

白术组培快繁技术

朱玉球,夏国华,方慧刚,付顺华,何福基
(浙江林学院生命科学院,浙江临安 311300)

摘要 白术外植体诱导及植株再生试验结果表明:NAA 为白术叶片、叶柄愈伤组织诱导和芽分化的主导因子;MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L + GA₃ 0.2 mg/L 为白术叶片、叶柄愈伤组织诱导、芽分化的最佳培养基;腋芽增殖的培养基以 MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.5 mg/L 较为理想,诱导率达 95%;1/2MS + IBA 0.1 ~ 0.5 mg/L 为白术试管苗生根的最佳培养基,生根率在 90% 以上;试管苗移栽成活率达 90% 以上。

关键词 白术;组织培养;快速繁殖

中图分类号:R282.2 **文献标识码**:B **文章编号**:1001-4454(2006)03-0212-02

白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 肥大根状茎为常用中药。由于种子繁殖多变异,通常用块根繁殖,而块根繁殖难以在短期内获得大量优良种苗,特开展了白术组培快繁技术的研究。

1 材料与方法

1.1 外植体的获取 选取个大、饱满、上小下大,形似蛙状的根茎,用 0.1% 甲基托布津溶液浸泡 24 h 后,于垫有湿润纱布的发芽盒内催芽。8 ~ 12 d 后隐芽开始萌发,待芽长至 1 ~ 1.5 cm 时,用利刀切下,自来水冲洗干净,吸干芽体表面的水分,用 75% 乙醇浸泡 10s,无菌水冲洗 3 次,再用 0.1% HgCl₂ 表面灭菌 10 min 后,无菌水反复冲洗 4 ~ 5 次,接种于 MS + BA 1.0 + GA₃ 0.1 (mg/L,下同)培养基,待苗高 4 ~ 5 cm 时,取叶片、叶柄、茎段为外植体。

1.2 愈伤组织诱导培养基筛选 以 MS 为基本培养基,添加 3 种植物生长调节物质,采用正交试验设计(见表 1),每组 10 瓶,每瓶接 4 个外植体,接种第 30 天,统计实验结果。

1.3 茎段腋芽增殖培养基试验 以 MS 为基本培养基,添加 BA(浓度为 0、1、3、8 mg/L)、IBA(浓度为 0、0.5、1 mg/L)不同浓度组合试验(见表 2),筛选白术茎段腋芽增殖的最适培养基。

1.4 生根培养基组合 以 1/2MS 为基本培养基,添加 2 种生长素。

2 结果与分析

2.1 植物生长调节物质对白术叶片、叶柄愈伤组织诱导和芽分化的影响 试验结果表明:叶片、叶柄愈伤组织的诱导率受 NAA、BA 和 GA₃ 的影响明显,经方差分析均达到了极显著水平。叶片、叶柄愈伤组织芽分化率受 NAA 影响明显,达到了极显著水平。表 1 的数据显示:MS + NAA 0.3 + BA 1.0 + GA₃ 0.2 为白术叶片、叶柄愈伤组织诱导和芽分化较为理想的培养基。

表 1 植物生长物质对白术叶片、叶柄愈伤组织诱导及芽分化效应

培养基编号	植物生长调节剂			叶片		叶柄	
	NAA	BA	GA ₃	愈伤组织形成率	芽分化率(%)	愈伤组织形成率	芽分化率(%)
1	0.3	7	2.0	53.3	35.2	75.2	15.1
2	0.3	4	0.8	45.8	33.6	70.4	16.2
3	0.3	1	0.2	67.4	42.5	89.6	21.7
4	0.1	7	0.8	33.3	16.3	51.3	11.4
5	0.1	4	0.2	11.1	11.2	17.6	9.7
6	0.1	1	2.0	29.2	19.6	37.2	12.1
7	0.05	7	0.2	21.7	15.6	34.7	8.3
8	0.05	4	2.0	8.3	5.4	14.9	6.3
9	0.05	1	0.8	44.4	31.2	68.5	16.3

2.2 植物生长调节物质对白术茎段腋芽诱导与增殖的影响 植物生长调节物质对白术茎段腋芽诱发、腋芽增殖的对比试验,经培养 40 天,观察结果见表 2。当 IBA、BA 的浓度在 0 ~ 4 mg/L 的范围内,随着浓度增大,芽的诱导率增高,增殖倍数加大,当达到 8 mg/L 时,芽的诱导率下降,且生长缓慢;当 IBA 在 0 ~ 1 mg/L 范围内,添加 0.5 mg/L IBA 对芽的诱导、增殖较为有利,IBA 偏高,易诱发芽体的玻璃化。因此,MS + BA 3 + IBA 0.5 为白术腋芽诱导、增殖较为理想的培养基。

表 2 不同植物生长调节物质对叶腋丛生芽诱导结果

植物生长调节物质		接种数(个)	诱导率(%)	增殖倍数	芽生长状况
BA	IBA				
0	0	30	20.0	1.21	生长正常
0	0.5	25	36.0	1.32	生长正常,部分长根
0	1	28	4.3	1.00	芽翠绿,水泽状,部分长根
1	0	28	67.8	2.04	生长正常
1	0.5	37	81.5	3.97	生长正常
1	1	15	86.7	3.00	生长正常,基部明显膨大
3	0	30	90.0	2.19	生长正常
3	0.5	40	95.0	4.35	生长正常
3	1	40	87.5	4.02	芽前 20 天生长正常,继续培养呈半玻璃化现象
8	0	30	83.3	2.23	芽体高,生长缓慢
8	0.5	22	84.5	2.55	芽体高,生长缓慢
8	1	31	80.6	1.78	芽体高,生长缓慢

2.3 试管苗生根与移栽 将生长健壮,高约1.5~2 cm的芽切下,接种于表3的培养基上培养,10 d左右开始生根。结果表明:生长素能促进白术试管苗生根,但生长素种类及其浓度的差异明显,生根效果以IBA好于NAA,二者均以0.5 mg/L的生根率最高,浓度过高易产生畸形根。生根较为理想的培养基为1/2MS + IBA 0.5 mg/L。

表3 生长素诱导白术试验苗生根效果

植物生长调节物质		接种数 (株)	生根率 (%)	平均根 数(条)	根生长状态
IBA	NAA				
0	0	50	20.0	3.45	根乳白色,生长正常
0.1		50	90.0	5.12	根乳白色,生长正常
0.5		50	96.0	5.76	根乳白色,生长正常
1.0		50	88.0	4.12	根乳白色,出现少量的板状根
2.0		50	70.0		根乳白色,50%左右为板状根
	0.1	50	78.0	3.57	根乳白色,生长正常
	0.5	50	86.0	4.23	根乳白色,生长正常
	1.0	50	80.0	3.92	根乳白色,生长正常
	2.0	50	72.0		根乳白色,20%左右为板状根

注:培养20 d观察的结果

当试管苗根长至1~2 cm时,可移栽。在没有控温设施的条件下,以4~6月移栽为佳。移栽时将苗取出,洗净根部的培养基,栽植于经灭菌过的各种基质,浇透水,并搭建塑料拱棚保湿(湿度保持在

85%以上),每2 d喷水1次,3 d后喷施1 g/L的多菌灵或托布津,隔5 d再喷施1次以防病菌。15 d时揭开塑料拱棚,早上、下午各喷一次水,1周后逐渐减少喷水的次数,1个月后即可移入大田。试验结果表明:试管苗移栽较适的温度为20~25℃,移栽成活率可达90%以上。

3 讨论

白术的叶片、叶柄和茎段均为理想的外植体,如为繁殖优良单株的无性系,则以茎段腋芽诱导增生的方式较为理想,虽然增殖速率不及愈伤组织芽分化来得快,但能保持遗传的稳定性。

生长素促进白术试管苗生根,但浓度过高易导致根的畸形,形成板状,降低了试管苗的质量。

白术试管苗移植要求不高,4~6月常温下,成活率达90%以上。操作要规范,并加强移栽后的管理,定时喷施杀菌剂,做好防霉防病工作。

本项研究从去年10月起,筛选出白术茎段腋芽诱导理想培养基MS + BA 3.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L,生根培养基1/2MS + IBA 0.5 mg/L,初步获得20个白术的优良单株,近2万株的试管苗,且长势良好,为工厂化培育优良无性系种苗提供基础和材料。

(2005-07-15 收稿)

2005-12-08 修回)

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Atractylodes macrocephala*

ZHU Yu-qiu, XIA Guo-hua, FANG Hui-gang, FU Shun-hua, HE Fu-ji

(Faculty of Forestry & Biotechnology, Zhejiang Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300, China)

Abstract A study was conducted by tissue culture on the explant of *Atractylodes macrocephala* Koidz. The result showed that NAA was a leading factor for induction of callus from leaf blades and the petiole as well as bud differentiation. MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L + GA₃ 0.2 mg/L was an optimal medium for induction of callus from leaf blades and the petiole and for the bud differentiation also. MS + BA 3.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L was suitable for the proliferation of axillary buds, with an induction rate of 95%. 1/2MS + IBA 0.1-0.5 mg/L was optimum for rooting, with a rooting percentage more than 90%. The survival rate of transplanted plantlets was more than 90%.

Key words *Atractylodes macrocephala* Koidz.; Tissue culture; Rapid propagation

售《中药材》杂志合订本

现有1990年(16元),1991年(22元),1992年(22元),1995年(45元),1996年(45元),1997年(75元),1998年(精装90元),1999年(精装90元),2000年(精装150元),2001年、2002年、2003年、2004年(精装上、下册每年180元),2005年(精装上、下册200元)《中药材》杂志合订本。需者请汇款至《中药材》编辑部购买。