

菜头肾离体快繁技术探讨

姚丽娟¹ 胡仁勇² 吴旭丽² 杨燕萍¹

(1 浙江省亚热带作物研究所, 浙江温州 325005; 2 温州大学生命与环境科学学院, 浙江温州 325027)

摘 要:菜头肾组织培养的外植体可选择茎段、嫩叶、嫩芽。菜头肾叶片愈伤组织诱导和茎段丛生芽诱导的最佳培养基配方是 1/2MS +6-BA 1.0 mg.L⁻¹ + NAA 0.2~0.5 mg.L⁻¹。继代壮苗培养时仍采用 1/2MS +6-BA 1.0 mg.L⁻¹ + NAA 0.2~0.5 mg.L⁻¹ 培养基。最适的生根培养基为 1/2MS+NAA0.2 mg.L⁻¹。

关键词:菜头肾; 组织培养; 快速繁殖

菜头肾 (*Strobilanthes sarcoarrhizus* (C.ling) C.Z. Zheng) 为爵床科马兰属的多年生草本植物^[1-4]。全草或根可入药, 茎、叶对金黄色葡萄球菌有轻度抑菌作用, 并具清热解毒功效, 根含酚性物质, 具养阴补肾的功效; 可用于治疗肾虚腰痛、阴虚牙痛、肝炎、肾炎、疖肿、肌腱扭伤等。它又名肉根马兰、土太子参。菜头肾之名最早出现于《浙南本草新编》。菜头肾为其药名和植物名, 是浙南、浙西南地区广为流传的一味民间草药, 是温州地区草药补肾剂的代表方七肾汤的主药, 又是浙江特有种植物^[5]。

中国菜头肾资源仅局限于浙江省西南部及闽东南的狭窄地域, 其生物学特性十分脆弱。随着社会发展, 人们健康意识的增强, 对天然药用植物的需求量不断增加, 而菜头肾植株生长慢, 加上近年来对菜头肾的需求量不断增加, 价格不断攀升, 从而造成人们对菜头肾的过度采挖, 资源蕴藏量急剧下降^[6]。菜头肾传统的分株繁殖法, 繁殖系数低、周期长。为了保证菜头肾资源的可持续利用, 有必要进行离体快繁技术的研究。关于菜头肾的离体快繁, 目前未见有相关的文献报道。笔者采用菜头肾的带节茎段、嫩叶片为外植体, 研究了愈伤组织与丛生芽的诱导和增殖、小苗的移栽等, 为菜头肾离体快繁提供了一

定的技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

野生菜头肾采自温州的瓯海泽雅山区, 移至浙江省亚热带作物研究所的试验基地, 采用盆栽, 半遮荫栽培。

1.2 方法

1.2.1 外植体处理 剪取盆摘苗的带节茎段和幼嫩叶片, 自来水反复冲洗干净。先用 75% 的酒精处理 30s 后再用将 0.1% HgCl₂ 灭菌带节茎段 8min, 叶片 6min, 无菌水冲洗 5~6 次。带节茎段切成 8~10mm 长的小段, 叶片切成 1cm × 1cm 大小的方块。按试验设计要求接种到不同的培养基上。

1.2.2 愈伤组织、丛生芽观察和统计 观察各种培养基中外植体产生愈伤组织、丛生芽的情况, 愈伤组织、丛生芽产生后统计培养基中出现的愈伤组织、丛生芽块(个)数, 计算愈伤组织、丛生芽的诱导率。

诱导率 = 愈伤组织、丛生芽块(个)数 / 接种的茎段或叶片的外植体数 × 100%

1.2.3 继代增殖与生根培养 菜头肾的愈伤组织诱导率较高, 将质地致密的淡绿色的愈伤组织转入继

代增殖,每35~40天继代1次。增殖的同时,表面形成细颗粒状结构并分化形成不定芽。将愈伤组织分化形成的生长健壮的不定芽及茎段诱导产生的生长了约1个月的丛生芽分成3~4个为一小簇转入壮苗培养。将壮苗培养1个月左右的芽再放入生根培养基中进行生根培养。

1.2.4 试管苗的移栽 当菜头肾试管苗具5~6片叶子、3~5条根时即可出瓶移栽。移栽前,松动瓶盖在室内炼苗3天左右,移栽时将试管苗从瓶中取出,用清水将根部表面的培养基洗净,然后种到已灭菌的泥炭土与蛭石混合的基质中,于温室大棚培养,注意保湿和通风。

2 结果与分析

2.1 丛生芽、愈伤组织的产生及形态

在MS、1/2MS培养基上,带节茎段直接形成丛生芽并伴有愈伤组织产生(见图5),不带节茎段愈伤组织的产生先是两端膨大,从断面分化出淡绿色的愈伤组织,最后整个外植体全部转为愈伤组织。叶片愈伤组织的产生先是叶片切块卷曲、膨大后形成淡绿色或鹅黄色的愈伤组织(见图1),继续培养,愈伤组织渐渐突起,并开始分化出幼芽(见图2、图3)。试验还发现,少数叶片直接从切口处诱导出芽。

2.2 不同基本培养基对愈伤组织和丛生芽诱导的影响

愈伤组织、丛生芽的诱导以MS、1/2MS为基本培养基,添加6-BA(浓度范围1.0~5.0mg·L⁻¹)和NAA(浓度范围0.2~1mg·L⁻¹)。接种时每瓶1个外植体,每次重复处理6~8次。结果表明:以茎段和叶片为外植体,在MS、1/2MS均能诱导出丛生芽或愈伤组织,其中1/2MS的诱导率高于MS(见表1)。

表1 不同基本培养基对愈伤组织和丛生芽诱导的影响

基本培养基	外植体	接种数	愈伤组织个数	愈伤组织诱导率	丛生芽个数	丛生芽诱导率
1/2MS	叶片	48	35	72.9%	/	/
1/2MS	茎段	26	/	/	21	80.8%
MS	叶片	52	31	59.6%	/	/
MS	茎段	28	/	/	19	67.9%

备注:表中统计的茎段系带节茎段,不带节茎段先膨大形成愈伤组织再分化形成芽苗,不在统计在内。

2.3 不同激素比对愈伤组织和丛生芽诱导分化的影响

以1/2MS为基本培养基,添加6-BA(浓度范围1.0~5.0mg·L⁻¹)和NAA(浓度范围0.2~0.5mg·L⁻¹)。结果表明:叶片在6-BA 1.0 + NAA 0.2和6-BA 1.0 + NAA 0.5二个组合中的愈伤组织诱导

率最高,达到70.0%以上;茎段在6-BA 1.0 + NAA 0.2和6-BA 1.0 + NAA 0.5及6-BA 2.0 + NAA 0.2三个组合中的丛生芽诱导率为71.0~80.8%。当6-BA浓度增高,叶片愈伤组织和茎段丛生芽的诱导率均呈现下降的趋势。6-BA浓度相同时,NAA浓度较低时诱导情况更理想些(见表2)。

表2 不同激素比对愈伤组织和丛生芽诱导分化的影响

激素 /mg·L ⁻¹		愈伤组织诱导率 (愈伤组织个数 / 叶片接种数)	丛生芽诱导率 (丛生芽个数 / 茎段接种数)
6-BA	NAA		
1.0	0.2	35/48=72.9%	21/26=80.8%
1.0	0.5	42/60=70.0%	29/40=72.5%
2.0	0.2	32/56=57.1%	22/31=71.0%
2.0	0.5	29/53=54.7%	23/43=53.5%
3.0	0.2	20/34=58.8%	14/27=51.9%
3.0	0.5	17/28=60.7%	13/25=52.0%
4.0	0.2	16/29=55.2%	18/32=56.2%
4.0	0.5	13/31=41.9%	11/26=42.3%
5.0	0.2	12/34=35.3%	12/29=41.7%
5.0	0.5	9/31=29.0%	7/22=31.8%

备注:供试外植体为带节茎段、幼嫩叶片,基本培养基为1/2MS。

综合情况表明,菜头肾叶片愈伤组织诱导和茎段丛生芽诱导的最佳培养基配方是 1/2MS +6-BA 1.0 mg.L⁻¹ + NAA 0.2~0.5 mg.L⁻¹。

2.4 继代增殖培养

菜头肾的愈伤组织增殖的同时,表面形成细颗粒状结构并分化形成不定芽(见图4)。将菜头肾离体培养产生的丛生芽和不定芽分成3~4个为一小簇转入壮苗培养,经继代壮苗数次后,菜头肾的幼芽更粗壮、长势较好(见图6)。继代壮苗培养时仍采用 1/2MS +6-BA 1.0 mg.L⁻¹ + NAA 0.2~0.5 mg.L⁻¹ 培养基。

2.5 根的诱导与移植

筛选得到较好的幼芽,转接于生根培养基中,1/2MS+NAA0.2 mg.L⁻¹ 为最适培养基,在接种于生根培养基上培养一周后,几乎所有的幼芽都长根,根的生长都较好(见图7)。

将生长较好的小苗移至室外,进行炼苗三天,再移植至泥碳土与蛭石混合的基质中(见图8)中,菜头肾的小苗较容易适应,一个月之后长成较好的小植株。数月后长成与野外性状相似的菜头肾植株。

3 讨论

植物组织培养中的器官发生有2种方式,一是体细胞发生途径,二是脱分化细胞的再分化途径。植物体细胞在离体培养中,通过体细胞胚胎发生途径形成再生植株已是普遍的现象^[7,8]。本研究以幼嫩叶片为外植体时也观察到2种器官发生的现象,一是少数叶片直接从切口处诱导出芽,二是叶片切块卷曲、膨大后形成愈伤组织,继续培养,愈伤组织渐渐突起,并开始分化出幼芽。其中的机理有待于进一步通过组织形态学研究加以证实。

菜头肾组织培养的外植体可选择茎段、嫩叶、嫩芽。菜头肾叶片愈伤组织诱导和茎段丛生芽诱导的最佳培养基配方是 1/2MS +6-BA 1.0 mg.L⁻¹ + NAA 0.2~0.5 mg.L⁻¹。继代壮苗培养时仍采用 1/2MS +6-BA 1.0 mg.L⁻¹ + NAA 0.2~0.5 mg.L⁻¹ 培养基。最适的生根培养基为 1/2MS+NAA0.2 mg.L⁻¹。

菜头肾芽在继代增殖的培养过程中,一方面可以从基部茎节处长出新芽,另一方面基部切口处伴有新的愈伤组织诱导产生,愈伤组织分化后也能产生更多的芽,这有利于菜头肾离体快繁的需要。运用离体快繁的方法,可在短时间内获得大量的菜头肾植株,使野生菜头肾资源得到有效的保护。

参考文献

- [1] 郑朝宗.浙江植物志(第六卷)[M].浙江:浙江科学技术出版社,1993:87-88.
- [2] 胡嘉琪,李振宇.中国植物志(第70卷)[M].科学出版社,2002:93.
- [3] 张水利等.菜头肾的形态组织鉴定[J].中草药,1999,10:502-503.
- [4] 林泉.浙南药用植物中的一新种—菜头肾[J].植物分类学报,1975,13(3):93.
- [5] 《浙南本草新编》编写组.浙南本草新编[M].杭州:浙江人民出版社,1976
- [6] 姚振生,陈京等.浙江省永嘉县道志地区菜头肾资源调查[J].江西科学,2007,25(4):397-401
- [7] 马国华,许秋生等.从木薯嫩叶直接诱导初生体细胞胚胎发生和芽的形成[J].植物学报,1998,40(6):503
- [8] 达克东,张松等.洋桔梗叶片培养不定芽和微繁殖研究[J].山东农业大学学报(自然科学版),2003,34(4):494

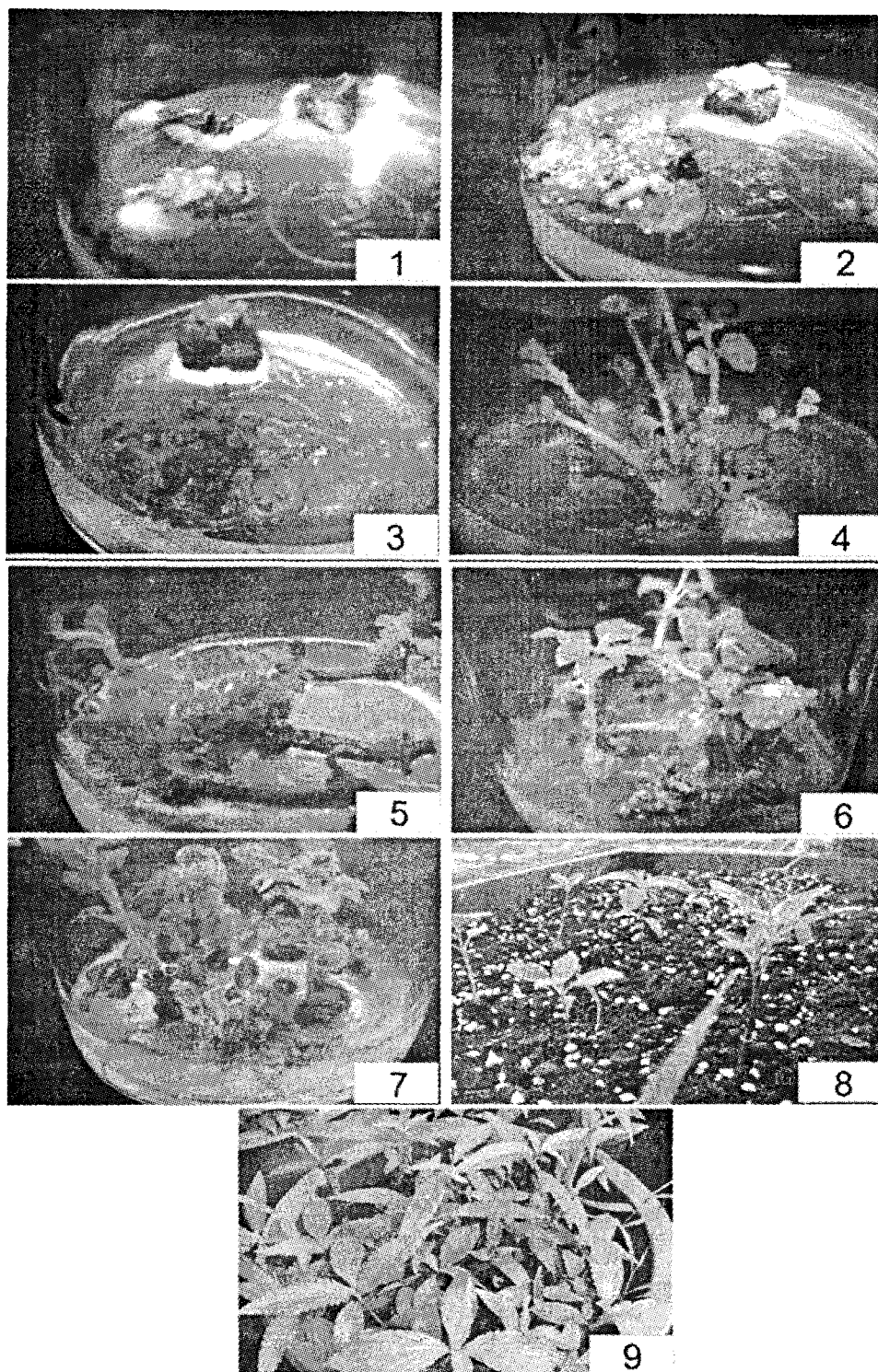
Study on *Championella sarcorrhiza* Propagation

YAO Li-Juan¹, HU Ren-Yong², Wu Xu-Li², YANG Yan-Ping¹

(1 Institute of Subtropical Crops of Zhejiang Province, Wenzhou, China 325005, China ;
2 College of Life and Environmental Sciences, Wenzhou University, Zhejiang 325027, China)

Abstract: The best choice of explants are nodal segments, tender leave and the tender bud in the vitro propagations of *Championella sarcorrhiza*. The best treatment for the callus development and shoot proliferation contained 1.0 mg.L⁻¹ 6-BA and 0.20.2~0.5 mg.L⁻¹ NAA on solid 1/2MS basal media. The shoot multiplication treatment use the same media as callus development and shoot proliferation. The best treatment for plant rooting contained 0.2 mg.L⁻¹NAA on solid 1/2MS basal media.

Key words: *Championella sarcorrhiza*; tissue culture; Propagation.



图版说明:图 1:菜头肾叶片诱导的愈伤组织。图 2:萌动的即将分化的愈伤组织。图 3:愈伤组织分化形成的幼芽。图 4:愈伤组织分化出的培养一段时间的丛生芽。图 5:由茎段分化的幼芽。图 6:经继代后的幼芽,长势较好。图 7:已经生根的小苗。图 8:移植至泥碳土中的小植株。图 9:移植至花盆,种植两个月之后的离体培养所得的菜头肾。

Fig1: The callus of *Championella sarcorrhiza* induced by leaf. Fig2: The callus will be differentiate.

Fig3: The shoots differentiated by callus. Fig4: The shoots differentiated by callus after cultured a period of times. Fig5: The bud proliferated by nodal segments. Fig6: After the sub cultured, the shoot growing better. Fig7: The seedlings have taken root. Fig8: The transplantation plant in vitro. Fig9: Transplant to flower pots, the plants planted after two months.