

· 栽培与育种 ·

狭叶松果菊快速繁殖

马林

(西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳 621010)

摘要 以狭叶松果菊 *Echinacea angustifolia* 种胚作外植体, 以 MS 为基本培养基, 经芽诱导及愈伤组织分化途径获得丛生芽和绿苗, 无根苗培养后再经生根诱导和炼苗移栽等快速繁殖方法试验。结果: 种胚先予以 7 d 的低温暗培养处理有利于胚根和胚芽的生长, 萌发后较易形成绿苗; 单芽用 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L 培养生长和增殖效果最好; 经丛生芽诱导方式, 增殖系数可达 3.05。

关键词 狭叶松果菊; 种胚; 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(2007)06-0629-03

Rapid Propagation of *Echinacea angustifolia*

MA Lin

(School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China)

Abstract The embryo of *Echinacea angustifolia* was used for explants to induce shoots and callus on MS medium. The plantlets could produce from embryo directly and the shoots could be induced to form fasciculate buds through the callus differentiation. The green plantlets from embryo or fasciculated buds were used for rooting inducement. The experiment showed that the embryo pre-cultured at 4°C and in dark for 7 days can germinate easier than at other cultural conditions; Treatment with low temperature and dark were favorable for growth of radicle and plumule and development of green plantlets; A single shoot could proliferate rapidly to form fasciculated buds by means of callus induction and differentiation; the optimal medium for growth and proliferate were MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L. With this method, the proliferous coefficient should be achieved 3.05.

Key words *Echinacea angustifolia*; Embryo; Tissue culture; Rapid propagation

狭叶松果菊 *Echinacea angustifolia* 为多年生草本, 原产于美洲北部, 我国有引种栽培。全株可入药, 主要成分为多糖、糖蛋白、松果菊苷及烷基酰胺类化合物等, 还含有菊苣酸、多聚炔、类黄酮、单萜苷及挥发油等成分^[1]。松果菊属植物制剂有较强的免疫促进和调节活性, 还有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抗菌作用, 其提取物还具有防止和治疗辐射损伤的作用^[2]。近年来, 松果菊属植物的人工栽培和开发利用已日益受到人们的重视, 但采种困难及发芽率低、出苗不整齐等原因, 影响了大面积种植。研究狭叶松果菊的离体快繁技术, 可为生产提供优质种苗。

有关狭叶松果菊组织培养的研究, Harbage 报道过种子、茎尖和茎段等的离体培养^[3], Smith 等从子叶和下胚轴诱导愈伤组织作了细胞培养的初步研究^[4]。本试验以种胚培养获得单芽, 建立狭叶松果菊的离体快速繁殖方法。

1 材料与方 法

狭叶松果菊种子由绵阳市美欧斯达生物技术有限公司提供, 在常温条件下保存。

1.1 种子灭菌处理 种子以 40°C 温水浸泡 3 h, 剥

出种胚, 以 75% 乙醇(含 1% 的吐温 20)和 10% 次氯酸钠先后灭菌 30 s 和 15 min, 无菌水冲洗 5 次后接种。

以 0.8% 琼脂和 3% 的蔗糖配制 MS 基本培养基, 并针对不同的试验添加不同种类及浓度的激素。灭菌前调 pH 值为 5.8~6.0, 常规灭菌处理。

1.2 种胚培养 MS 附加 1 mg/L 的 VB₆, 培养 30 d。培养条件设 3 种处理: A. 4°C 暗培养 7 d 后转入 25°C 光照培养 23 d; B. 25°C 暗培养 30 d; C. 25°C 光照培养 30 d; 每处理接种 8 瓶, 每瓶接种 10 粒种胚。

1.3 丛生芽诱导 将种胚萌发后仅有两片子叶的单芽切去胚根, 接种到 MS + BA 1.0 mg/L(激素单位, 下同) + NAA 0.5、MS + BA 1.0 + NAA 1.0、MS + BA 2.0 + NAA 0.5 和 MS + BA 2.0 + NAA 1.0 四种培养基上, 培养 30 d, 每处理接种 9 瓶, 每瓶接种 3 芽。

1.4 芽继代增殖与壮苗培养 将丛生芽接种到 MS 添加不同浓度的 BA 和 NAA 共 4 种培养基中, 每处理接种 15 瓶, 每瓶接种 2 芽。

1.5 生根培养 设 MS、1/2MS 和 MS + NAA 0.5

等 3 种处理。用高 3~4 cm, 有 4~5 片叶的小苗诱导生根, 每处理接种 30 瓶, 每瓶接种 1 株。培养 30 d 后统计结果。

1.3 至 1.5 三项试验均采用光照培养, 培养温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 光照强度 1000~1500 lx, 每天光照 12 h。

1.6 炼苗与移栽 将形成完整根系且生长旺盛的幼苗在培养室内揭去封口膜炼苗 3 d, 再转至室温下炼苗 3 d, 小心洗掉根部粘附的培养基, 移栽至塑料温室大棚苗圃。

2 结果与分析

2.1 培养条件与种胚萌发 种胚接种 30 d 后萌发情况(表 1)。光照培养前, 用低温暗培养处理明显有利于胚根和芽的萌发, 第 10 d 即见到胚根萌动, 30 d 后绿苗数较多, 萌发率达到 92.5%; 全程暗培养的萌发率及启动时间优于光照培养, 但暗培养处理的芽长势较弱, 颜色淡黄, 很难形成绿苗。

表 1 培养条件对种胚萌发的影响

培养条件	接种数 (粒)	萌发数 (个)	萌发率 (%)	启动 时间 (d)	绿苗数 (株)
4℃暗培养 7 d、 25℃光照培养 23 d	80	74	92.5	10	58
25℃暗培养 30 d	80	70	87.5	12	0
25℃光照培养 30 d	80	61	76.3	15	40

2.2 丛生芽诱导与生长 切掉胚根的单芽接种到培养基约 10 d 后, 可见到芽体的明显生长, 同时在芽的基部形成白色或淡黄色愈伤组织。25 d 左右, 愈伤组织开始出现芽的分化。30 d 左右, 95% 接种的单芽都能通过愈伤组织分化产生 2~4 个丛芽, 详见表 2。

表 2 丛生芽诱导情况比较

培养基	接种 单芽数 (个)	诱导 丛芽数 (个)	丛芽 诱导率 (%)	丛芽平 均芽数 (个)	增殖 系数
MS + BA 1.0 + NAA 0.5	27	22	81.5	2.3	1.87
MS + BA 1.0 + NAA 1.0	27	21	77.8	2.2	1.71
MS + BA 2.0 + NAA 0.5	27	24	88.9	3.1	2.76
MS + BA 2.0 + NAA 1.0	26	24	92.3	3.3	3.05

注: 增殖系数 = (诱导丛芽数 × 丛芽平均芽数) / 接种单芽数

4 种培养基以 MS + BA 1.0 + NAA 0.5 和 MS + BA 1.0 + NAA 1.0 生长的芽体差异不大, 较粗壮, 小叶片多, 且多数芽体均能长成小苗。在 MS + BA 2.0 + NAA 0.5 和 MS + BA 2.0 + NAA 1.0 培养基上生长的芽体比较接近, 丛芽的平均芽数虽较前两种培养基多, 但芽体相对细弱, 小叶片少, 培养后期能长成小苗的也较少。说明较高浓度的 BA 有利于芽的分化但不利于芽的生长。

2.3 培养基对芽增殖和成苗的影响 将丛生芽分瓶, 转接到表 3 的 4 种继代增殖培养基, 15 d 后, 在未添加激素的 MS 培养基中, 芽的生长较为缓慢, 而在其它 3 种培养基均生长较快, 且多数小芽可长成小苗。培养 20 d 左右, 小苗基部可长出新的嫩绿色小芽, 继续培养逐渐变成墨绿色。在 MS + BA 0.5 + NAA 0.5 培养基中芽苗的长势最好, 可见到 NAA 浓度相同的条件下添加低浓度的 6-BA 有利于小苗生长。

表 3 不同培养基对芽的增殖和成苗的影响

培养基	接种芽 数	培养 20 d		培养 30 d	
		增殖后 总芽数	增殖 系数	成苗数	成苗 率%
MS	30	38	1.27	21	70.0
MS + BA 0.5 + NAA 0.5	30	62	2.07	44	146.7
MS + BA 1.0 + NAA 0.5	28	60	2.14	37	132.1
MS + BA 2.0 + NAA 0.5	30	69	2.30	32	106.7

2.4 培养基对生根的影响 具有 4 片叶以上生长旺盛、深绿或墨绿色的小苗, 接种到表 4 的 3 种培养基中均较易生根, 其中以 1/2 MS 的生根效果最好, 培养 30 d 后平均生根数最多, 生长较旺盛。但 3 种培养基所诱导的根均缺少肉眼可见的根毛, 根的先端也较钝。

表 4 不同培养基对生根的影响

培养基	接种 小苗数	生根率 (%)	平均 根数	平均 根长 (cm)	生长 状况
MS	30	93	2.3	3.2	紫红色、有分 支、根较粗
1/2 MS	30	100	2.9	4.1	紫红色、分支较 多、根粗
MS + NAA 0.5	30	100	2.6	4.5	紫红色、分支较 多、根较细

2.5 移栽成活率 4~6 月份较适合狭叶松果菊在四川绵阳地区出瓶炼苗和移栽, 经过培养室和室温下两次炼苗, 直接移栽于温室大棚, 成活率可达 80% 以上。

3 讨论

狭叶松果菊是松果菊属中应用最广泛的 3 个种之一。由于国内引种栽培的地区和面积有限, 本研究以种胚为外植体诱导胚芽萌发, 再经继代增殖获得丛生芽和小苗, 建立了一种简便易行的快速繁殖方法。

试验表明, 种胚先予以 7 d 的低温暗培养处理, 有利于胚根和胚芽生长, 萌发后较易形成绿苗。将去掉种皮的种胚经低温预处理, 既有利于解除休眠, 又能避免直接用种子作外植体所引起严重污染问题^[3,4]。暗培养处理有利于器官的发生, 与 Zobayed 等将紫花松果菊叶片在黑暗下预培养 14 d, 所获结

果一致^[5]。

种胚接种后长成的绿苗可直接用于生根诱导;未形成绿苗的单芽可经愈伤组织分化途径获得丛生芽;切掉胚根的单芽接种到 MS + BA 1.0 + NAA 0.5 培养基上,除芽体本身能正常生长外,基部形成的愈伤组织可进一步分化产生新的不定芽,增殖系数可达 3.05。

参 考 文 献

- [1] 张莹,刘珂,吴立军. 紫锥菊属药用植物研究进展. 中草药,2001,32(9):852-855.
[2] 张英涛,王弘,刘文芝,等. 松果菊属药用植物的应用基础研究. 北京大学学报(医学版),2004,36(1):90-93.

- [3] Harbage J F. Micropropagation of *Echinacea angustifolia*, *E. pallida* and *E. purpurea* from stem and seed explants. HortScience, 2001,36:360-364.
[4] Smith M A L, Kobayashi H, Gawienowski, et al. An in vitro approach to investigate medicinal chemical synthesis by three herbal plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2002,70:105-111.
[5] Zobayed S M, Saxena P K. In vitro regeneration of *Echinacea purpurea* L: Enhancement of somatic embryogenesis by indolebutyric acid and dark pre-incubation. In Vitro Cellular and Development Biology-Plant, 2003,39:605-612.

(2006-09-18 收稿)

云南萝芙木在怒江河谷地区试种报告

刘锡葵¹,张方进²,祖炬雄^{1△}

- (1. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室,云南昆明 650204;
2. 怒江方正植物生化有限公司,云南怒江 673100)

摘要 云南萝芙木从云南省西畴县引入云南怒江干热河谷地区,经 3 年试种,生长良好,可终年不落叶,定植两年的植株,根鲜重可达 1400 g。试种结果表明,利用干热河谷地区小气候环境,有利于扩展云南萝芙木种植区和药材资源。

关键词 云南萝芙木;试种;怒江河谷

中图分类号:R282.2 **文献标识码**:A **文章编号**:1001-4454(2007)06-0631-03

云南萝芙木 *Rauwolfia yunnanensis* Tsing 为夹竹桃科多年生直立灌木。根入药味苦、性寒、有微毒,具有降血压、泻肝火、镇静、解瘀、消肿毒等功效。云南民间用于治疗感冒发热、咽喉肿痛、头痛眩晕、痧症腹痛、呕吐、癫狂、风痒疮疥、蛇咬蝎伤等疾病。对神经性皮炎、接触性皮炎、慢性湿疹等皮肤疾患,有效率达 89%,叶捣烂外敷治跌打、蛇咬、皮肤过敏等有很好的疗效^[1-3]。本种主要分布于云南西双版纳、文山、红河,广西西南部龙州、靖西^[4]等地北回归线附近及以南地区;散见于贵州南部兴义、望谟、安龙、荔波^[5]等地北纬 25℃ 至北回归线之间。野生见于热带雨林及热带、亚热带山地(海拔 500~1600 m)的草丛、灌丛或林下溪边潮湿肥沃地;喜高温湿润,能耐受短期霜冻及 0℃ 低温;年降雨量在 1200 mm 左右,相对湿度 75%-85% 地区能正常生长,以温度 21~30℃ 生长较好。在高温多雨季节,生长旺

盛,冬季低温季节生长缓慢。苗期荫蔽度要求在 70% 左右,成年植株荫蔽度在 50%-60%,属半遮荫性植物^[6-9]。

云南萝芙木根含 2% 总生物碱,为 0.02% 利血平(reserpine)、0.043% 阿马里新(ajmalicine)及蛇根碱、蛇根次碱、育享宾(yohimbine, 0.056%)等二十多种酸溶性生物碱^[2,10-12],用云南萝芙木根为原料生产的降压灵对 I、II 期高血压病人有较好的降压作用,其降压效率可达 80%,作用快而持久;是生产“降压灵”、寿比南和利血平的重要原料。

目前云南萝芙木原料紧缺,根据本种生长习性 & 云南干热河谷地区小环境气候特征,2003 年从产地西畴县法斗乡采集种子和种苗至怒江河谷地区上江乡,经过 3 年多的实验,生长良好,目前已全部正常开花结实、越冬。

1 云南萝芙木引种及试种地概况

基金项目:云南省自然科学基金项目(2006C0010Z)

作者简介:刘锡葵,副研究员,从事药用植物资源及化学研究,Tel:0871-5215967。

△祖炬雄现在湖南省医药学校。