

黄芩组培工厂化技术研究

李永文,寇凤仙,李红,周艳珍,温秀荣

(保定职业技术学院农林与生物工程系,河北 071051)

摘要:选用黄芩健壮枝条作为材料,进行组培快速繁殖技术研究。结果表明:愈伤组织诱导激素组合以 6-BA1.0mg/L+NAA0.5mg/L 最为有利,所形成愈伤组织生长速度和质量均满足要求;不定芽分化激素组合为 6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L,增殖方式为器官发生型再生方式;继代培养采用 NAA 0.5~0.1mg/L+B₉0.5~0.1mg/L,增殖在 10 倍以上;生根培养 NAA0.5mg/L+IBA 0.1mg/L,一般 15d 左右生根,平均根量 4~5 条,生根率近 100%,能显著提高移栽成活率,满足植物组织培养工厂化育苗技术要求。

关键词:黄芩;植物组织培养;快速繁殖

中图分类号:Q813.1+2 **文献标识码:**A

Study on the Industrialized Rapid Clone Propagation Technology of *Scutellaria baicalensis* Georgi

Li Yongwen, Kou Fengxian, Li Hong, Zhou Yanzhen, Wen Xiurong

(Baoding Vocational and Technical College, Hebei 071051)

Abstract: Selects the vigorous and healthy branch of *Scutellaria baicalensis* Georgi as explants carried on the industrialized rapid clone propagation technology research. The results showed that plant hormone combination of 6-BA1.0mg/L+NAA0.5mg/L is good for callus induction, 6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L is suitable for Adventitious buds, NAA0.5~0.1mg/L+B₉0.5~0.1mg/L is good for cultivation of young plant, the coefficient of reproduction is up to 10. NAA0.5mg/L+IBA0.1mg/L is best for rootage, rooting rate was 100%, and completely meets the demands of the industrialized rapid clone propagation technology.

Key words: *Scutellaria baicalensis* Georgi, plant tissue culture, rapid clone propagation

黄芩为唇形科黄芩属植物,该属植物约 300 多种,世界广布,但热带非洲少见,非洲南部全无。中国有 100 种以上。可作为黄芩药用者约有 7 种左右,中国药典规定的黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)作为正品药用,以干燥根入药,又名山茶根、空心草、黄芩茶等,是中国常用大宗药材品种,为河北著名地道药材。黄芩性寒、味苦、有清热燥湿、泻火解毒、止血安胎等功能。主治高血压、动脉硬化、肺热咳嗽、湿热下痢、胎动不安等症。历史上以河北产黄芩质量最好,以质量优良而闻名于世,畅销全国。由于黄芩新药的不断开发,野生黄芩资源严重枯竭^[1-3]。目前黄芩多为人工栽培。应用植物组织培养技术以高效繁殖黄芩的技术,在尽量短的时间内繁育出优良品种种苗,是扩大

资源的一个重要途径^[4,5]。同时对保护黄芩野生植物资源,培育黄芩优良品种具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料

试验于 2005 年 7 月~2006 年 10 月在保定职业技术学院组培实验室和教学农场进行。选用陆地栽培黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的健壮枝条为试验材料。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒与培养 选用健壮嫩枝,用洗涤灵水反复摇动泡洗,自来水冲洗 20~30min,用 75%酒精处理 30s,再用 0.1%升汞处理 10min,加入数滴吐温 80 以提高灭菌效果,最后用无菌水冲洗 4~6 次,每次

基金项目:河北省科技厅项目“药用植物组培工厂化育苗技术研究”(06225509)。

第一作者简介:李永文,男,1964 年出生,河北省保定市人,副教授,主要从事植物及植物生理、植物组织培养等课程的教学与研究工作。Tel: 0312-5909384, E-mail: lyw1963@163.com。通讯地址:071051 河北省保定市朝阳南大街 613 号,保定职业技术学院。

收稿日期:2007-02-12

1~2min,以彻底除去升汞,取出后将材料水分用无菌滤纸吸干,切取茎节和叶片作为外植体接种于诱导培养基上。

1.2.3 培养基 诱导黄芩愈伤组织和分化使用 MS 培养基,附加不同浓度激素 6-BA 和 NAA;继代培养附加 6-BA、NAA 和 B₉; 以上均加入蔗糖 30g/L,琼脂 7g/L,pH 值为 5.8。诱导生根的培养基为 1/2MS 培养基,附加不同浓度的 NAA 和 IBA,蔗糖为 15g/L,pH 值为 5.8。

表 1 不同激素组合对黄芩愈伤组织诱导的影响

| 外植体 | 激素组合 | | 接种数量 | 20d 愈伤组织诱导率 (%) | 生长状况 |
|-----|------|-----|------|-----------------|------|
| | 6-BA | NAA | | | |
| 叶片 | 2.0 | 0.5 | 20 | 15 | 最慢 |
| | 1.0 | 0.5 | 20 | 40 | 快 |
| | 0.5 | 0.1 | 20 | 30 | 慢 |
| 茎段 | 2.0 | 0.5 | 20 | 45 | 快 |
| | 1.0 | 0.5 | 20 | 85 | 最快 |
| | 0.5 | 0.1 | 20 | 60 | 快 |

注:愈伤组织诱导率(%)= $\frac{\text{外植体形成愈伤组织数}}{\text{接种外植体数}} \times 100\%$

织,逐渐扩展至其它部分,形成相对较慢。从试验结果(见表 1)可知,诱导黄芩愈伤组织的形成,与外植体的种类有关,作为取材以茎段培养为佳,愈伤组织出现早,形成快;培养基激素组合以 6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5mg/L 为好,所形成愈伤组织生长速度和质量均满足要求,呈现绿色、菜花状、少量组织呈现红色,易分化。

2.2 黄芩愈伤组织的不定芽分化

将黄芩愈伤组织转入分化培养基进行培养,适宜的激素组合为 6-BA 1.0mg/L+NAA 0.1mg/L。愈伤组织接种 7~10d 后,愈伤组织逐步再分化产生器官原基,形成大量不定芽,继续培养便陆续形成小植株,逐步形成丛状结构。其增殖方式为器官发生型再生方式。见图 1。



图 1 黄芩愈伤组织在培养基上分化出大量丛芽

1.2.4 培养条件 培养温度控制在(25±1)℃,光照强度为 2000lx,光照时间 14h/d。

2 结果分析

2.1 黄芩愈伤组织的诱导

将黄芩外植体接种到培养基上,几天后,部分茎节开始膨大,约 15d 后,茎节两端可见绿色的愈伤组织形成,以后愈伤组织逐渐增大。叶片接种到培养基上后,逐渐变厚,随着培养时间的延长,大部分叶片逐步形成愈伤组织,起初从叶缘切处长出绿色愈伤组

2.3 继代培养

选取黄芩愈伤组织分化产生的小试管苗,以 2~3 节茎段为材料,接种于继代培养基上。继代培养基采用 MS+NAA 0.5~0.1 mg/L+B₉ 0.5~0.1 mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 7g/L,pH 5.8。继代周期为 3~4 周左右,增殖倍率在 10 倍以上,同时兼顾壮苗培养。

2.4 生根培养

选择 2~3cm 左右的无根壮苗接种到生根培养基上培养。试验表明,培养基为 1/2MS+NAA 0.5mg/L+IBA 0.1mg/L+蔗糖 10g/L+琼脂 7g/L+活性炭 10g/L,pH 5.8 时,一般 15d 左右生根,平均根量 4~5 条,生根率近 100%,较粗壮,符合试管苗驯化与移栽阶段的要求。结果见表 2。

表 2 不同浓度激素组合对黄芩试管苗生根的影响

| 组别 | 激素组合 | | 接种数量 | 生根率 (%) | 平均根量 | 生长状况 |
|----|------|-----|------|---------|------|------|
| | NAA | IBA | | | | |
| 1 | 0.5 | 0.5 | 40 | 100 | 7.1 | 细弱 |
| 2 | 0.5 | 0.1 | 40 | 100 | 4.5 | 粗壮 |
| 3 | 0.1 | 0.1 | 40 | 100 | 3.2 | 细弱 |
| 4 | 0.1 | 0.5 | 40 | 100 | 5.6 | 细弱 |

注:生根率、平均根量是随机选取 20 棵试管苗测量结果的平均值

2.5 炼苗移栽

当根长至 1~2cm 左右时,将生根试管苗在驯化室中炼苗 4~7d,驯化室为防虫网室,然后取出试管苗,洗净培养基,移栽到基质中。移栽基质采用草炭土

农业生物技术科学

与珍珠岩或蛭石等按 1~2:1 的比例混合,具有保水、透气和重量轻等优点,非常适宜试管苗移栽,移栽株行距 5cm×5cm,移栽成活率达 90%以上。

移栽后第 1~2 周为管理的关键阶段,初期湿度控制在 95%,温度 20~25℃,散射光,以后逐步降低空气湿度,增加光照强度;移栽基质用 50%多菌灵 1000 倍液喷洒基质消毒,每周 1 次。1 周后进行施肥,用 3 倍 MS 大量元素液喷施,每周 1 次。一般驯化 30d,苗高 5~8cm,具 6~8 片叶时,试管苗已经适应了外界环境条件后可进行定植。

3 结论与讨论

黄芩茎节和叶片均可作为外植体,进行愈伤组织诱导,但以茎节部位愈伤组织诱导速度快,生长迅速,且质量高,愈伤组织诱导激素组合为 MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.5mg/L。将愈伤组织进一步转接到激素组合为 MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L 分化培养基上,在培养 7~10d 后以器官发生型再生方式分化出大量不定芽。

继代培养阶段,选取 2~3 节茎段为材料再在适合的培养基上,培养基组成为 MS+NAA 0.5~0.1mg/L+B₂0.5~0.1mg/L,进行继代培养其增殖倍率在 10 倍以上,同时具有壮苗的作用,符合组培工厂化育苗要求。

生根培养筛选出的激素组合为 1/2MS+ NAA 0.5mg/L+IBA 0.1mg/L,并加入活性炭 10g/L,一般培养 15d 左右生根,平均根量 4~5 条,生根率 100%,能显著提高移栽成活率。此期选择整齐一致的无根苗进

行生根培养,这对以后成批规范化和标准化生产黄芩种苗至关重要。

移栽成活率是影响工厂化育苗生产成本的关键因素,不仅要求试管苗健壮和拥有较为发达的根系,而且需要适宜的栽培基质,移栽后的管理也同样重要。试验表明采用草炭土与珍珠岩或蛭石等按 1~2:1 的比例混合,具有保水、透气和重量轻等优点,非常适宜试管苗移栽。同时加强移栽后关键阶段的管理(第 1~2 周),移栽成活率可达 90%以上。

总之,此项研究建立了符合工厂化育苗要求的黄芩快速繁殖体系,为黄芩组培育苗工厂化奠定了基础。对保护日益枯竭的黄芩野生植物资源,培育黄芩优良品种具有重要意义。

参考文献

- [1] 崔德才,徐培文等.植物组织培养与工厂化育苗[M].北京:化学工业出版社,2003:180-209.
- [2] 曹孜义,刘国民,王蒂,等.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,1996:51-53.
- [3] 陈柏君,高山林.黄芩组织培养同源四倍体的诱导[J].植物资源与环境学报,2000,9(1):9-11.
- [4] 李欣,黄璐琦,邵爱娟,等.黄芩种质资源的研究概况[J].世界科学技术-中医药现代化,2003,5(6):54-61.
- [5] 陈秀清,齐香君,何恩铭.中药黄芩研究新进展[J].食品与药品,2006,8(5):23-28.

(责任编辑:王运琼)