

桔梗的组织培养及快速繁殖

张凤生, 姜 淼, 李建红

(哈尔滨市农业科学院, 150070)

摘 要:以桔梗的种子获得无菌苗, 取无菌苗的带节茎段为外植体, 在诱导培养基 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 上培养 15 d 左右, 分化出苗, 叶墨绿, 叶片较大。丛生芽的增殖培养基以 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 为佳, 芽长的大且粗壮。粗壮芽转入 1/2MS+NAA 0.2 mg/L 生根培养基中, 生根率达 95%。以上培养基中均附加 3% 的绵白糖。pH 为 6.0。

关键词:桔梗; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号:S 567.23+9; S 603.6 **文献标识码:**B

文章编号:1001-0009(2007)01-0165-01

桔梗(*platycodon grandiflorum* Jacq.). A. DC) 属桔梗科植物, 别名也叫包袱花、铃当花、和尚帽子、和尚头。系多年生草本。株高 30~100 cm, 全株具白色乳汁。根长圆锥形, 肥大肉质, 外皮黄褐或灰褐色。茎直立, 上部稍分枝。叶对生或轮生, 卵状披针形或披针形, 边缘有细锯齿。花单生或呈疏生的总状花序。花期 7~8 月。桔梗通常以根入药, 性平, 味苦, 辛, 有开宣肺气, 祛痰排脓的功能。用于治疗外感咳嗽, 咽喉肿痛, 肺病吐脓, 胸痛, 痢疾腹痛。临床用于肺炎, 慢性支气管炎, 小儿喘息性肺炎, 肺脓疡, 急性扁桃体炎, 急性咽炎, 声带小结, 急性腰扭伤。通过采用组织培养技术, 以桔梗无菌苗茎尖和茎段为外植体获得大量无毒的试管苗, 对桔梗品质的优化和野生资源的保护及中药材的需求有着重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

通过桔梗的种子获得无菌苗为外植体。桔梗的种子由黑龙江省北药技术开发有限公司提供。

1.2 方法

选取成熟饱满的种子拿到超净工作台上备用。接种前先将种子用 75% 酒精浸 30 s, 再用无菌水冲洗 1 次, 再倒入 0.1 升汞消毒 7 min 后用无菌水冲洗 5 次, 每次时间为 2~3 min。然后接入培养基中。诱导培养基为 MS+3.0% 蔗糖+0.75% 琼脂, 附加不同浓度的 BA 和 NAA, pH 为 6.0。培养温度为 22℃~28℃, 每天光照 12h, 光照强度为 1 500~2 000 Lx。增殖培养基为在上述培养基基础上附加不同浓度的 BA。无根苗生根培养基为 1/2MS 培养基, 附加不同浓度的 NAA。

1.3 移栽

把苗从瓶中取出后, 用水将根部培养基清洗干净, 注意不要伤根。栽到育苗盘中, 草炭: 蛭石=1:1 的配

方上, 平整介质分成行宽为 3 cm, 苗距 1 cm。栽完后放到温室或用竹子搭建成的小拱棚里, 再用薄膜或遮阳网盖上, 处理的第一周是关键时期, 此时苗非常细弱, 从培养基到土壤中, 环境条件变化大, 光照、温度和湿度都与此前不同, 植株由异养变自养, 根系不发达, 稍不留心就可能造成死苗。此段时期的管理工作主要是遮荫或保暖, 防曝晒, 保持膜内温度, 并注意防霉, 3~4 d 后适当增加通风时间, 以防膜内湿度过高。晚间温度过低适当保温, 控制在 15℃~20℃。湿度 80%~90%。如果管理措施得当, 成活率可达 90% 以上。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

将消完毒的桔梗种子接种到做好的以下 4 种培养基上, 观察其生长状况。有不同大小的愈伤组织出现, 在其上面有许多绿色的颗粒状小芽点, 以后这些小芽点开始分化丛生的营养芽。15 d 以后观察并统计结果, 比较 4 种诱导培养基的效果(见表 1), 可以看出 4 号培养基比较适合桔梗初期诱导生长。

表 1 培养基中激素比对桔梗诱导的影响

培养基号	母液	细胞分裂素 (6-BA)	生长素 (NAA)	生长状况
1	MS	0.5	0.1	有愈伤组织, 分化苗浅绿
2	MS	1	1.0	无愈伤组织, 个别分化
3	MS	3	0.3	有小块的愈伤组织, 苗分化高
4	MS	2	0.2	分化出苗, 叶墨绿, 叶片较大

注: 细胞分裂素和生长素浓度均为 mg/L(下同)。

2.2 丛生芽的增殖培养

表 2 6-BA、NAA 丛生芽增殖的影响

培养基号	母液	细胞分裂素 (6-BA)	生长素 (NAA)	形成芽数 / 始接芽数	增殖倍数	生长势
1	MS	0.5	0.2	200/5	40	苗绿
2	MS	1	0.2	11/5	2.2	苗分化不好
3	MS	1.5	0.2	20/5	4	淡绿
4	MS	2	0.2	58/5	11.6	苗浓绿

待丛生芽长至 1.5~3.0 cm 时, 将其分割成许多小苗或小块, 转接入 4 种增殖培养基中, 以扩大增殖系数。培养 1 个月后观察增殖效果(见表 2), 由表可以看出 2 号的增殖倍数不高且苗的分化不好, 3、4 号培养基的分化苗长势不好, 1 号的增殖倍数最高, 且分化较好, 因此桔梗的扩繁培养基定为 1 号。

2.3 生根培养

表 3 NAA 对桔梗丛生芽生根的影响

培养基号	母液	生长素(NAA)	根数(条)/株	生根苗数/接苗数	生根率(%)
1	MS	0.2	12	76/80	95
2	MS	0.3	5	60/80	75
3	MS	0.01	7	64/80	80

于 10 月份增殖培养基上的粗壮芽转入 3 种生根培养基中, 培养条件相同。10 d 以后观察并统计结果(表 3), 试验表明 2 号培养基长根虽粗, 但是个别未生根。3 号根细弱。1 号的根均匀且长根条数约为 12 条, 1 号较适合桔梗生根培养。

3 讨论

通过以上研究, 摸索出了一整套桔梗的快速繁殖技术, 可进行大规模的工厂化生产, 达到离体快速繁殖的目的。但是扩繁的组培苗细弱, 影响了成活率的提高。在进行下一步试验研究中, 应该利用一些生长抑制剂进行调控, 效果会更好。