

· 栽培与育种 ·

## 美洲商陆组培快速繁殖

邹利娟<sup>1,2</sup>, 苏智先<sup>2\*</sup>, 胡进耀<sup>2</sup>, 余阿梅<sup>1,2</sup>, 王筱<sup>1</sup>

(1. 西华师范大学生命科学学院, 四川南充 637002; 2. 四川省生态与环境技术重点实验室, 四川绵阳 621000)

**摘要** 目的:探索美洲商陆组培快速繁殖技术。方法:以无菌苗作外植体。结果:初代培养的较粗壮茎段为快速繁殖的最佳外植体,初代培养基为 MS + NAA 0.2 mg/L + 6-BA 1.0 mg/L;丛生芽最佳增殖培养基为 MS + NAA 0.2 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L,最适生根培养基为 1/2MS + NAA 0.4 mg/L。结论:采用美洲商陆无菌苗茎段诱导丛生芽可提高繁殖系数,为大量种植提供种苗。

**关键词** 美洲商陆;诱导丛生芽;快速繁殖**中图分类号**:R282.2 **文献标识码**:A **文章编号**:1001-4454(2008)09-1299-03

### Tissue Culture and Rapid Propagation of *Phytolacca americana*

ZOU Li-juan<sup>1,2</sup>, SU Zhi-xian<sup>2</sup>, HU Jin-yao<sup>2</sup>, YU A-mei<sup>1,2</sup>, WANG Xiao<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, China West Normal University, Nanchong 637002, China; 2. Sichuan Provincial Key Laboratory of Ecology and Environmental Technology, Mianyang 621000, China)

**Abstract** Objective: To explore the technique of rapid propagation for *Phytolacca americana*. Methods: Aseptic seedling were used as explants. Results: The best explants were the stems from strong aseptic seedling. The optimal culture media were MS + NAA (0.2 mg/L) + 6-BA (1.0 mg/L) for primarily culture, MS + NAA (0.2 mg/L) + 6-BA (2.0 mg/L) for the induction of clustered shoots 1/2MS with NAA 0.4 mg/L for rooting. Conclusion: The propagating coefficient of *Phytolacca americana* can be improved by inducing the clustered shoots from aseptic seedling.

**Key words** *Phytolacca americana*; Inducted clustered shoots; Rapid propagation

美洲商陆 *Phytolacca americana* L., 又名垂序商陆, 为多年生宿根草本, 产北美, 我国主要分布于湖南、湖北、河南、云南和四川等地<sup>[1]</sup>。美洲商陆以干燥根入药, 有祛痰、镇咳、平喘、抗菌、抗病毒的作用, 可用来治疗气管炎、慢性肾炎、宫颈糜烂、血小板减少性紫癜、消化道出血等病症<sup>[2,3]</sup>。美洲商陆含多种有效化学成分<sup>[4]</sup>, 所含抗病毒蛋白(PAP)是一种天然广谱抗病毒试剂, 尤其是具有抗 HIV 活性, 对治疗 AIDS 和其他病毒性疾病有广泛的前景<sup>[5]</sup>。

崔丽华等<sup>[6]</sup>曾以美洲商陆茎尖作为外植体, 在不同浓度的细胞分裂素 6-BA 和赤霉素配比的培养基上诱导植株再生。本实验以美洲商陆的无菌苗为外植体, 比较外植体取材方式对丛生芽增殖的影响, 以及不同激素配比对芽和根的分化作用, 为大量种植提供了技术基础。

### 1 材料与方 法

采收美洲商陆成熟紫红色浆果, 在水中挤出种子, 去掉杂质和上浮种子, 清洗干净后晾干, 用浓硫酸浸泡 10 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 沥干水备用。

**1.1 初代培养及外植体筛选** 经表面消毒的种子接种于不含激素的 MS 培养基。当苗高 4~5 cm 时将无菌苗分割成上部(含顶芽和多个节间)和下部茎段, 分别转接到初代培养基 MS + NAA 0.2 mg/L + 6-BA 1.0 mg/L, 以选择最适的外植体材料。

**1.2 增殖培养** 将经过初代培养获得的较粗壮、较长的茎段, 切下接入 MS 添加不同浓度 NAA 和 6-BA 的增殖培养基, 每瓶接种 2 个茎段, 各接 20 瓶。

**1.3 生根培养** 将增殖培养所得的 3 cm 以上的健壮无根苗切割下, 转入生根培养基, 30 d 后统计结果。

**1.4 培养条件** 培养室温度控制在 24 ± 1 °C; 日光灯照明, 约为 2000 lx, 光照 12 h/d。

### 2 结果与分析

**2.1 种子无菌发芽** 美洲商陆种子接种于 MS 发芽培养基, 第 6 d 约 60% 的种子开始萌发; 15 d 后有 96% 种子萌发, 苗高 2.5~3.0 cm; 第 25 d 高 4~5 cm 即可进入初代培养。

**2.2 初代培养及外植体筛选结果** 种子接种 25 d

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30670209);四川省教育厅重大培育项目(07ZZ015)

作者简介:邹利娟(1983-),女,硕士研究生,主要研究方向:植物组织培养及植物生理学研究;E-mail:lijou66@163.com.cn。

\*通讯作者:苏智先,E-mail:zxsu@nnu.edu.cn。

后, 无菌苗较纤细。下部节间距较长(约 1 cm), 上部节间距较短且不易分段。根据节间距长短将无菌苗切成上下部两茎段, 分别接到初代培养基。15 d 后下部茎段仅腋芽萌生; 上部茎段生长迅速, 形成独苗且茎秆粗壮, 节间增长, 叶色嫩绿, 生长正常但无腋芽长出(表 1)。

**2.3 不同激素组合对丛生芽增殖的影响** 剪切初代培养后较粗壮的茎段, 接种于附加不同激素配比的 MS 培养基, 7 d 后腋芽长出, 并在茎段基部出现绿色芽点, 20 d 后形成丛生芽, 且数量不断增多, 45 d 后统计结果(表 2): NAA 配比 6-BA 能直接诱导丛生芽, 诱导率均可达 90% 以上, 而且供试的 11 种培养基都伴随有黄色疏松愈伤组织生成。NAA 和 6-BA 浓度配比不同, 对美洲商陆丛生芽的形成影响较大, 当 NAA 浓度在 0.2 mg/L 时, 丛生芽较粗壮, 且生长旺盛, 增殖系数高。激素组合中 6-BA 浓度较低时, 产生少量愈伤组织, 随着 6-BA 浓度的增高愈

伤组织增多。愈伤组织量多长出的丛生芽较纤细且生长缓慢。比较合适美洲商陆茎段增殖的培养基为 MS + NAA0.2 mg/L + 6-BA2.0 mg/L, 增殖系数高达 12.776, 长出的丛生芽最易分割。

表 1 两种外植体初代培养结果

外植体	培养时间	生长状况	再培养	再培养时间	生长状况
上部茎段	15 d	上部由白色变成红色, 基部切口处形成少量愈伤组织, 长成独苗, 生长较快, 无腋芽和丛生芽点	剪切粗壮的茎段, 接到增殖培养基	7 d	出现大量绿色丛生芽点
下部茎段	15 d	茎段由白色变成红色, 基部切口处形成大量愈伤组织, 仅长出腋芽, 无丛生芽点	不做进一步处理, 继续培养	18 d	腋芽继续生长, 较旺盛, 基部开始出现少量绿色丛生芽点

表 2 不同激素组合的丛生芽诱导结果

培养基编号	激素组合 (mg/L)	接种外植体数	长出丛生芽的外植体数	诱导率 (%)	有效总芽个数	增殖系数	芽生长状况
1	NAA0.05 + 6-BA0.5	40	38	95.0	257	6.425	数量少, 纤细、长势慢, 基部有少量黄色疏松愈伤组织
2	NAA0.05 + 6-BA1.0	40	40	100.0	341	8.525	数量较少、纤细、生长快, 基部有少量黄色疏松愈伤组织
3	NAA0.05 + 6-BA1.5	40	40	100.0	350	8.750	数量较少、纤细、生长慢, 基部有大量黄色疏松愈伤组织
4	NAA0.05 + 6-BA2.0	40	37	92.5	256	6.400	数量较少、纤细、生长慢, 基部有大量黄色疏松愈伤组织
5	NAA0.05 + 6-BA3.0	40	39	97.5	200	5.000	数量少、较纤细、生长慢, 基部有大量黄色疏松愈伤组织
6	NAA0.2 + 6-BA1.0	40	40	100.0	420	10.500	数量多、粗壮、生长快, 基部有少量黄色疏松愈伤组织
7	NAA0.2 + 6-BA2.0	40	40	100.0	511	12.775	数量最多、粗壮、生长快, 基部有大量黄色疏松愈伤组织
8	NAA0.2 + 6-BA3.0	40	39	97.5	368	9.200	数量多、纤细、生长快, 基部有大量黄色疏松愈伤组织
9	NAA0.4 + 6-BA1.0	40	36	90.0	228	5.700	数量少、粗壮、生长慢, 基部有少量黄色疏松愈伤组织
10	NAA0.4 + 6-BA2.0	40	38	95.0	209	5.225	数量少、纤细、生长慢, 基部有少量黄色疏松愈伤组织
11	NAA0.4 + 6-BA3.0	40	40	100.0	198	4.950	数量最少、纤细、生长慢, 基部有大量黄色疏松愈伤组织

**2.4 生根培养** 当丛生芽长到 3~4 cm 高时, 将芽分开接到 1/2MS、MS 附加不同浓度 NAA 的生根培养基, 8 d 后开始出现白色细根, 30 d 后统计生根结果(表 3): NAA 能促进美洲商陆根系生长, 以第 5

号组合的 1/2MS + NAA0.4 mg/L 生根效果最好。  
**2.5 移栽** 将生长健壮的试管苗开盖, 于培养室炼苗一周后, 用自来水洗去根部黏附的培养基, 移栽。移栽 15 天后成活率达 100%, 且植株健壮。

表3 不同激素组合美洲商陆生根的诱导

No.	基本培养基	NAA (mg/L)	生根率 (%)	平均根数	平均根长 (cm)	根生长状态	植株
1	MS	0	0	0	0	基部包被亮白色愈伤组织,无根长出	植株矮小,长势较弱
2	MS	0.4	100	20.4	4.859	无愈伤组织,根白色、较繁密、粗壮	较健壮
3	MS	0.8	100	28.2	2.575	无愈伤组织,根白色、繁密、较健壮纤细,有毛状根	较健壮
4	1/2MS	0	48.83	7.1	3.066	无愈伤组织,根微红色、稀疏	长势弱
5	1/2MS	0.4	100	24.5	5.103	无愈伤组织,根白色、较繁密、粗壮	健壮
6	1/2MS	0.8	100	22.3	2.778	无愈伤组织,根白色、较繁密、纤细,有毛状根	较健壮

3 讨论

3.1 外植体对美洲商陆丛生芽增殖的影响 本实验选用了两种取材方式:(1)取无菌苗节间距较短的上部接于初代培养基上培养15 d,待节间距稍长且茎秆较粗壮时,再分割成多个茎段并转接到增殖培养基上;(2)取无菌苗节间距较长的下部茎段接于初代培养基上培养。结果表明,前一种取材方式产生的丛生芽速度快且数量更多。李志勇等在诱导大蒜愈伤组织时发现外植体取材部位、大小对大蒜愈伤组织诱导所需时间及效果有较大影响<sup>[7]</sup>,达克东<sup>[8]</sup>、谷瑞升<sup>[9]</sup>等曾观察到过量的愈伤组织抑制苹果叶片和胡杨茎段的植株再生。后一种取材方式的下部茎段基部被大量愈伤组织包被,减缓了丛生芽的分化速度和分化率,证明了美洲商陆快速繁殖也受外植体取材部位、大小的影响。以无菌苗上部茎段为材料所诱导的丛生芽数量是崔丽华等<sup>[6]</sup>采用茎尖诱导的3~4倍,且分化率高。

3.2 激素对比对美洲商陆快速繁殖的影响 细胞分裂素和生长素对丛生芽的诱导及生长起着重要的作用。一般诱导丛生芽时细胞分裂素用量高于生长素的用量,而诱导不定根只用生长素或配合使用较低浓度的细胞分裂素<sup>[10]</sup>。本实验所用细胞分裂素6-BA的量高于生长素NAA时可以提高美洲商陆丛生芽的增殖系数,但比例过高,则会抑制丛生芽的增殖,影响丛生芽的质量。熊友华等在研究圆瓣姜花种子胚的培养与快速繁殖时也发现此现象<sup>[11]</sup>。对于美洲商陆增殖诱导的最佳培养基为MS+NAA0.2

mg/L+6-BA2.0 mg/L;诱导组培苗生根则以1/2MS附加NAA0.4 mg/L效果最好。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第26卷. 北京:科学出版社,1988:19.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部. 北京:化学工业出版社,2000:266.
- [3] 赵洪新,孟涛. 商陆的植物学特征及利用. 特种经济动植物,2001,(9):28.
- [4] 刘庆,刘慧君. 商陆的应用及毒副作用. 新疆中医药,2002,20(1):40-42.
- [5] 林爱玉,王秋颖. 美洲商陆抗病毒蛋白及其在艾滋病治疗中的应用. 中草药,2003,34(9):3-6.
- [6] 崔丽华,张海燕,张铁汉,等. 美洲商陆快速繁殖实验体系的建立. 北京师范大学学报,2004,40(3):390-392.
- [7] 李志勇,郭勇,罗焕亮. 大蒜愈伤组织诱导条件初报. 广西植物,1999,19(3):251-254.
- [8] 达克东,张松,李芽志,等. 苹果离体叶片培养直接体细胞胚胎发生研究. 园艺学报,1996,23(3):241-245.
- [9] 谷瑞升,蒋湘宁,郭仲琛. 胡杨离体器官发生及试管无性系的建立. 植物学报,1999,41(1):29-33.
- [10] 颜昌敬. 植物组织培养手册. 上海:上海科学技术出版社,1991:25-98.
- [11] 熊友华,马国华,刘念,等. 圆瓣姜花种子胚的组织培养与快速繁殖. 广西植物,2005,25(3):241-244.

(2008-03-04 收稿  
2008-05-20 修回)

\*\*\*\*\*  
\* 《中药材》杂志为国内外权威的中药科技学术期刊,欢迎投稿! \*  
\*\*\*\*\*