

# 莪术的组织培养

张慧英<sup>1</sup> 唐秀桦<sup>1</sup> 王 建<sup>2</sup>

(1. 广西大学农学院, 广西 南宁 530004; 2. 广西中医学院, 广西 南宁 530001)

**【摘要】**以广西莪术的根茎为外植体, 接种在以MS为基本培养基, 附加不同种类、不同浓度植物生长调节物质的培养基上, 进行不定芽诱导、丛生芽增殖、试管苗生根及移栽等试验。在MS培养基中附加BA3.0 mg·L<sup>-1</sup>时, 不定芽诱导率最高, 丛生芽增殖壮苗培养基以MS+BA3.0mg·L<sup>-1</sup>+氯化胆碱(CC)10mg·L<sup>-1</sup>为最佳, 试管苗生根以MS+NAA2.0mg·L<sup>-1</sup>最好。

**【关键词】**广西莪术; 组织培养; 氯化胆碱(CC)

中图分类号: S567

文献标识码: B

广西莪术(*Gurcuma kwangsiensis* S.G.Lee et C.F.Liang)为姜科姜黄属植物。可“一物两用”, 其根茎作莪术(桂莪术)入药, 块根作郁金(桂郁金)入药。具行气止痛、破瘀、消积的功能<sup>[1]</sup>。近年研究发现, 其主要成分莪术油具有抗癌、抗菌抗病毒、抗溃疡、促进微循环及治疗多种炎症等作用, 在临床上广泛应用<sup>[2]</sup>。

广西莪术主要以根茎进行繁殖, 用种量大, 多年的采挖已导致野生种源锐减, 接近枯竭; 且长期用根茎繁殖易感染病毒, 导致种群退化, 严重影响产量和品质。近年广西桂郁金生产用种, 大部分都是已经退化的种茎, 667平方米单产只有200千克左右, 已影响到种植户的生产积极性和总产量<sup>[3]</sup>。因此, 本试验研究利用组织培养技术提纯复壮广西莪术种质资源, 快速繁殖良种苗木, 为今后工厂化育苗提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料 广西莪术根茎

### 1.2 方法

#### 1.2.1 外植体的不定芽诱导试验

切取广西莪术根茎上刚萌动的芽, 用常规灭菌方法灭菌, 接种于以MS为基本培养基, 分别附加BA0.5, 1.0, 2.0, 3.0和KT0.5, 1.0, 2.0, 3.0不同浓度细胞分裂素的培养基中, 共8个处理, 每个处理5瓶, 每瓶4个芽; 每3天观察一次, 30天后统计不定芽的增殖倍数。

#### 1.2.2 丛生芽的增殖复壮试验

将以上培养获得的丛生芽, 切成长约1cm的单芽, 接种于以MS+BA3.0为基本培养基, 分别附加NAA0.1, 0.5, 1.0, 2.0; IBA0.1, 0.5, 1.0, 2.0; CC10, 50, 100; MET0.1, 0.5, 1.0的培养基中, 共14个处理, 每个处理5瓶, 每瓶接2个芽; 每3天观察一次, 30天后统计丛生芽的增殖情况及平均株高。

#### 1.2.3 生根试验

将以上获得的丛生芽, 选取健壮, 茎粗, 叶色浓绿的试管苗单株分别接种于以MS为基本培养基, 分别附加NAA0.5, 1.0, 2.0; IAA0.5, 1.0, 2.0的培养基中。共6个处理, 每个处理5瓶, 每瓶接4株, 25天后统计生根数和生根率等。

以上各试验的培养基均加琼脂0.4%, 糖3%; 激素浓度单位均为mg·L<sup>-1</sup>。

#### 1.2.4 培养条件

光照培养, 光照时间10h/d, 光强1500~2000lx, 培养温度均采用25±2℃。

## 2 结果与分析

### 2.1 BA和KT不同激素水平对莪术不定芽诱导的影响

接种大约5天后, 陆续在芽的基部长出不定芽。8种培养基皆能诱导出不定芽, 但增殖倍数有较大差异。具体结果如表1:

表1 不同细胞分裂素不同浓度对莪术不定芽诱导的影响

激素及浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	接种芽数/个	增殖芽数/个	增殖倍数/倍	苗 势
BA <sub>0.5</sub>	20	18	0.9	苗细长, 叶淡绿
BA <sub>1.0</sub>	20	50	2.5	苗较细长, 叶淡绿
BA <sub>2.0</sub>	20	54	2.7	苗较细长, 叶淡绿
BA <sub>3.0</sub>	20	178	8.9	苗细小, 叶淡绿
KT <sub>0.5</sub>	20	16	0.8	苗细长, 叶淡绿
KT <sub>1.0</sub>	20	18	0.9	苗细长, 叶淡绿
KT <sub>2.0</sub>	20	16	0.8	苗细长, 叶淡绿
KT <sub>3.0</sub>	20	26	1.3	苗细长, 叶淡绿

从表1可见,随着BA浓度的提高,增殖倍数不断提高,当BA浓度为3.0mg·L<sup>-1</sup>时,增殖倍数达最高,为8.9倍,第15天时达到增殖高峰,其余BA三种浓度的增殖倍数分别依次为0.9、2.5、2.7倍,比BA3.0mg·L<sup>-1</sup>的芽增殖数少6.2~8.0倍。添加不同浓度KT的培养基增殖倍数均较低,分别为0.8、0.9、0.8及1.3倍。从试验中比较分析,不同类型、相同浓度细胞分裂素的芽增殖倍数差异较大,当BA和KT浓度达到3.0mg·L<sup>-1</sup>时,两者均达到最高增殖数,分别为8.9和1.3倍,相差7.6倍。因此,处理MS+BA3.0mg·

L<sup>-1</sup>最佳,不定芽的诱导分化率最高。

## 2.2 试管苗的增殖复壮

### 2.2.1 不同药品配比对莪术试管苗增殖复壮的影响

在不定芽的诱导试验中,尽管添加BA可以大量诱导不定芽,但从苗势看,试管苗均比较细长,叶色淡绿,生长势不够健壮。因此,将芽分别接种于以BA3.0mg·L<sup>-1</sup>为基础,分别附加不同浓度氯化胆碱(CC)和多效唑(MET)的培养基上,以提纯复壮试管苗。得到结果如表2:

表2 不同药品配比对莪术试管苗生长的影响

激素及浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	接种芽数 /个	增殖芽数 /个	增殖倍数 /倍	平均株高 /cm	苗 势
BA <sub>3.0</sub> +CC <sub>10</sub>	10	70	7.0	5.6	苗较粗,根较少,叶浓绿
BA <sub>3.0</sub> +CC <sub>50</sub>	10	53	5.3	5.7	苗稍粗,根少,叶浓绿
BA <sub>3.0</sub> +CC <sub>100</sub>	10	41	4.1	6.2	苗有粗有细,根极少,叶绿
BA <sub>3.0</sub> +MET <sub>0.1</sub>	10	19	1.9	3.7	苗粗壮,根粗且少,叶浓绿
BA <sub>3.0</sub> +MET <sub>0.5</sub>	10	20	2.0	4.0	苗粗壮,根较少,叶浓绿
BA <sub>3.0</sub> +MET <sub>1.0</sub>	10	24	2.4	4.5	苗较粗壮,根较多,叶浓绿

从表2可见,以BA3.0mg·L<sup>-1</sup>配合氯化胆碱浓度为10、50及100mg·L<sup>-1</sup>时,试管苗增殖均较多,增殖倍数随氯化胆碱浓度的提高而降低,以氯化胆碱浓度为10mg·L<sup>-1</sup>时,增殖数最高,达

7.0倍,试管苗长势最好,较粗并有少量根,叶色浓绿,平均株高随着氯化胆碱浓度的提高逐渐增高。当以BA3.0mg·L<sup>-1</sup>配合多效唑0.1、0.5及1.0mg·L<sup>-1</sup>时,试管苗增殖倍数有增加的趋势,

分别为 1.9、2.0 和 2.4 倍，平均株高随着多效唑浓度的提高而增高，分别为 3.7、4.0 和 4.5cm，苗粗壮，叶色浓绿。

### 2.2.2 BA 与不同生长素不同浓度配比对莪术试

管苗增殖复壮的影响

在  $BA_{3.0} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  基础上，分别附加不同浓度的 NAA 和 IBA，观察试管苗的生长情况，得出结果如表 3：

表 3 BA 与 NAA、IAA 不同浓度配比对莪术试管苗增殖复壮的影响

激素及浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	接种芽数 /个	增殖芽数 /个	增殖倍数 /倍	平均株高 /cm	苗 势
$BA_{3.0} + NAA_{0.1}$	10	35	3.5	6.5	苗有粗有细，根少，叶较绿
$BA_{3.0} + NAA_{0.5}$	10	20	2.0	6.2	苗有粗有细，根较少，叶淡绿
$BA_{3.0} + NAA_{1.0}$	10	15	1.5	6.5	苗有粗有细，根较少，叶淡绿
$BA_{3.0} + NAA_{2.0}$	10	10	1.0	7.0	苗细长，根较少，叶淡绿
$BA_{3.0} + IBA_{0.1}$	10	59	5.9	6.8	苗较细长，根较少，叶绿
$BA_{3.0} + IBA_{0.5}$	10	28	2.8	7.2	苗细长，根多，叶淡绿
$BA_{3.0} + IBA_{1.0}$	10	40	4.0	6.7	苗较细长，根多，叶淡绿
$BA_{3.0} + IBA_{2.0}$	10	19	1.9	7.5	苗细长，根粗且多，叶淡绿

从表 3 可看出，在  $BA_{3.0} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的基础上调节生长素的种类和浓度，对莪术试管苗的生长有一定的影响。以  $BA_{3.0} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  配合 NAA 时，增殖倍数随着 NAA 浓度的提高而降低，在 NAA 浓度为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时为较好，达到 3.5 倍，但试管苗长势不均匀，叶片多为淡绿色；平均株高则较一致，皆在 6.2cm 以上。以  $BA_{3.0} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  配合 IBA 浓度  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时，增殖倍数最高，达 5.9 倍，增加 IBA 的浓度有降低增殖倍数的趋势，平均株高较高，皆在 6.7cm 以上，但苗较细小，对于壮苗作用不大。总之，以 BA 配合 NAA 或 IBA 使用

时，莪术试管苗增殖复壮作用不明显。

### 2.3 生根试验

选取生长健壮，叶色浓绿的试管苗分成单株分别转入以下生根培养基中，大约 4d 后开始生根。从表 4 可以看出，在 MS 添加 IAA 的培养基中，植株生根数随着 IAA 浓度的增加而增加，但根均较细长；在添加 NAA 的培养基中，生根数随着 NAA 浓度的增加而增加，当 NAA 浓度为  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时，单株的平均生根数达最高，为 5.2 条，根比较粗壮，有利于提高成活率。

表 4 不同生长素不同浓度对莪术试管苗生根的影响

激素及浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	接种株数 /个	增殖芽数 /个	总根数 /条	单株平均生根数 /条	长 势
$IAA_{0.5}$	20	0	20	1.0	根少，细长
$IAA_{1.0}$	20	0	34	1.7	根较少，细长
$IAA_{2.0}$	20	3	73	3.2	根较多，细长
$NAA_{0.5}$	20	0	42	2.1	根较少，较粗短
$NAA_{1.0}$	20	5	79	3.2	根较多，较粗稍短
$NAA_{2.0}$	20	8	145	5.2	根多，较粗壮

## 2.4 炼苗移栽

试管苗单株生根后, 炼苗移栽至营养杯, 放置在网室内遮阴生长, 待苗长到一定高度后, 弃去营养杯移栽大田种植, 统计成活率, 观察小苗生长情况。

共移栽试管苗 90 株, 成活率达 86.67%, 小苗长势良好。

## 3 小结

应用氯化胆碱和多效唑在经济作物和农作物的组织培养中报道较多<sup>[4,5,6]</sup>, 可促进试管苗生长, 使苗粗壮, 叶色浓绿, 提高移栽成活率, 而在药用植物中的应用则甚少。以  $BA_3.0mg \cdot L^{-1}$  附加氯化胆碱  $10mg \cdot L^{-1}$  时, 不仅保证丛生芽的增殖, 增殖倍数达 7.0 倍, 还使试管苗增粗, 叶色增绿。说明采用氯化胆碱对莪术试管苗生长有利, 试管苗长势得到很大改善。这与张慧英等<sup>[4]</sup>的研究结论相同。添加多效唑则着重于矮化壮苗, 延缓植株伸长生长, 使植株茎秆粗壮, 叶色浓绿, 这与韦家川<sup>[5]</sup>、阮龙<sup>[6]</sup>等人的研究结果相同。两者比较, 以快速繁殖为目的时, 氯化胆碱的作用

较多效唑的好, 可为今后移栽打下良好的基础, 提高试管苗成活率。但添加氯化胆碱和多效唑是否会引起试管苗变异, 还有待进一步研究。

以细胞分裂素配合一定浓度生长素使用, 对试管苗的增殖和长势影响不明显。BA 附加 NAA 或 IBA 时, 增殖倍数降低, 试管苗叶片细长, 只有部分叶片变绿。因此, 两者配合 BA 使用, 其效果不比氯化胆碱配合 BA 对莪术试管苗生长有利。

## 参考文献

- [1] 王社利, 安秀群. 姜黄、郁金、莪术的比较[J]. 陕西中医, 2004 (5): 454-456
- [2] 谢凤勋, 胡廷松主编. 中药原色图谱及栽培技术[M]. 北京: 金盾出版社, 1994, 209
- [3] 陆善旦. 桂郁金新货上市热销价随高[J]. 全国药材商情, 2005 (10): 2-3
- [4] 张慧英, 韦家川. 莪麻组织培养技术探讨[J]. 广西农业生物科学, 2001, 20(3): 233-234
- [5] 韦家川, 张慧英, 郑比兰. 多效唑和氯化胆碱对香蕉试管苗生长的影响[J]. 广西农业生物科学, 1999, 18(1): 39-41
- [6] 阮龙, 王钰, 严平等. 多效唑在马铃薯试管苗上的应用研究[J]. 杂粮作物 2005, 25(1): 32-34

## Tissue culture of *Gurcuma kwangsiensis*

ZHANG Hui-ying<sup>1</sup>\*, TANG Xiu-hua<sup>1</sup>, WANG Jian<sup>2</sup>

(1. Guangxi University, Nanning, 530005 China;

2. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning, 530004 China)

**Abstract:** Studying the tissue culture in vitro of *Gurcuma kwangsiensis* by using buds of *Gurcuma kwangsiensis* as explants. Result: The rate of inducing adventitious buds is the highest in medium of  $MS + BA_{3.0}mg \cdot L^{-1}$ , the best medium for clump buds generation is  $MS + BA_{3.0}mg \cdot L^{-1} + CC_{10}mg \cdot L^{-1}$ , and the best rooting medium is  $MS + NAA_{2.0}mg \cdot L^{-1}$ .

**Keywords:** *Gurcuma kwangsiensis*; tissue culture; choline chloride (CC)

作者简介: 张慧英, 副研究员, 从事生物技术育种工作。