维普资讯 http://www.cqvip.com

独一味试管苗快繁技术研究

Fast Propagate Lamiophlomis Rotata (Benth.) Kudo
Test Tube Young Plant

刘正玉 朱凯 周珠扬 朱磊
Liu Zheng Yu Zhu Kai Zhou Zhu Yan Zhu Lei

(西藏自治区农牧科学院蔬菜研究所·西藏拉萨·850032)

摘 要 独一味是一种野生药用植物,已被列入濒危药用植物。目前,随着藏成药的产业化发展,藏药材已进入了一个野生资源短缺、需要产业化种植的阶段。因此,本文主要针对西藏野生濒危药用植物——独一味的组培与试管苗快繁技术进行研究,探讨其中的难点和规律,为推动当前藏药材产业化发展具有重要意义。

关键词 独一味 研究 组培 试管苗 技术

随着藏医科学的不断进步和藏药研究的深入,藏药也有较大的发展,临床应用也日趋广泛,并已得到较好的效果。藏药以其独特的功效得到国内外的承认,为人类治病保健起着重要作用。发展藏药生产,开发名贵、濒危藏药材将是一项重大的经济支柱产业。开发生产名贵、濒危藏药材将充分发挥区域优势,在西部开发中走特色经济之路,促进和发展我区藏药产业,促进我区农业结构调整和优化,发展西藏藏医药业,以适应西部大开发的要求,对推动我区经济建设将具有重大和深远的意义。

西藏是药材资源丰富的地区之一,随着我区农村经济的发展,农民思想观念的转变,开发药用植物是我区农民致富之路之一。然而,由于长期以来无计划采挖,再加上自然环境的破坏以及繁殖和栽培技术未能跟上等方面的原因,有许多重要药用植物天然生产及少,供应十分困难。在藏药用植物资源日趋减少的情况下,如果试图用化学合成手段来生产植物性药物,往往因技术、成本及临床应用上的抗药性等问题而受到种种限制。因此,人们只好将注意力转向人工栽培药用植物。但是,在人工栽培的药用植物中,有不少名贵药用植物生长周期长,如果用常规方法育种或育苗,则需要很长时间,特别是一些名贵的藏药植物资源及少,生长缓慢。

因此,利用组培技术来繁殖生产藏药材,能够按人们意愿去繁殖和生产所需的药材,来满足人们的需要,为人类造福。藏药材组织离体培养不仅是一种快繁手段,同时也是药材改良,种质保存和生产的理想途径。采用组织培养技术可大大缩短繁殖周期,降低成本,一年可繁殖数万株种苗,效益十分显著。利用组培技术生产藏药材不受地区、季节和

维普资讯 http://www.cqvip.com

气候的限制，便于产业化生产，将解决藏药材供需矛盾，缓解西藏濒危药材资源开发与保护之间的矛盾起到积极的作用。

独一味[lamiophlomis rotata(benth.) kudo] 为多年生无茎草本，高 2.5 厘米—10 厘米。根茎粗而长。叶片 4 枚对称，叶片菱状扇形，边缘具圆齿，叶脉在两面均明显，长 4 厘米—13 厘米，宽 12 厘米。叶柄长 1 厘米—3 厘米。花果期 6—9 月。分布于西藏海拔 2700 米—4800 米的高山草甸地区。独一味的主要药用成分，地上部分含山栀苷甲脂(shanzhiside methyleoter)，胡麻属苷(sesamosid)等；叶含木犀草素(luteolin)，槲皮素(guercetin)等；根含独一味素(lamiophlomiol)A、B、C 等。味微甘而苦，消化后味苦，性凉。独一味具有清热解毒，消炎治痛，补髓接骨之功效。主治各种原因引起的炎症，骨关节疼痛，跌打损伤引起的创伤及骨折，急腹症，瘟疫。

一、试验材料与试验地点：

试验材料是采集独一味野生材料的根、茎、叶、腋芽、种子。野生材料采集于 2006 年 8 月由西藏自治区农科院蔬菜研究所与西藏自治区藏药厂合作完成，于 2006 年 12 月初成功地建立初代培养并获得无菌试管苗。到目前为止已完成试管苗繁殖研究，并在扩繁之中。

试验地点位于西藏现代农业示范园区，西藏现代农业示范园区位于拉萨西郊，西藏自治区农牧科学院蔬菜研究所院内。南依拉萨河，北靠 109 国道，西邻拉萨市国家经济技术开发区，东距拉萨市中心 9 公里。园区现有作物栽培区和园艺作物工厂化育苗中心两部分。示范区有 85 栋(使用面积 373 平方米)和高效日光温室 2 坐(使用面积 5000)连栋温室。组织培养楼 1 坐，工厂化育苗车间 400 平方米，种苗繁育温室、炼苗温室等共计 2500 平方米。

二、试验方法与结果：

本药材组织培养用的材料取自地上部分，也有地下部分。埋在土中的带有大量的病菌，这是达到无菌组织培养的一大障碍。消毒是为了消灭病菌，以保证无菌组织培养的进行。但同一种药材植物不同部位的组织有其不同的特点，同一浓度的消毒剂不同时间的处理其敏感反应也不同。所以要进行摸索试验，以达到最佳的消毒效果。一方面既要把材料上的病菌消灭，同时又不损伤组织材料，而不影响其生长。

1、取材、消毒、接种及培养条件：将根、茎、腋芽灭菌时取活体植株，并切成 3—4 厘米节段，置于洗涤溶液中用毛刷洗净，然后取出再用清水冲洗 1—2 个小时，在超净工作台上用 75%酒精消毒，再转入 0.1 升汞溶液中灭菌后，到去灭菌液，在用无菌水冲洗 4—5 次。沥干水后将材料切成 1 厘米的节段，垂直地接种到诱导培养基上。种子灭菌时，用清水将种子洗净，然后用 75%的酒精浸泡，在过滤纸上沥干后，将种子均匀接入诱导培养基上。叶片灭菌时，取独一味幼嫩叶片，用脱脂棉将叶片擦拭干净后在超净工作台上用 75%酒精过一遍，用无菌水冲洗 2—3 遍；沥干水后，将叶片切成 0.5 厘米长的切段并接入诱导培养基上。

以上材料的诱导培养阶段，培养室的温度均在 22℃ ±2，每天日光灯照明 12 小时，光照强度 2000 勒克司，晚间黑暗。

维普资讯 http://www.cqvip.com

2、初代培养：要成功地建立初代培养，首先一定要选择好药材的部位，其次一定要选择好合适的培养基，激素及其他添加物，还要掌握适宜的培养条件。经过多次试验，初代培养所用的培养基以 MS 附加生长素为好。但不同外植体诱导的发芽率也有区别。详见表 1

表 1：　　同一培养基不同外植体发芽的影响

培养基	外植体	转接数（个）	发芽数（个）	发芽率（%）	说　明
MS	根	10	–	–	由绿逐渐变褐
MS	茎	10	–	–	由绿逐渐变褐
MS	叶	10	2	20	28 天长出绿苗
MS	腋芽	10	8	80	8 天腋芽开始萌动、发芽，50 天时苗高 3—5 厘米
MS	种子	10	10	100	20 天开始发芽，30 天后植株高度达 0.5 厘米

注：培养温度 22±2℃，“–”表示未发芽

3、继代培养：继代培养的目的是繁殖大量有效的芽与苗，其方法是通过初代培养的药材在无菌条件接种，选择好适宜的培养基和培养条件，使试管苗扩繁至所需要的数量。本试验采用三种处理方法，即不同浓度与不同激素的培养基设为 MSⅰ、MSⅱ、MSⅲ。详见表 2

表 2：　　不同培养基对芽生长的影响

基本培养基	转接芽数(个)	增殖芽数(个)	芽数增殖倍数
MSⅰ	5	35	7.0
MSⅱ	5	43	8.6
MSⅲ	5	45	9.0

4、生根培养：芽长高至 1.5 厘米以上时，从基部剪下接到生根培养基中。生根培养基为 1/2MS 和 MS 培养基，附加 IBA、IAA 和 NAA，均能生根。1/2MS 附加 IBA 为最好，其特点是生根快、生根率高，半个月后生根率为 80%，30 天后达 96%，见表 3。

表 3：　　不同培养基对生根的影响

基本培养基	转接数(个)	生根数(个)	生根率(%)
1/2MS	50	48	96%
MS	50	20	40%

注：表内数字为五次试验之和

维普资讯 http://www.cqvip.com

三、结论：

1、结果表明：外植体诱导芽分化中采自地下部分的外植体携带杂菌较多，较难彻底灭菌，接种后污染严重，加之其本身褐色分泌物较多，导致外植体停止生长或死亡；腋芽经过诱导培养后，发现腋芽增高生长明显，植株粗壮；叶片切口周围产生愈伤组织腋芽处长出不定芽。因此较适宜的外植体部位为种子，种子表面光洁，自身携带的杂菌少，灭菌较容易，发芽率高，是较适宜的外植体材料。其次是腋芽、叶片。根部不宜作独一味初代培养的外植体。

2、通过近一年的试验研究，初步掌握了该技术应用于独一味。初步了解到几种培养配方及培养温度等。总结积累许多经验，为进一步研究藏药材的组培技术及藏药材栽培技术打下了良好基础。试管快速繁殖技术作为无性繁殖的方法应用于生产其前景十分广阔。在独一味等藏药材推广上将起到重要作用。

四、存在的问题与建议：

1、由于本试验受到时间和研究材料的限制，只研究出独一味这一个品种，故还需要加大力度采集更多的濒危藏药材来进一步深入认真地研究。

2、需要时间对独一味的试管快繁技术及操作规程进行完善。

3、下一步将独一味试管苗进行温室炼苗、移栽与管理技术研究，尽快完善繁殖全过程，全面迅速地提高独一味繁殖与推广速度。

（上接13页）

(1)用40%燕麦畏每亩用0.5公斤拌砂土30－40斤撒到地表，随即耕翻入土，耙平后播种。（为简便农田操作工序，可结合底肥深施同步进行，以化肥为载体，将燕麦畏与化肥拌匀撒到地表，边撒边耕翻）。

(2)用40%燕麦畏每亩用0.4公斤药兑水30－50斤喷在地表，随即耕翻入土，耙平后播种，对农家肥进行表面喷雾均匀后，即可撒施肥料。

(3)用28%禾草灵每亩用0.2公斤，兑水120斤，在燕麦3－4叶期进行叶面喷雾。