

药用植物头花蓼的组织培养快速繁殖

毛堂芬¹, 朱英^{1,2}

(1. 贵州省生物技术研究所, 贵州 贵阳 550006; 2. 贵州省农业生物技术重点实验室, 贵州 贵阳 550006)

[摘要] 以头花蓼带节茎段为外植体进行组培快速繁殖试验, 结果表明: 在 MS 培养基上腋芽的诱导率最高, 达 93.3%; 添加 6-BA 4.0 mg/L 对芽的增殖生长效果较好, 增殖倍数为 4.2; 在 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L 培养基上生根效果最好, 达 100%; 组培苗移栽至蛭石: 腐殖土(1:1) 的基质中成活率最高, 达 93.3%, 且生长旺盛。

[关键词] 头花蓼; 茎段培养; 快速繁殖

[中图分类号] S567.23⁺9

[文献标识码] A

Rapid Propagation of *Polygonum capitatum* by Tissue Culture

MAO Tang-fen¹, ZHU Ying^{1,2}

(1. Guizhou Biotechnology Institute, Guiyang, Guizhou 550006; 2. Guizhou Key Laboratory for Agricultural Biotechnology, Guiyang, Guizhou 550006, China)

Abstract: The stem-segements with axillary buds of *Polygonum capitatum* were cultured for its rapid propagation to produce its quality seedlings. The results showed that the germination rate of axillary buds cultured on MS medium was up to 93.3%, the optimum medium for bud multiplication was MS supplemented with 6-BA 4.0 mg/L and its multiplication time could reach 4.2, the optimum medium for inducing roots was 1/2MS+NAA 0.2 mg/L and its rooting rate could reach 100% and the survival plantlet rate transplanted in a substrate with an equal volume of humus soil and vermiculite was 93.3%.

Key words: *Polygonum capitatum*; stem-segment culture; rapid propagation

头花蓼(*Polygonum capitatum*)为蓼科(Polygonaceae)蓼属(*Polygonum*)多年生草本植物, 又名石莽草、骨虫草、四季红等, 是少数民族地区的常用草药, 苗药名“搜挡索”。主要分布于我国西南部如广西、江西、贵州、云南、四川、湖南、西藏等省(区), 印度、越南也有分布, 多生长在岩石阴湿处、水沟边、阴湿地、田土边。有效成分主要为总黄酮和槲皮素等, 对泌尿系统感染有独特疗效, 主治肾炎、膀胱炎、痢疾、尿路结石、风湿痛、疮疡湿疹等症。

头花蓼是贵州省中药现代化 2010 年前重点发展的“六大苗药”和贵州“十五”期间重点培育发展的“七大中药产业链”中的品种之一。贵州现有多家药厂使用该原料, 产品有“热淋清颗粒”、“热淋清胶囊”等, 需求量很大, 目前贵州省每年需求达 1200t 以上, 且逐年上升, 野生资源逐渐枯竭。为了实现持续利用, 从 1998 年以来孙长生等进行了头花蓼资源调查、野生变家种驯化与规范化种植研究^[1-3]。由于其具有较高的经济效益, 贵州很多地方开始人工大量种植。头花蓼主要依靠细小的种子育苗繁殖^[4], 但 1 年只能繁育 1 次, 成活率受环境气候等因子影响较大。关于头花蓼组织培养快速繁殖的研究, 目前未见报道。作者采用组织培养方法建立的快速繁殖技术体系, 可以周年生产优质种苗, 对实现头花蓼产业化生产具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

外植体采用头花蓼当年生带节茎段。原植物采集于贵州施秉县, 栽种在贵州省农业科学院塑料大棚内, 常规管理。

1.2 试验方法

1.2.1 消毒处理及芽的诱导 采集头花蓼当年新生健壮植株的中部茎段, 将茎节处的叶片摘除, 用自来水冲洗干净。在超净工作台上, 先用 75% 酒精进行表面消毒处理 10~20 s, 再用 0.1% 升汞溶液浸泡消毒 4~5 min, 最后用无菌水冲洗 5 次, 无菌滤纸吸干表面的水分, 然后用无菌的手术刀将材料切成带茎节的小茎段按极性接种在芽诱导培养基上。

1.2.2 继代增殖 将诱导萌发的腋芽苗转接于继代增殖培养基上培养, 1 个月后, 小茎段的腋芽分别长成新的植株, 用芽生芽的方法进行继代增殖快繁。每隔 1 个月转接继代增殖 1 次。

1.2.3 生根培养 在出苗阶段, 将继代增殖培养长成的约 1.5~2.0 cm 高的植株接种于生根培养基上。培养约 20 d 后, 统计生根植株数和生根率。

1.2.4 组培苗的移栽 将有生根组培苗的培养瓶放置于室温自然光照条件下炼苗 3~5 d, 后揭开封口膜, 用镊子轻轻夹出小苗, 在自来水下冲洗干净基部残留的培养基, 用 0.1% 的多菌灵溶液消毒 3~5 min, 然后再用清水洗净, 栽种到预先消毒处理过的基质中, 基质用营养钵分装, 每钵栽种 1 株, 浇水淋透, 适当保湿遮荫。1 周后再浇水 1 次, 15 d 喷施 1 次营养液, 进行常规管理。30 d 后统计植株的成活数、成活率以及生长状况。

1.3 培养条件

培养基中均附加 3% 蔗糖、0.7% 琼脂粉和 0.05% 活性炭, pH 5.8, 按植物组织培养常规方法配制和灭菌。培养温度为 (25±2) °C, 光照时间 12 h/d, 光照强

度为 1500~2000lx。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对茎段芽诱导的效果

将带节茎段接种在添加有 6-BA 1.0 mg/L 和 NAA 0.5 mg/L 的 MS、1/2 MS、N₆ 和 B₅ 4 种培养基上,培养 30 d 后统计诱导出芽的外植体数目。在 3 种培养基上,腋芽均有萌发表(表 1),培养 7 d 以后,茎段基部膨大,腋芽开始萌动,逐渐长出幼芽。其中,以 MS 培养基腋芽诱导率最高,达 93.3%,腋芽萌发植株高 8~10 cm,长势旺盛;其次是 N₆ 培养基,为 80%,株高 6~7 cm;1/2 MS 和 B₅ 培养基上腋芽萌发率较低,植株长势较弱。

表 1 不同基本培养基对茎段芽诱导的影响

Table 1 Effects of different basic media on induction of stem segments

基本培养基 Basic medium	接种外植体数/个 No. of explant	分化芽数/个 No. of bud differentiation	分化率/% Differentiat on rate
MS	30	28	93.3
1/2MS	30	20	66.7
B ₅	30	23	76.7
N ₆	30	24	80.0

2.2 细胞分裂素 6-BA 对芽增殖生长的影响

以 MS 为基本培养基,分别添加不同浓度的 6-BA,将诱导萌发的长约 1.5~2.0 cm 芽接种在培养基上,培养 25 d 后转接统计增殖倍数。结果(表 2)表明,适宜浓度的 6-BA 对芽的增殖生长起着促进作用,分裂素浓度过高则抑制芽的增殖,在未添加细胞分裂素的培养基上,芽生长最慢,苗细弱,增殖倍数仅 1.25;而在添加 6-BA 4.0 mg/L 时芽的增殖倍数最高,达 4.20,且植株生长快,长势旺盛,有利于组培苗的大量扩繁。

表 2 6-BA 对芽继代增殖的影响

Table 2 The effect of different 6-BA concentration on continued reproduction of buds

6-BA /(mg/L)	NAA /(mg/L)	接种瓶 数/瓶 No. of in- culated bottles	转接瓶 数/瓶 No. of trans-ino culated bottles	增殖倍 数/倍 Reproduction times	植株生 长情况 Growth situation of plantlets
0.0	0.1	20	25	1.25	苗生长慢、细弱
1.0	0.1	20	34	1.70	苗生长慢、细弱
2.0	0.1	20	43	2.15	苗生长较慢、较细弱
4.0	0.1	20	84	4.20	苗生长最快、粗壮
6.0	0.1	20	62	3.10	苗生长快、粗壮

2.3 生长素 NAA 对组培苗生根的效果

在培养基中添加一定量的生长素 NAA 有利于根的发生及植株的生长(表 3)。在不添加生长素的培养基上,组培苗生根慢且数量少、细弱;添加 NAA 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 时,根发生早,苗的生根率达 100%,植株均生长良好,但高浓度 NAA 时发生的根部分不正常。综合考虑成本等因素,以选用 NAA 0.2 mg/L 即可。

2.4 移栽基质对组培苗生长的效果

从表 4 看出,组培苗移栽在蛭石:腐殖土(1:1)基质上,苗的成活率达到 93.3%,新根发生

表 3 NAA 对组培苗生根的影响

Table 3 The effect of different NAA concentration on rooting of plantlets

基本培 养基 Basic meclium	NAA /(mg/L)	接种 数/株 Inoculated number	生根株 数/条 Rooting number	生根 率/% Rooting rate	平均根数/条 Average rooting num-ber	植株生长情况 Growth situation
1/2MS	0.0	30	20	66.7	2~3	发根慢晚、少细弱,长势弱
1/2MS	0.1	30	27	90.0	4~5	发根较晚、细弱,长势中等
1/2MS	0.2	30	30	100.0	7~8	发根早,多粗,长势健壮旺盛
1/2MS	0.5	30	30	100.0	5~6	发根早、多粗,长势旺盛

表 4 不同移栽基质对组培苗生长的影响

Table 4 Effects of different substrates on growth of plantlets

基质 Substrate	移栽株 数/株 Transplanted plantlets	成活株 数/株 Survival plantlets	成活 率/% Survival rate	植株生 长情况 Growth situation of plantlets
全蛭石	30	21	70.0	植株生长慢,根系细弱
腐殖土	30	25	83.3	植株长势较差,根粗且较少
蛭石:腐殖土(1:1)	30	28	93.3	植株生长健壮旺盛,根粗且多

早,根系发达、粗壮,植株生长良好;在全腐殖土基质上,成活率达 83.3%,苗生长势较差;在全蛭石基质上,苗生长最差,成活率仅有 70.0%。

3 讨论

基本培养基对芽的诱导萌发影响较大,在 MS 培养基上萌发率最高,而在 1/2 MS 和 B₅ 培养基上芽诱导较差,可能与培养基成分和接种材料有关,为获得较好的试验结果,在试验中尽量选用长势均匀的带节茎段作为外植体,接种时不要将茎段倒接,否则影响芽的诱导萌发。细胞分裂素 6-BA 是苗增殖扩繁的关键,适宜的浓度(4.0 mg/L)对苗增殖生长起促进作用。移栽基质的保水保湿和疏松透气性对组培苗的成活和生长影响较大,组培苗在基质为蛭石:腐殖土(1:1)上成活率最高且生长最好,而在全蛭石和腐殖土 2 种基质上则表现较差。试验结果表明,利用头花蓼无菌微扦插途径进行组培快繁,每继代培养 1 次增殖 4 倍左右,可以达到大量扩繁组培苗的目的。

本试验以头花蓼的带节茎段作为接种材料,通过芽生芽的方式进行快速繁殖,有利于保持原植物的优良遗传特性及有效成分,为该药用植物的繁殖提供了新的途径。而是否可以利用种子等作为外植体进行组培,以及其他因子对组培快繁的效果有待做进一步的研究。

[参 考 文 献]

- [1] 孙长生,韩见宇,魏升华,等.头花蓼规范化种植密度研究[J].中药研究与信息,2005,7(6):35-36.
- [2] 孙长生,韩见宇,魏升华,等.不同肥料及施用量对头花蓼产量的影响[J].现代中药研究与实践,2005,19(5):20-22.
- [3] 孙长生,梁 斌,李梦林.头花蓼规范化种植技术[J].中国现代中药,2007,9(1):36-39.
- [4] 王新村,孙长生,韩见宇.头花蓼种子育苗技术研究[J].现代中药研究与实践,2006,20(2):10-14.