

萱草组织培养及植株再生的研究

刘长利¹, 崔俊茹²

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 北京经贸职业学院, 北京 102401)

摘要:目的:研究药用植物萱草的组织培养技术,为工厂化育苗提供科学依据。方法:以萱草的幼嫩花梗为外植体,采用MS培养基,附加不同的植物激素进行实验。结果:愈伤组织诱导的最佳培养基配方是MS+6-BA 1.0mg·L⁻¹+NAA 0.1mg·L⁻¹,不定芽诱导的最佳培养基配方是MS+6-BA 1.0mg·L⁻¹+NAA 0.1mg·L⁻¹,不定根诱导的最佳培养基配方是1/2MS+IBA 0.1mg·L⁻¹+NAA 0.1mg·L⁻¹。结论:以幼嫩花梗为外植体,通过诱导愈伤组织途径可以达到快速繁殖的目的。

关键词:萱草;组织培养;植株再生

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1673-7717(2007)12-2552-02

Studies on Plantlet Regeneration and Propagation of *Hemerocallis hybrida*LIU Chang-li¹, CUI Jun-ru²

(1. School of Traditional Chinese Medicine Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. Beijing Professional Business Institute, Beijing 102401, China)

Abstract; Objective: To provide scientific basis for large scale production by studying the technique of tissue culture of *Hemerocallis hybrida*. **Methods:** Callus was induced from young pedicel of *H. hybrida* on a MS medium supplemented with different hormones. **Results:** The optimal compositions of medium that induced callus were the MS medium supplemented with 6-BA 1.0mg·L⁻¹ and NAA 0.1mg·L⁻¹; the optimal compositions of medium that induced adventitious bud were the MS medium supplemented with 6-BA 0~1.0mg·L⁻¹ and NAA 0.1mg·L⁻¹; the optimal compositions of medium that induced adventitious root were the 1/2MS medium supplemented with IBA 0.1mg·L⁻¹ and NAA 0.1mg·L⁻¹. **Conclusion:** Aseptic seeding of *H. hybrida* can be quickly propagated by shoot culture.

Keywords: *Hemerocallis hybrida*; tissue culture; plant regeneration

萱草 *Hemerocallis fulva* L. 系百合科(Liliaceae)多年生草本植物,以根及根茎入药,为我国传统中药“萱草根(*Radix Hemerocallis*)”,具有清热凉血、利尿通淋的功效,用于治疗水肿、小便不利、淋浊、带下、黄疸、便血、崩漏等症^[1-2]。近年来研究表明萱草根中含有多种萜醌类和二萜味喃-γ-内酰胺类化合物,这些成分具有抗菌、抗癌、杀虫等生物活性^[3]。

萱草不仅具有药用价值,还具有蔬菜食用和花卉观赏价值。其花经过加工后是颇负盛名的“黄花菜”、“金针菜”,营养丰富,且具有保健益寿之功。而其观赏价值体现在萱草花秀美俊俏、雅而不俗、人见人爱,令人欢喜,解忧忘愁,是“中国的母亲花”、“忘忧草”。以往报道的萱草组织培养的文章,是基于观赏花卉品种的快速繁殖技术的实验

研究^[4-6],而在药用和食用方面缺乏思考和实践。因此,作者借鉴这些研究成果,对药用植物萱草开展了组织培养技术方面前期实验工作,期望为进一步研究其药材质量以及开发中药功能保健类蔬菜奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料 供试植物材料采自北方国家级林木种苗示范基地栽培的生长健壮、无病虫害的带花萱草植株,经首都医科大学中医药学院中药资源学教研室刘长利博士鉴定为 *H. fulva*,外植体为萱草的幼嫩花梗。

1.2 方法 ①无菌外植体的获得:将外植体先用毛刷蘸洗涤剂洗净,再用流水冲洗干净。在无菌条件下用75%的酒精消毒30s,再用0.1%的HgCl₂溶液浸泡5min,最后用无菌水冲洗6~8次,在无菌条件下切成1~1.5cm长的小段进行接种。②培养条件:培养条件为MS培养基,附加0.6%琼脂,pH5.8。培养室温度为(25±2)℃,光照12h·d⁻¹,光照度为2000lx。

2 结果与分析

2.1 激素对愈伤组织诱导的影响 将萱草幼嫩花梗分别接种于含有不同激素配比的1~6号培养基(蔗糖浓度为3%)中。培养30天后统计各处理愈伤组织诱导情况。结

收稿日期:2007-07-12

基金项目:北京市科委资助项目(HO1201005011)

作者简介:刘长利(1974-),男,河北承德人,讲师,博士,研究方向:中药资源学。

通讯作者:崔俊茹(1978-),女,河北望都人,工程师,硕士,研究方向:植物组织培养。

果见表1和图1。

由表1可以看出,植物激素浓度越高越容易诱导愈伤组织,但当细胞分裂素与生长素浓度达到1:0.05时,愈伤组织色浅不易分化芽,而且玻璃化严重;当细胞分裂素与生长素比例小时,愈伤组织分化率也降低,试验结果表明诱导愈伤组织的最佳培养基配方是MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1mg·L⁻¹,所诱导出的愈伤组织黄绿色,且表面有突起的芽点。

表1 不同植物激素对比对诱导愈伤组织的影响

培养基编号	培养基及激素浓度(mg·L ⁻¹)	愈伤数量(块)	愈伤组织生长情况
1	MS+6-BA 1.0 +NAA 0.05	30	愈伤淡黄色,有明显的玻璃化
2	MS+6-BA 0.5 +NAA 0.05	25	愈伤黄绿色,表面有突起的芽点
3	MS+6-BA 0.25 +NAA 0.05	15	愈伤深绿色,质地较硬
4	MS+6-BA 1.0 +NAA 0.1	29	愈伤黄绿色,表面有突起的芽点
5	MS+6-BA 0.5 +NAA 0.1	26	愈伤黄绿色,表面有突起的芽点
6	MS+6-BA 0.25 +NAA 0.1	9	愈伤块小,绿色,质地较硬



图1 从外植体上诱导愈伤组织

2.2 激素对不定芽分化与继代增殖的影响 将诱导出的愈伤组织转接到含有不同激素配比的4~7号培养基(蔗糖浓度为3%)中,培养1个周期后观察其生长情况,结果见表2和图2。

表2 不同植物激素对比对不定芽分化及继代增殖的影响

培养基编号	培养基及激素浓度(mg·L ⁻¹)	不定芽生长状况
4	MS+6-BA 1.0 +NAA 0.1	苗高1~2cm,苗子细而密
5	MS+6-BA 0.5 +NAA 0.1	苗高1~2cm,叶翠绿
6	MS+6-BA 0.25 +NAA 0.1	苗高2~3cm,叶深绿,生长健壮但苗较少
7	MS+NAA 0.1	苗高2~4cm,叶深绿,生长健壮,苗少,有不定根

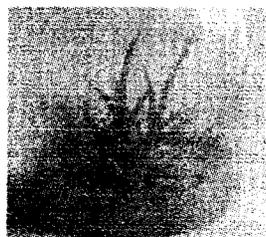


图2 从愈伤组织上分化出不定芽

由表2可见,细胞分裂素6-BA浓度在0~1.0mg·L⁻¹之间均能诱导出不定芽(图2所示),随着其浓度的增高,诱导出的芽数增加,苗子相应变细弱。研究表明:随着继代次数的增加,较高浓度的细胞分裂素6-BA,容易引起玻璃化,苗子不健壮。在生产过程中随着继代次数的增加应逐步降低细胞分裂素的浓度,直至为零。

2.3 激素对不定根诱导培养的影响 经过一段时间的继

代培养后,将从生芽切分成带小量愈伤的单株转到含有不同激素配比的8~10号培养基(蔗糖浓度为2%)中。半月后观察其生根情况,结果见表3和图3。

表3 不同植物激素对比对诱导不定根的影响

培养基编号	培养基及激素浓度/mg·L ⁻¹	生根情况
8	1/2MS+NAA0.1	生根率85%,根粗壮,株均根数3.2条
9	1/2MS+IBA 0.1	生根率86.7%,有少量侧根,株均根数2.9条
10	1/2MS+NAA0.1+IBA0.1	生根率99.5%,根粗壮,株均根数4条

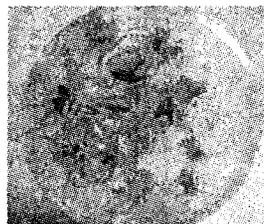


图3 从不定芽上诱导出不定根

由表3可见,萱草组培苗生根较容易。实验结果表明:诱导不定根培养的最佳培养基配方是1/2MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹+IBA 1.0mg·L⁻¹。经过8~10天后开始长出乳白色星状根(如图3所示),至15天时,生根率最高可达99.5%。

2.4 组培苗的移栽 当组培苗根长至1cm时,将培养瓶放在自然光照下炼苗3~5天后,打开瓶盖再炼苗3~5天,轻轻取出组培苗,洗净培养基后,移栽到经0.1%KMnO₄溶液消毒过的基质中,保持一定的温度和湿度,驯化成活率可达95%以上,2周后待长出新叶即可移栽到苗圃,移栽成活率可达100%。

3 讨论

萱草一般采用分蘖方式进行增殖,1株萱草每年仅可繁殖4~5株,难以适应市场商品化生产的要求。本文通过对萱草的组织培养和植株再生的实验研究,建立了以萱草幼嫩花梗为外植体、诱导愈伤组织、不定芽分化、生根培养及炼苗移栽的技术体系,该技术取材容易,消毒简便,移栽成活率高,是加快繁殖速度的有效途径,为工厂化育苗提供了科学的实验依据,为进一步研究其药用成分含量、开发中药功能保健类蔬菜奠定了基础。

参考文献

- [1] 张铁军.萱草根的原植物考证[J].中国中药杂志,1993,18(9):515-517
- [2] 任涛,张铁军.中药萱草根的采收期研究[J].中草药,2000,31(3):222-224
- [3] 杨中铎,李援朝.萱草属植物化学成分及生物活性研究进展[J].天然产物研究与开发,2002,14(1):93-97
- [4] 李艳梅,王桂兰,陈超,等.大花萱草新品种“红运”快繁体系的建立[J].河南农业科学,2006,(08):120-122
- [5] 王汉海,程贯召,杜延飞.大花萱草新品种“金娃娃”的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2002,38(5):458
- [6] 王晓娟,金樑,沈延松,等.萱草(Hemerocallis hybrida)再生植株过程中根的诱导[J].复旦大学(自然科学版),2002,41(1):40-43