使本来分布量就很少的孩儿参, 现在在辽宁南部地区已经很难采到, 于是有的农民就开始进行人工种植。但由于很难采集到种子和种苗, 从而影响了种植。为此, 笔者对孩儿参进行组织培养和无性系建立的研究, 以期获得大量种苗, 满足人们的需要。

1 材料和方法

1.1 材料处理

采集河边林荫下生长非常旺盛的孩儿参, 切去叶片, 将具有顶芽和侧芽的嫩茎放到磨口广口

瓶中, 自来水冲洗 15 min 后, 用 0.05% 安利洗涤液振荡洗涤 20 min 左右, 洗至没有泡沫时置于超净工作台上。用 75% 乙醇灭菌 10 s 后, 迅速用无菌水洗涤 3 次, 接着用 0.1% HgCl₂ 溶液振荡灭菌 1 min, 再加入等体积无菌水, 继续振荡灭菌 10 min。接着用无菌水振荡洗涤 6 次, 即获得无菌材料。

1.2 培养条件

培养基以 MS、1/2MS 和 1/3MS 为基本培养基, 附加不同浓度的细胞分裂素 BA 和生长素 IAA、NAA、IBA。以 MS 为基本培养基时, 加蔗糖 30 g/L; 以 1/2MS 为基本培养基时, 加蔗糖 15 g/L; 以 1/3MS 为基本培养基时, 加蔗糖 10 g/L。培养基胂力强度为 180 g/cm²^[3], pH5.8~6.0, 培养条件 14~24 ℃, 光照 10 h/d, 光照度 2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 腋芽的生长培养

将无菌嫩茎切成长 0.3 cm 左右具有腋芽的

茎段,接种到以 1/2MS 为基本培养基,附加 BA 0.1 mg/L, IAA 0.1, 0.4, 0.7 和 1.0 mg/L 的 4 种培养基上进行腋芽的生长培养。35 d 时腋芽开始生长。60 d 后观察统计表明,在 4 种培养基上培养的腋芽都能生长。其中在 1/2MS+BA 0.1 mg/L + IAA 0.1 mg/L 的培养基上,不仅腋芽的生长率达到了 100%,并且生长快而旺盛。将在这一培养基上诱导生长的芽剪成具有顶芽或 1~2 个腋芽的茎段,在相同培养基上进行继代培养,35 d 又能生长成高 2 cm 左右的芽,连续 3 次试验共 13 代的继代培养,培养芽的长势保持不变。这说明 1/2MS+BA 0.1 mg/L + IAA 0.1 mg/L 是诱导孩儿参腋芽生长的理想培养基。

2.2 芽的分化培养

将上述培养的芽剪成具有顶芽或 1~2 个腋芽的茎段,接种到以 MS 为基本培养基,附加不同浓度的 BA、IAA、NAA 的培养基上进行芽的分化培养,每种培养基接种 50 个材料,培养到 20 d 左右时开始分化,40 d 时观察统计。由表 1 可见,在

BA 浓度为 0.4 mg/L、NAA 浓度为 0.1 mg/L 这一培养基上,不仅分化率为 96%,而且单芽分化的不定芽数达到 4.5,分化的不定芽高度为 1~3 cm,长势好。把分化的不定芽剪成具有顶芽或 1~2 个腋芽的茎段,接种到相同的培养基上进行继代分化培养,连续培养 9 代,其分化不定芽的分化率、单芽分化数和分化芽的长势基本保持不变,但继代培养周期缩短为 35 d。这说明 MS+BA 0.4 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是孩儿参不定芽分化培养的理想培养基。

2.3 生根培养

将上述分化培养高度为 1 cm 以上的不定芽从基部剪下,接种到以 1/2MS 和 1/3MS 为基本培养基,附加不同浓度 IAA、NAA 和 IBA 的生根培养基上进行生根培养。每种培养基接种 50 个材料。培养到 10 d 时有的培养基上可见形成根原基,培养 25 d 时观察统计。由表 2 可见,在附加 NAA 的生根培养基中,不能诱导生根;在附加 IBA 的生根培养基中,诱导生根率也较低,生出根的长

表 1 不同培养基对芽分化的影响

BA /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	IAA /(mg·L ⁻¹)	分化芽数	分化率 /%	平均分化 不定芽数	长势
0	0	0	0	0	0	
0	0.1	0	0	0	0	
0.2	0.1	0	38	76	2.3	++
0.4	0.1	0	48	96	4.5	+++
0.6	0.1	0	36	72	4.5	++
0.8	0.1	0	15	30	2.6	++
0	0.5	0	0	0	0	
0.2	0.5	0	0	0	0	
0.4	0.5	0	0	0	0	
0.6	0.5	0	0	0	0	
0.8	0.5	0	0	0	0	
0	0	0.1	0	0	0	
0.2	0	0.1	28	56	1.6	++
0.4	0	0.1	25	50	2.7	+
0.6	0	0.1	16	32	3.9	+
0.8	0	0.1	8	16	1.2	+
0	0	0.5	0	0	0	
0.2	0	0.5	0	0	0	
0.4	0	0.5	0	0	0	
0.6	0	0.5	0	0	0	
0.8	0	0.5	0	0	0	

注:+++好;++较好;+一般。

势也较差；在含有浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8 mg/L IAA 的生根培养基上都能诱导生根；其中在 IAA 浓度为 0.4 mg/L 的 1/3MS 生根培养基上，不仅生根率达 98%，而且单株平均生根数也达到了 6.2 条。观察还表明，在上述 1/3MS 生根培养基上，不仅生根率高、根数多，而且试管苗长势旺盛，培养至 25 d 时，可以长成株高为 5 cm 左右，具有 6 条以上根的试管苗。将在这一培养基上生

长的试管苗剪成具有 1~2 个生长点、长 1 cm 左右的茎段，插于相同的生根培养基上进行生根继代培养，25 d 时又可长成高 5~6 cm 的生根试管苗。连续 12 代生根继代培养，试管苗的长势保持不变。采用这种方法 25 d 的增殖系数为 4.1 倍，并且繁殖的试管苗生长旺盛，几乎没有无效苗。上述试验证明，1/3MS+IAA 0.4 mg/L 是孩儿参试管苗生根培养的理想培养基。

表 2 不同培养基对生根的影响

IAA /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	IBA /(mg·L ⁻¹)	生根数/个	生根率/%	根数 /条	长势
0	0	0	0/0	0/0	0/0	
0.2	0	0	48/48	96/96	3.8/5.6	+++ / +++
0.4	0	0	48/49	96/98	5.3/6.2	++ / ++++
0.6	0	0	34/40	68/80	2.5/2.6	++ / ++
0.8	0	0	12/11	24/22	1.2/2.3	+ / ++
0	0.2	0	0/0	0/0	0/0	
0	0.4	0	0/1	0/2	0/1	/ +
0	0.6	0	0/0	0/0	0/0	
0	0.8	0	0/0	0/0	0/0	
0	0	0.2	13/11	26/22	1.7/2.5	+ / +
0	0	0.4	15/26	30/52	1.4/1.9	+ / +
0	0	0.6	9/12	18/24	1.1/2.4	+ / +
0	0	0.8	10/6	20/12	1/1.2	+ / +

注：(1)接种数量均为 50；(2)“/”前为 1/2MS，后为 1/3MS；(3)+++好；++较好；+较差。

2.4 移栽

将生根苗培养瓶瓶塞打开，置于光照约 4 000 lx、20℃左右的条件下炼苗 3 d 后，用镊子取出，洗去基部培养基，移栽到铺有约 6 cm 厚不同移栽基质的温室苗床上。25 d 后观察统计。由表 3 可见，以河沙、炉灰渣为移栽基质不仅成活率高，而且长势较好。这说明河沙和炉灰渣是孩儿参试管苗移栽的理想基质。小批量试验证明，移栽到河边林荫下的试管苗不仅长势非常旺盛，而且根系相当于野生植株的 2 倍。

表 3 不同移栽基质对试管苗移栽成活的影响

基质	移栽数	成活数	成活率/%	长势
园土	50	0	0	
河沙	50	49	98	+++
炉灰渣	50	48	96	+++
珍珠岩	50	39	78	++

注：+++好；++较好；+一般。

3 讨论

虽然目前已有许多石竹科植物组织培养的报道^[2-7]，但迄今未见有孩儿参组织培养及无性系建立的报道。本研究利用孩儿参嫩茎的顶芽和腋芽为材料，以较高分化率分化出不定芽表明：孩儿参嫩茎上的顶芽和侧芽在离体条件下仍具有较强的生长分化能力。对芽进行分化继代培养，35 d 时平均每个芽可分化出 4.5 个芽，按照这个增殖速度，年增殖率为 4.5^{10.4}。用生根继代培养方法进行增殖培养，按照 25 d 增殖 4.1 倍的速度计算，年增殖率为 4.1^{14.6}。这说明，不论采用芽增殖方法进行快速繁殖，还是采用生根继代的方法快速繁殖，一年内可增殖出上千万株孩儿参试管苗。但是，从试管苗的长势和有效苗比率的角度看，以生根继代方法进行繁殖更有利于生产。野外小批量栽培的孩儿参试管苗也完全证明了这一点。因此，用生

根继代方法繁殖孩儿参试管苗,可以满足生产上对孩儿参种苗的需求。在生根培养时,使用了3种生长素,其中 IAA 的生根效果最好,这是因为 IAA 为植物天然生长素,在光照条件下可分解。把待生根的无根苗插入到以 IAA 为生长素的生根培养基中,1 周左右诱导形成了根原基,此时 IAA 因光照大部分分解,使其含量降低到不至于抑制根的伸长生长的浓度。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴 (第一册)[M]. 北京: 科学出版社, 1972: 627.
- [2] 李书心. 辽宁植物志(上册)[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1988: 372.
- [3] 安利佳, 姜长阳. 植物组织培养导论[M]. 大连: 辽宁师范大学出版社, 1988: 28-30.
- [4] 哈梅娟, 张生清. 香石竹无性繁殖技术研究[J]. 中国农学通报, 2002, 18(2): 56-58.
- [5] 李霞, 余永梅, 樊慧. 中国石竹离体快繁技术研究试验[J]. 石河子科技, 2003 (2): 14-15.
- [6] 周丹丽. 香石竹茎尖培养及快速繁殖[J]. 园林花卉, 2001, 29 (3): 41.
- [7] 贾芬, 黄宇翔. 须苞石竹的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(6): 436.
- [8] 林荣呈, 包满珠. 香石竹的叶片培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(6): 205-206.
- [9] 李瑶, 王利华, 叶鸣明, 等. 影响石竹试管苗玻璃化的因素[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(4): 256-258.

《天津农业科学》稿约

《天津农业科学》是天津市农业科学院信息研究所主办的综合性学术期刊。主要报道农林、植保、土壤肥料、园艺、畜牧兽医、农产品贮藏加工、水产、花卉、生物技术等方面的基础理论、试验报告、实用技术和专题综述类文章及农业区划、科研管理等软科学论文。开设栏目有: 滨海新区论坛、生物技术、无土栽培与设施园艺、农产品标准与新品种保护、植物保护、土壤肥料与节水灌溉、畜牧兽医、贮藏加工、作物栽培与育种、农业区划、科研管理、园林绿化、信息技术等。适合各级农业科技人员、农技推广人员、农业行政管理干部、农业大中专院校师生参阅。

来稿注意事项:

(1) 文稿应为作者创作, 并为首发稿。作者享有文稿的著作权, 文责由作者自负。来稿请提供作者真实姓名及联系地址、邮编、电话号码和 E-mail, 同时注明第一作者简历(包括出生年、性别、籍贯、学历、职称和主要从事的研究)及基金资助项目的名称和编号。

(2) 来稿请提供打印稿及 Word 文档, 并请自留底稿。文稿务求论点明确, 论据可靠, 数字准确, 图表清晰, 内容注意保守国家机密, 并附中英文文题、摘要、关键词(3~8 个)以及图题、表题。摘要内容应包括研究目的、方法、结果、结论, 200 字左右。文中引用他人文献, 请在文后顺序列出, 并在文中相应位置用方括号标出。

(3) 本刊作为中国科技论文统计源期刊已被中国学术期刊(光盘版)、万方数据库数字化期刊群收录并全文上网, 如作者不同意收录, 请在投稿时申明, 否则视为同意收录。

(4) 依照《著作权法》规定, 本刊可以对来稿作文字修改、删节, 涉及内容的修改应征得作者同意。文稿刊登后赠送当期刊物。

(5) 来稿请勿一稿多投。如该稿曾在学术会议上宣读或用其他文种发表过, 请在投稿时说明。

真诚期待您的来稿!

投稿地址: 天津市南开区白堤路 268 号 邮编: 300192

电话/传真: 022-23678601 E-mail: tjnykx@163.com