

珙菲亚的组织培养快速繁殖研究

凌征柱^{1,2} 刘园^{1,2} 马小军³ 覃文流² 蓝祖栽¹ 吴庆华¹

(1. 广西药用植物园 南宁 530023; 2. 广西大学 南宁 530005;

3. 中国医学科学院药用植物研究所 北京 100094)

摘要:通过对珙菲亚进行离体培养快繁技术的研究,解决珙菲亚引种栽培中种源短缺问题。方法:用茎尖为外植体,以MS为基本培养基,附加不同浓度的激素进行培养。结果:用MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L诱导培养,40 d可获得丛生芽;继代用MS+BA 1.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L培养,增殖率3.9;用1/2 MS+NAA 1.0 mg/L培养15 d可获得生根植株。结论:本研究得出的方法可为引种栽培珙菲亚提供大量种苗。

关键词 珙菲亚 组织培养 丛生芽 再生植株

Research on *Pfaffia Paniculata* Quick-propagation in Vitro Culture

Ling Zhengzhu^{1,2}, Liu Yuan^{2,1}, Ma Xiaojun³, Qin Wenliu², Lan Zuzai¹, Wu Qinghua¹

(1. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning, 530023;

2. Guangxi University, Nanning 530005;

3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy Science, Beijing 100094)

Abstract: Objective: To solve the shortage of *Pfaffia paniculata* seed resource for introduction and cultivation by quick-propagation in vitro culture. Methods: The stem apex of *Pfaffia paniculata* was used as explants and cultivated in the minimal medium MS with different concentration of hormone. Results: The cluster buds were obtained after forty-day induction culture in the medium of MS + BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L. The subculture medium was MS + BA 1.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L. The rate of multiplication was 3.9. The medium 1/2 MS + NAA 1.0 mg/L was the best one for root inducement. Rooting plants were obtained after fifteen-day root induction culture. Conclusion: The quick-propagation in vitro culture could be used for providing the seedling of *Pfaffia paniculata* for the introduction and cultivation in large scale.

Key words *Pfaffia paniculata* Tissue culture Cluster bud Regenerated plant.

珙菲亚,俗称巴西人参(Suma),为苋科(Amaranthaceae)植物巴西人参(*Pfaffia paniculata*)的根,主要分布在南美洲的巴西等热带雨林地区,在我国没有自然分布。珙菲亚药用部位为根部,其疗效广泛,作用显著,在药用植物中地位可与人参相媲美,因此俗称“巴西人参”,“珙菲亚”为中文译名。当地居民使用已经有300多年的历史,主要功效为滋补、降血糖,用于治疗心血管系统、中枢神经系统、生殖系统、消化系统多种疾病^[1,2]。现代实验科学的研究结果证明,该药材在抗肿瘤方面、镰刀形血球贫血症的治疗有明显作用。国外已有许多研究,并开发出以珙菲亚参为原料的多种药物在市场上销售,国内已有企业进口野生原料从事其功能食品和药品的研发^[3]。

目前国内已有中国医学科学院药用植物研究所初步引种。为了解决珙菲亚在引种栽培中种源短缺的问题,我们采用生物技术手段对珙菲亚进行组织培养快速繁殖研究,为开发和利用珙菲亚药用植物以及丰富我国药用植物种类资源。

收稿日期: 2006-06-29。

基金项目: 广西壮族自治区卫生厅科研课题(Z 2006178)

作者简介: 凌征柱(1953~),男,副研究员,硕士生导师;研究方向: 药用植物组织培养及引种驯化。

1 材料与方法

1.1 材料

原植物来源于巴西巴拉纳州,由巴西德清翰尔斯食用资源开发有限公司赠送,经中国医学科学院药用植物研究所马小军研究员鉴定。选取其原植物的幼嫩茎尖为外植体。

1.2 方法

将材料用软刷在洗衣粉液中轻轻刷洗,用自来水中细流水冲30 min。然后在超净工作台上用0.1%升汞消毒8~10 min,再用无菌水洗4~5次。将茎尖切成大约0.5 cm的小段,接种到诱导培养基上进行诱导培养。当丛芽长约2~3 cm时,将其切下进行继代培养,3~5 cm高时转入生根培养基。

1.3 培养条件

选用MS为基本培养基,附加不同浓度的BA和NAA,蔗糖浓度为2%,pH值5.8,用0.8%琼脂固化,分装后在126℃条件下灭菌20 min。培养温度(26±2)℃,光照用日光灯1500~2000 lx,每天连续光照12 h。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

茎尖接种于培养基中,5 d后基部开始膨大,25 d萌发丛生芽。从表1看出,在5种培养基中,3号培养基最好,2号次之,1号、4号培养基未长丛生芽,5号培养基不但没长丛生芽,而且叶片变形。

2.2 丛生芽继代增殖

丛生芽40 d后长至3 cm高时,将从芽切成单芽接种到继代培养基上。继代培养10 d后,单芽基部不断有新的不定芽产生。在继代培养中,7号培养基较好,增殖率达3.92%,平均株高2.17 cm,芽粗壮。所以无论从芽的增殖系数或苗的平均高度和茎杆粗度来看,7号培养基优于6号、8号、9号、10号培养基。

2.3 珙菲亚根的诱导

珙菲亚丛生芽在继代培养基中长出3~5 cm高时,将其切成单芽转入1/2 MS生根培养基中诱导生根。7 d后单芽基部开始膨大生根,14 d后根数可长到3~5条,根长达1 cm以上。在11号~14号培养基中,13号培养基根系生长最好、粗壮、根数多,发根率高。其它培养基发根少,根系生长弱。

2.4 炼苗移栽

试管苗在生根培养基上生长15 d,苗高达4~6 cm,有3条以上粗壮根时,将瓶盖打开,置于室内炼苗2~4 d,然后将小苗从培养瓶中取出,洗净粘附在根上的培养基,为了提高移栽成活率,先栽植于沙床。30 d后苗可直接从沙床移栽植大田。成活率能达到93.5%。

表1 不同浓度BA对珙菲亚丛生芽诱导的影响

编号	浓度(mg/L)		出芽 状态	粗壮 度	生长情况
	BA	NAA			
1	0.5	0.5	单芽	细	生长缓慢
2	1.0	0.5	丛芽	中	丛芽少,叶片较多绿色
3	1.5	0.5	丛芽	粗	丛芽多,茎段红色,生长良好
4	2.0	0.5	单芽	细	生长弱
5	3.0	0.5	—	—	不生长,叶片有皱缩现象

表2 不同浓度BA对珙菲亚继代培养的影响

编号	浓度(mg/L)		接种数 (个)	丛芽数 (个)	增值率 (倍)	株高 (cm)	芽粗 壮度
	BA	NAA					
6	1.0	0.2	25	77	3.08	1.60	中
7	1.2	0.2	25	98	3.92	2.17	粗
8	1.4	0.2	25	90	3.60	2.06	粗
9	1.6	0.2	25	81	3.24	1.91	中
10	1.8	0.2	25	76	3.04	1.63	细



图1 珙菲亚丛生芽



图2 珙菲亚试管苗移栽生长状况

表3 不同浓度NAA对珙菲亚生根培养的影响

编号	NAA (mg/L)	接种数 (株)	生根数 (株)	生根率 (%)	株平均 根数/条	生长情况
11	0.2	50	48	96.0	3.6	细长,长势较弱
12	0.5	50	46	92.0	5.7	短粗,长势一般
13	1.0	50	49	98.0	7.4	健壮,长势良好
14	1.5	50	47	94.0	4.3	短粗,长势弱

(下转第26页)

藏寿命延长一倍有所不同,但由于只得到了一种作物和2个温度条件的结果,因此有必要加大作物种类等条件以验证传统理论的科学性。

种子含水量对种子贮藏寿命影响很大,随着种子含水量的降低,种子贮藏寿命大大提高。每降低1%的种子含水量,种子贮藏寿命平均延长0.9倍,这与传统理论基本一致。但油菜种子降至2.0%的含水量,其种子贮藏寿命仍是随着含水量的降低而不断延长,这一试验结果说明,哈林顿提出的种子水分在5%~14%范围内水分增减与贮藏寿命关系原则,含水量的下限5%可以打破,至少油菜种子可以降低至2.0%。

3.3 种子老化检测方法

在检测种子老化方面,发芽指数比发芽率更快更准确,能更早的反映种子生活力的变化情况,因此用发芽指数来评价种子老化的进程要比发芽率好。但由于发芽指数需要每天检查发芽种子数量,因此工作量比发芽率检测大。

参考文献

- Harrington J F. Seed storage and longevity. *Seed Biology*, 1972(3): 145-245.
- Ellis R H, Roberts E H. Improved equations for the prediction of seeds. *Annals of Botany*, 1980a, 45:13-30.
- Ellis R H, Hong T D and Roberts E H. Comparison of the low moisture content limit to the logarithmic relation between seed moisture and longevity in twelve species. *Annals of Botany*, 1989(63):601-611.
- Ellis R H, Hong T D and Roberts E H and Tao K L. Low moisture content limits to relations between seed longevity and moisture. *Annals of Botany*, 1990a(65):493-504.
- Ellis R. H, Hong T. D. and Roberts E. H. . Moisture content and the longevity of seeds of *Phaseolus vulgarism*. *Annals of Botany*, 1990b, 66: 341-348.
- Ellis R H, Hong T D and Roberts E H. The low moisture content limit the negative logarithmic relation between seed longevity and moisture content in three subspecies of rice. *Annals of Botany*, 1992(69):53-58.
- Ellis R H. longevity of seeds stored hermetically at low moisture contents. *Seed Science Research* 8, 1998: 9-10.
- Vertucci C W and Roos E E. Theoretical basis of protocols for seed storage. *Plant Physiology*, 1990(94): 1 019-1 023.
- Vertucci C W and Roos E E. Theoretical basis of protocols for seed storage II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Science Research*, 1993a,3: 201-213.
- Vertucci C W and Roos E E and Crane J. Theoretical basis of protocols for seed storage III. Optimum moisture contents for pea seeds stored at different temperatures. *Annals of Botany*, 1994a(74):531-540.
- Cristina W, Jan E. The effects of storing seeds under extreme dry conditions. *Seed Science Research* 8, 1998:3-8.

(上接第21页)

3 讨论

不同激素浓度对珙菲亚的丛生芽诱导有重要影响,细胞分裂素 BA 用量偏低偏高都不利于丛生芽的诱导和生长。珙菲亚在初代诱导培养时,BA 1.5 mg/L 浓度为最合适。丛生芽多、粗壮,生长良好,芽的长相与原植物一样茎节红色。当 BA 浓度增至 3.0 mg/L 时,生长受到抑制,叶片变形,玻璃化。在继代增殖培养中,BA 1.2 mg/L 丛生芽增殖系数高,芽粗壮,生长良好。当 BA 增至 1.8 mg/L 时,芽几乎停止生长,叶片增厚皱缩,苗玻璃化。

合适的生长素浓度能很好促进珙菲亚的根生长发育。在珙菲亚生根培养中用 NAA 1.0 mg/L 较好,根系发育好,根多,苗壮。其它浓度虽然也能生根,但根显得细且短。

本研究建立起来的珙菲亚快繁技术,40 d 为一个周期,增殖率可达 3.92%,实现了快速繁殖的目的。珙菲亚试管苗种植大田后所得药材用紫外光谱和高效液相色谱与原产地珙菲亚对比分析研究有相似之处

参考文献

- 卞庆亚,罗崇念,马小军. 国外对珙菲亚的研究进展. *中草药*, 2002, 33(5): 1-2.
- 蔡幼清. 巴西人参的抗炎镇痛作用. *国外医学. 中医中药分册*, 1996, 18(1): 56.
- 宋启煌,白研. 巴西人参提取皂甙的工艺研究. *广州化工*, 2000, 28(4): 94-96.