

# 虎杖组织培养技术研究\*

易霭琴<sup>1,2</sup>, 童方平<sup>1,2</sup>, 宋庆安<sup>1,2</sup>, 丁婕<sup>3</sup>, 李贵<sup>4</sup>, 黄振<sup>4</sup>

(1. 湖南省林业科学院, 湖南长沙 410004; 2. 湖南省林木无性系育种重点实验室, 湖南长沙 410004;  
3. 湘潭县林业局, 湖南湘潭 411228; 4. 中南林业科技大学, 湖南长沙 410004)

**摘要:** 以虎杖带腋芽的茎段为试验材料, 研究虎杖组织培养与快速繁殖的适宜条件。试验结果表明, 虎杖在 MS + 6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L + 3% 蔗糖 + 0.7% 琼脂培养基上增殖效果最好, 培养 30 d, 增殖倍数达到 3.4 以上; 在 1/2MS + IBA 0.5 mg/L + 3% 蔗糖 + 0.7% 琼脂培养基上生根效果最好, 生根率 100%, 平均根长 2.0 cm, 平均苗高 3.5 cm, 以圃地表土为基质, 在温室大棚内间歇喷雾的移栽成活率达 96.25%。

**关键词:** 虎杖; 组织培养; 增殖倍数; 移栽; 成活率

**中图分类号:** Q 943.1      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1003-5710(2007)01-0010-03

## The tissue culture technology of *Polygonum cuspidatum sieb et zucc*

YI Aiqin<sup>1,2</sup>, TONG Fangping<sup>1,2</sup>, SONG Qing'an<sup>1,2</sup>,  
DING Jie<sup>3</sup>, LI Gui<sup>4</sup>, HUANG Zhen<sup>4</sup>

(1. Hunan Forestry Academy, Changsha 410004, China; 2. Key Laboratory of Forest Clone Breeding of Hunan Province, Changsha 410004, China; 3. Forestry Bureau of Xiangtan County, Xiangtan 411228, China; 4 South Central University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

**Abstract:** The tissue culture and suitable the condition of fast reproduction of *Polygonum cuspidatum sieb et zucc* were studied in the paper based on the experimental material of the axillary buds of it. The test result indicated that: The best multiplies effects was using MS + 6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L + 3% sucrose + 0.7% agar as the culture medium, raises 30 d, the multiplication multiple achieved above 3.4. The best takes roots effects was using 1/2MS + IBA 0.5 mg/L + 3% sucrose + 0.7% agar culture medium, takes root to lead 100%, average root long 2.0 cm and average seedling height 3.5 cm. Taking the garden surface soil as the matrix, the intermittent atomization transplants the survival rate in the greenhouse awning to reach 96.25%.

**Key Words:** *Polygonum cuspidatum sieb et zucc*; the tissue culture; multiplication; transplants; survival rate

虎杖 (*Polygonum cuspidatum sieb. et zucc.*) 又名阴阳莲、活血龙、大虫杖、酸杖、斑杖、酸桶笋、蛇总管、大活血等, 为蓼科多年生高大草本植物。虎杖无毛, 高 2~3 m, 根状茎横走, 木质化, 外皮黄褐色, 直立, 丛生, 中空, 表面散生红色或紫红色斑点。虎杖生于山丘沟边、路旁、灌丛、荒地, 为喜阴性植物, 自然分布在黄河以南各省区。虎杖根主要含白藜芦醇, 白藜芦醇具有明显的抗癌、抑癌、抗氧化、抗衰老、抗炎症、抗过敏和降血脂等功效。虎杖的根茎入药, 具有清热解毒、活血通络、消炎止痛、去湿热黄疸、治慢性气管炎、降低血脂等

功效。全草可作兽药, 治牛鼓胀症、蜜蜂胃病; 并可制农药, 对防止螟虫、蚜虫等有效。根状茎含黄酮类、大黄素、大黄素甲醚、虎杖甙。虎杖嫩茎是一道很好的森林蔬菜, 口味松脆、微酸, 可助消化。

目前, 虎杖苗极少, 大都采挖野生资源进行种植, 无法满足当今虎杖种植业的需求。我们对虎杖组织培养及快速繁殖技术进行了研究, 以便为批量生产优良虎杖苗提供理论基础和技术支撑, 缓解虎杖种苗供需矛盾。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料及处理

供试材料来自贵州兴义和湖北房县种源苗, 移栽至湖南省林木无性系育种重点实验室温室大棚内。采当年生枝条茎段, 去叶在自来水下冲洗干净, 用低浓度的洗衣粉水清洗

收稿日期: 2006-09-04

修订日期: 2006-11-24

\* 湖南省林业厅项目

作者简介: 易霭琴(1976-), 女, 助理研究员, 主要从事林木生物技术育种研究。

2~3遍,再在流水下冲洗5~10 min,然后用无菌水冲洗2~3遍。

### 1.2 培养基的制备

初代诱导分化及增殖培养基:以MS(Murashige and Skoog, 1962)为基本培养基,附加不同浓度配比的KT(6-糠基氨基嘌呤),6-BA(6-苄基氨基嘌呤),蔗糖3%,琼脂0.7%,培养基pH值调至5.8~6.0;生根培养基:以1/2MS为基本培养基,附加不同浓度的NAA(a-萘乙酸),IBA(3-吲哚丁酸),pH值调至5.8~6.0。

### 1.3 培养条件

培养室温度为23~25℃,采用日光灯培养,光照强度为

1500~2000 lx,光照时数为14~16 h/d。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体消毒时间的选择

外植体清洗干净以后,在无菌条件下,用0.1%升汞消毒6、10、12 min,再用无菌水冲洗4~5遍,然后切取带腋芽的茎段1 cm左右,接种到不加任何激素的MS培养基上,25~30 d后观察不同消毒时间获得无菌外植体的情况(表1),结果表明,0.1%升汞消毒10 min效果最好,无菌外植体获得率为62.5%,如果先用75%酒精消毒5 s则效果更好,污染率仅为18%,无菌外植体获得率达到70%。

表1 不同消毒时间对获得无菌外植体的影响

消毒时间(min)	接种芽数(个)	培养时间(d)	污染芽数(个)	死亡芽数(个)	污染率(%)	死亡率(%)	无菌外植体获得率(%)
6	40	30	26	9	65	22.5	12.5
10	40	30	11	4	27.5	10	62.5
12	40	30	7	22	17.5	55	27.5

### 2.2 基本培养基的选择

外植体接种后经过10~15 d培养,获得无菌外植体以后,将外植体接种到4种基本培养基(分别添加6-BA 2.0 mg/L, IBA 0.1 mg/L)上,进行芽的诱导。经过25~30 d的诱导培养,调查各培养基上的增殖芽数和芽的生长量。结果表

明:MS和WPM这两种基本培养基比较适合虎杖的生长,但是在WPM培养基上,组培苗虽然生长速度比较好,但苗太细太弱,不利于下一步生根培养。所以,虎杖选择MS培养基,不仅增殖率高,达到112.5%,组培苗的生长状况最好,最高苗高达3.5 cm(表2)。

表2 不同基本培养基对增殖率的影响

基本培养基	接种芽数(个)	接种芽高(cm)	增殖芽数(个)	增殖芽最高(cm)	生长状况	增殖率(%)	综合指标
MS	40	1.0	45	3.5	叶绿苗粗	112.5	++
B5	40	1.0	31	2.6	叶淡绿	77.5	+
WPM	40	1.0	37	3.1	叶绿苗细	92.5	+
Whiter	40	1.0	24	1.8	叶黄苗细	6	

### 2.3 激素对比对虎杖组培苗增殖的影响

选取无菌粗茎芽,切成1 cm左右的顶芽或者带腋芽的茎段,接种到附加不同激素配比的MS培养基上。培养30 d后观察结果,顶芽和腋芽在抽长的同时,从腋芽基部分化许多不定芽(见照片1、2)。从表3观察出,6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L激素组合比较适合虎杖芽的分化与生长。

增殖芽最高达到3.5 cm,且增殖倍数达到了3.4。2-ip 2.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L激素组合也比较适合虎杖芽的分化与生长,增殖倍数达到3.2。但是,2-ip比较昂贵,用于生产不经济。而在添加NAA的培养基上,增殖倍数小,原有的腋芽生长缓慢,叶色变黄,时间稍长一点就发黑,脱叶(表3)。

### 2.4 组培苗生根

表3 不同细胞分裂素对增殖率的影响

激素配比	接种芽数(个)	增殖芽数(个)	增殖芽最高(cm)	生长状况	增殖倍数	综合指标
6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L	40	136	3.5	叶绿	3.4	+++
KT 2.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L	40	40	3.1	叶绿	1.0	+
2-ip 2.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L	40	128	2.5	叶绿	3.2	++
6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L	40	76	2.6	叶绿	1.9	+
6-BA 2.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L	40	100	1.0	叶黄	2.5	+
6-BA 3.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L	40	88	1.9	叶淡绿	2.2	+
6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L	40	80	2.7	叶绿	2.0	++
6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L	40	74	1.5	叶黄	1.85	+
6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L	40	72	1.7	叶黄	1.8	+
6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L	40	64	2.0	叶黄	1.6	

经继代培养25~30 d后,选取健壮组培茎芽(标准为:高3.0 cm以上,粗1.0 mm以上),接种于附加不同激素浓度水平的1/2MS培养基上,培养20 d后,发根率90%以上。试验结果表明:IBA 0.5 mg/L为虎杖生根最佳浓度,生根率达到100%,平均生根数为5,平均苗高3.5 cm,且组培苗生长健壮(表4)。

### 2.5 组培苗移栽

将已生根的瓶苗从培养室内拿出,放在温室大棚内进行炼苗,加入少量水以保证苗木不失水分。炼苗3 d后,用清水把根部的培养基洗净,再用百菌清或甲基托布津1000倍液浸泡3~5 min,移栽到装有基质的穴盘中或苗圃地。基质采用:①泥炭土:珍珠炭(1:1);②泥炭土:珍珠炭(1:2);③

表4 不同生长素及不同浓度对虎杖生根的影响

生长素种类及浓度 (mg/L)	接种芽数 (个)	生根率 (%)	平均生根数 (个)	生长状况	平均根长 (cm)	平均苗高 (cm)	综合指标
IBA 0.2	40	90	4	叶绿	1.5	1.5	+
IBA 0.5	40	100	5	叶绿苗粗	2.0	3.5	++
NAA 0.2	40	100	4	叶黄苗细	1.6	2.0	+
NAA 0.5	40	100	3.9	叶黄苗细	1.2	1.0	+

圃地表土;④黄心土。每天检查温度和湿度,及时调查,20 d后揭开遮阳网和塑料膜,根据土壤状况进行间歇补水,30 d后测定成活率及生长量。试验结果表明:疏松且保水的圃地表土有利于虎杖组培苗的移栽,且生长状况良好,成活率达93%,高生长量6.98 cm,平均叶片增量4.86片,在温室大棚内间歇喷雾的移栽成活率要高于室外圃地,成活率达96.25%。虎杖组培苗的移栽在水分多,空气湿度大的地方成活率较高;组培苗移栽后覆盖薄膜有利于苗木成活和生长。

### 3 讨论

(1) 春季虎杖幼芽比较容易招蚜虫,灭菌比较困难。用0.1%升汞需要消毒10 min,无菌外植体获得率仅为62.5%。但是,春季正是虎杖生长旺盛季节,选择春季采样,有利于组培苗的快速生长与分化。采用低浓度的洗衣粉水清洗外植体可以将无菌外植体的获得率提高10%。

(2) 植物生长调节剂种类和浓度对虎杖的诱导和分化有较大影响。IBA和NAA是生长素,在组织培养中通常被用于诱导细胞分裂和根的分化。本试验中IBA浓度以0.2 mg/L最有利于芽的分化,IBA 0.5 mg/L最有利于根的分化与生长,而NAA则不利于虎杖芽的分化与根的形成,且容易造成组培苗黄化。MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L激素组合最适合虎杖芽的分化与生长,增殖芽最高达到了3.5 cm,增殖倍数达到了3.4,2-ip 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L激素组合也比较适合虎杖芽的分化与生长,增殖倍数达到

3.2,但是,2-ip比较昂贵,用于生产不经济。故生产上经常使用较为便宜的细胞分裂素为6-BA。IBA 0.5 mg/L为虎杖生根最佳浓度,生根率达到100%。

(3) 不同的移栽基质、不同的处理方法对虎杖的移栽成活率有很大影响。本试验中,圃地表土最适合虎杖组培苗的移栽,主要是因为圃地表土比较疏松且保水能力强,有利于虎杖的生长。在温室大棚内间歇喷雾的移栽成活率要高于室外圃地,主要是因为温室大棚温度基本恒定,且空气湿度大,有利于组培苗的移栽成活。组培苗移栽后覆盖薄膜,有利于水分的保持,故移栽成活率高。

#### 参考文献:

- [1] 杨培君,李会宁,赵桦.虎杖的组织培养与快速繁殖[J].西北植物学报,2003,23(12):2192-2195.
- [2] 马宗新,汪茂斌,赵红.组培苗的炼苗技术[J].安徽农业科学,2000,28(4):420-421.
- [3] 程丽英,刘树兴.白藜芦醇研究现状与应用展望[J].食品研究与开发,2005,26(1):25-27.
- [4] 洪志哲,唐明增,杨子峰,等.虎杖中白藜芦醇成分研究新进展[J].实用中医内科杂志,2005,1(3):200-202.
- [5] 王玉萍,王庆艳,王玉漾.中国蓼属药用植物综述[J].时珍国药研究,1996,7(3):172-173.
- [6] 刘树兴,程丽英.虎杖有效成分的开发现状及展望[J].食品科技,2005(2):96-98.

(上接第20页)

式在相同立地条件下,苦楝成活率为95%左右,生长良好,龙须草成活率和覆盖率均为100%。但由于只栽植了1 a多,总体效果还有待进一步观察。

② 生态经济区。在生态经济区种植水土保持林,以刺槐、湿地松纯林为好,其基本群落结构已建立,自然生长有乔木、灌木和草本,总盖度达90%以上。

③ 经济区。在经济区种植经济果木林或水保用材林,经济果木林以油桃间种油菜等为最佳配置模式。梯坎上种黄花菜也为成功模式,覆盖度可达100%。

#### 参考文献:

- [1] 《湖南森林》编辑委员会.湖南森林[M].长沙:湖南科学技术出版社,1989.

- [2] 赵辉.建立湘中丘陵紫色岩水土保持监测系统的探讨[J].水土保持研究,2004,11(2):52-54.
- [3] 王礼先.林业生态工程学[M].北京:中国林业出版社,1998.
- [4] 汪晓萍,等.衡阳紫色岩山地绿化攻坚科技推广试验与示范[J].湖南林业科技,2001,30(3):1-5.
- [5] 黄宇,等.紫色页岩地区种植龙须草生态效益研究[J].草业学报,2001,12(4):63-68.
- [6] 贾爱卿,等.龙须草水土保持效益初步研究[J].水土保持通报,1992,12(4):48-51.
- [7] 周玉成,等.南方紫色岩地区坡面水土保持林配置初探[J].湖南林业科技,2002,29(1):68-70.
- [8] 王礼先.水土保持工程学[M].北京:中国林业出版社,1992.