

藏药麻花苳的组织培养与快速繁殖

徐文华^{1,2}, 陈桂琛^{1*} (1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要 以麻花苳的茎尖为外植体, 在启动培养基 MS + 6-BA 2.0 mg/L (单位下同) + NAA 0.5 和 MS + BA 2.0 + NAA 0.5 + ZT 2.0, 增殖培养基 MS + NAA 1.0 + 6-BA 2.0 + ZT 3.0, 生根培养基 1/2 MS + NAA 1.0 上, 成功地实现了组织培养和快速繁殖。

关键词 麻花苳; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号 Q943.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)19-4881-01

麻花苳 (*Gentiana straminea* Maxim.), 又名麻花秦苳, 属龙胆科 (Gentianaceae) 龙胆属多年生草本植物, 藏药中称为“解吉嘎保”^[1], 为常用的上品藏药。分布于海拔 2 000 ~ 4 950 m 的高山草甸、灌丛、林缘、山坡草地、山沟及河滩^[1,2]。近些年来, 随着其化学有效成分及其药理等方面研究的不断深入^[3], 麻花苳重要的药用价值逐渐被揭示。麻花苳中的主要成分落干酸具有一定的抗炎活性, 龙胆苦苷具有保肝、健胃利胆等功效, 獐牙菜苷具有退热和抗惊厥的作用^[4]等。目前麻花苳需求量逐年增加, 靠人工采挖野生麻花苳, 不但严重破坏植被, 且远不能满足需求。所以, 通过组织培养技术建立麻花苳无性快繁体系是解决资源短缺的有效途径之一。以茎尖为外植体离体快速繁殖麻花苳, 尚未见报道。

1 材料与方法

1.1 外植体 幼苗茎尖。

1.2 培养条件 ①启动培养基: MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5; MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L + ZT 2.0 mg/L。②增殖培养基: MS + NAA 1.0 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L + ZT 3.0 mg/L ③生根培养基: 1/2 MS + NAA 1.0 mg/L。以上培养基均加入 CH 300 mg/L, 3% 蔗糖和 0.4% 琼脂粉, pH 值 5.8; 培养温度 (25 ± 1) °C, 光照时间 12 h/d, 光照强度 1 500 ~ 3 000 lx。

2 结果与分析

2.1 启动培养 春季 (4 月份) 取温室第 1 年秋播麻花苳幼苗的茎尖为初始培养材料。剥去幼苗外围的叶片, 取里面嫩白的茎尖为外植体。茎尖用 0.2% 的氯化汞溶液消毒 6 min, 无菌水冲洗 4 ~ 6 次后接种到已备好的 2 种加有不同激素配比的启动培养基①上。暗培养 1 周后, 转入光照下培养。2 ~ 3 d 后茎尖开始生长, 小叶长大、舒展, 前期看不出 2 种培养基对茎尖生长的影响, 即玉米素 (ZT) 的作用前期不明显。1 周后观察到茎尖基部膨胀变疏松, 有少量浅黄色致密愈伤组织形成, 25 d 后在疏松部位形成大量的愈伤组织, 而且愈伤组织颜色逐渐变为浅绿色, 以后又逐渐变为绿色 (图 1), 愈伤组织越长越大。前后两者愈伤组织的诱导率分别为 87.75% 和 94%。2 个月内在愈伤组织表面有绿色芽点形成, 但后期芽点生长较缓慢。

2.2 增殖培养 在无菌条件下, 将启动培养获得的带有绿色芽点的愈伤组织切割为约 0.5 cm × 0.5 cm 大小的块, 接种到增殖培养基②上进行培养, 7 ~ 8 d 后观察到小芽点生长

迅速, 从愈伤组织表面分化出幼小的单个芽 (图 2), 增殖系数达 3 ~ 5, 且部分愈伤组织的表面有毛状的根形成。



图 1 茎尖基部形成大量绿色致密愈伤组织

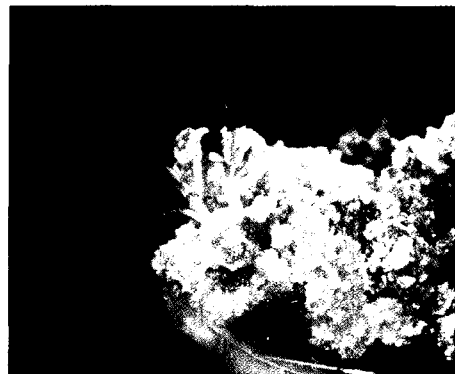


图 2 绿色愈伤组织上分化出新芽



图 3 长出粗壮根

2.3 生根培养 待分化出的苗达 5 ~ 8 cm 时, 接种到培养基③中诱导生根, 7 d 后观察到苗基部膨大部位有根原基突出, 开始有不定根形成, 15 d 后不定根长达 2 ~ 3 cm, 25 d 后每苗生 7 ~ 8 条长约 4 ~ 6 cm 的幼根 (图 3), 生根率达 95%。

2.4 移栽 待根长到 4 ~ 6 cm 时, 将其培养瓶从培养室中转

基金项目 国家中西部重点项目 (2001BA901A47)。

作者简介 徐文华 (1974 -), 女, 青海乐都人, 在读硕士, 助理研究员, 从事植物组织培养和高原植物资源培育的研究。* 通讯作者, E-mail: gcchen@nwpb.ac.cn。

收稿日期 2006-04-18

(下转第 4903 页)

叶宽达到 7.30 cm, 而 A₁ 表现最差, 仅 5.97 cm。经方差分析, A₃、CK、A₄ 极显著地高于 A₂、A₁, 而 A₃、CK、A₄ 之间差异却不显著, A₂ 和 A₁ 差异也不显著。

表 2 不同营养液配方对琉璃苣生长的影响

配方	平均株高//cm	平均叶长//cm	平均叶宽//cm
A ₁	7.83 Bb	12.72 Bc	5.97 Bb
A ₂	13.22 ABa	13.58 Bb	6.37 ABb
A ₃	16.33 Aa	15.39 Aa	7.30 Aa
A ₄	12.22 ABab	15.06 Aa	7.10 ABa
CK	14.33 ABa	15.53 Aa	7.12 Aa

注: 每列中不同大、小写字母分别表示 0.01、0.05 水平差异显著。下表同。

2.3 不同营养液配方对琉璃苣叶绿素含量的影响 由表 3 可知, A₄ 配方栽培的植株叶绿素含量最多, 达到 1.21 mg/g, 而 CK 配方下含量最少, 仅 0.76 mg/g。经方差分析, A₄、A₃、A₂ 极显著地高于 A₁ 和 CK, A₁ 也显著高于 CK, A₄、A₃、A₂ 之间差异不显著。

表 3 不同营养液配方对琉璃苣叶绿素、可溶性糖含量的影响

配方	平均叶绿素含量//mg/g	平均糖含量//mg/g
A ₁	1.00 Bb	27.67 Bb
A ₂	1.18 ABa	41.50 Aa
A ₃	1.20 Aa	29.83 Bb
A ₄	1.21 Aa	31.57 Bb
CK	0.76 Cc	44.33 Aa

2.4 不同营养液配方对琉璃苣可溶性糖含量的影响 由表 3 可知, 在 CK 配方下植株叶片中可溶性糖含量最高, 达到 44.33 mg/g, A₁ 配方则最低, 只有 27.67 mg/g。经方差分析, CK、A₂ 极显著地高于 A₄、A₃ 和 A₁, CK、A₂ 之间差异则不显著, A₄、A₃、A₁ 之间差异也不显著。

3 结论与讨论

从各指标综合来看, 不同营养液的各处理之间, 琉璃苣的株高、叶长、叶宽、叶绿素及可溶性糖含量均有一定差异, 有的达到显著水平, 有的未达到显著水平。而各处理与对照相比较, 在叶绿素含量上差异均达到显著水平; 叶长和可溶性糖含量, CK 反而表现更好; 在株高上 CK、A₃、A₂ 和 A₄

差异不显著, 但与 A₁ 相比则达到显著水平。即含有 N 115 mg/L、P 116 mg/L、K 499 mg/L、Ca 227 mg/L 和 Mg 77 mg/L 的营养液处理(A₁)下, 琉璃苣叶绿素及可溶性糖含量最低, 叶片短而窄, 植株也矮小。纵观各处理, 不难发现株高、叶长、叶宽在一定范围内, 主要随 N 浓度的增大而增加。但其中对照不完全符合此规律。对于叶绿素含量而言, 在一定范围内, 也随 N、P、K、Ca 浓度的增加而增大, 并且还受到 Mg 浓度的影响。而可溶性糖含量则没有明显的规律可寻。

N 是蛋白质、核酸、磷脂的主要成分, 也是某些植物激素、维生素的重要成分, 所以 N 的多寡直接影响细胞的分裂和生长。K 在细胞内可作 60 多种酶的活化剂, 它在碳水化合物代谢、呼吸作用及蛋白质代谢中起重要作用。Mg 是叶绿素的成分, 对光合作用极为重要, Ca 是根系发育所必需的, 它影响根系对营养物质的吸收。而 P 会影响细胞分裂, 使幼芽、幼叶生长停滞、植株矮小等, 还会使蛋白质下降, 糖的运输受阻, 从而使营养器官中糖的含量相对提高^[7]。因此 P、K 含量低的 CK、A₂、A₄ 处理中可溶性糖含量偏高。

总的来说, 含 N 300 mg/L、P 116 mg/L、K 499 mg/L、Ca 454 mg/L 和 Mg 77 mg/L 的营养液处理(A₃)下各指标都表现优良, 生长发育好, 而且有 6 株已现出花蕾, 其他各处理没有现蕾或只有 1~2 株现蕾(因该试验主要是为了探讨不同营养液对琉璃苣生长的影响, 以作为室内无土盆栽琉璃苣香草的依据, 目的是观叶和散发香味之用, 故未对各处理下琉璃苣的花期、花的数量、大小等进行统计)。因此, A₃ 营养液所含的营养元素成分已较为满足琉璃苣生长的需要, 各种营养元素的含量及配比也相对适宜, 是琉璃苣无土栽培可以选用的营养液配方。

参考文献

- [1] 王有江. 香草指南[M]. 吉林: 吉林科学技术出版社, 2004.
- [2] 裴雁曦, 郝建平, 乔淑梅, 等. 无土栽培香石竹营养液筛选研究[J]. 山西农业科学, 1999, 27(3): 66-68.
- [3] 万茜, 胡志辉. 万寿菊水培营养液的调试[J]. 种子, 2002(1): 37, 87.
- [4] 刘晓红, 戴思兰. 菊花无土栽培基质试验分析初探[J]. 河北科技师范学院学报, 2004, 18(1): 23-26.
- [5] 鲁涤非. 花卉学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [6] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2003.
- [7] 王忠. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.

(上接第 4881 页)

移到自然光照的室内放置 3 d 后, 打开瓶口炼苗 2~3 d, 之后移栽到珍珠岩和腐殖质(1:1)混合的盆内。初期加盖塑料薄膜保湿, 3 d 后揭去薄膜, 移栽 2 周后, 成活率达 85%。

3 小结

以麻花苳的茎尖为外植体, 在启动培养基 MS + 6-BA 2.0 mg/L(单位下同) + NAA 0.5 和 MS + BA 2.0 + NAA 0.5 + ZT 2.0, 增殖培养基 MS + NAA 1.0 + 6-BA 2.0 + ZT 3.0, 生

根培养基 1/2 MS + NAA 1.0 上, 成功地实现了麻花苳茎尖的快速繁殖。

参考文献

- [1] 杨永昌. 藏药志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1991: 9-10.
- [2] 刘尚武. 青海植物志[M]. 第 3 卷. 西宁: 青海人民出版社, 1996: 53.
- [3] 马潇, 陈兴国, 胡之德. 甘肃产 8 种秦艽的龙胆苦甙含量比较[J]. 中药材, 2003, 26(2): 85-86.
- [4] 马玉花, 孙峰, 孙菁, 等. 藏药麻花秦艽的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(9): 1698-1699.

科技论文写作规范——讨论

着重于研究中新的发现和重要方面, 以及从中得出的结论。不必重复在结果中已评述过的资料, 也不要模棱两可的语言, 或随意扩大范围, 讨论与文中无多大关联的内容。