

湖北麦冬茎尖离体培养与植株再生研究

别运清, 丁芹

(襄樊职业技术学院生物工程系, 湖北 襄樊 441021)

摘要: 研究了湖北麦冬茎尖离体组织培养和植株再生过程, 结果表明: 湖北麦冬茎尖在 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2~0.5 mg/L 的培养基中能完成愈伤组织的诱导、增殖与分化, 分化的小苗在 1/2MS+NAA 0.5 mg/L 的培养基中生根而完成植株再生过程。盆栽试验表明, 湖北麦冬茎尖组培苗具有很大的增产潜力。

关键词: 湖北麦冬; 组织培养; 盆栽试验

中图分类号: S567.23⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2004)09-0053-03

Shoot Tip *in vitro* Culture and Plantlet Regeneration of *Liriope spicata* var. *prolifera*

BIE Yun-Qing, DING Qin

(Department of Bioengineering, Xiangfan Vocational and Technical College, Xiangfan 441021, China)

Abstract: Studies on the process of shoot tip *in vitro* culture and plantlet regeneration of *Liriope spicata* var. *prolifera* showed that the process of induction propagation and differentiation of callus from the shoot tip was observed on the MS medium with 2.0 mg/L 6-BA and 0.2~0.5 mg/L NAA. The rooting of differentiated shoots and plantlet regeneration could be finished on the 1/2MS medium with 0.5 mg/L NAA. The pot bio-control test results showed that the shoots of tissue culture had great potentiality of increase in production.

Key words: *Liriope spicata* var. *prolifera*; Tissue culture; The pot test

湖北麦冬 (*Liriope spicata* (Thunb) Lour. var. *prolifera* Y. T. Ma) 主要栽培于汉水流域的襄阳、谷城、老河口等县市, 是《中国药典》(1995 年版) 收载的麦冬类药用植物之一。它以块根入药, 具有养阴生津、清心润肺之功效, 《神农本草经》将其列为上品。由于湖北麦冬历来都是采用无性分株繁殖, 容易导致种性退化和病毒积累。为了解决这一问题, 笔者进行了湖北麦冬的茎尖离体组织培养研究, 成功地完成了植株再生过程, 并对组培苗和盆栽苗进行了初步的盆栽对比试验, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 试材来源

供试湖北麦冬植株取于“湖北麦冬 GAP 试验基地”(湖北省襄樊市欧庙镇)。

1.2 茎尖的剥离和诱导培养基的筛选

将湖北麦冬植株洗净, 切去根, 去掉叶片, 只留包裹茎尖的嫩叶, 再用自来水冲洗约 30 min, 在超净工作台上先用 75% 的酒精处理约 30 s, 再转入 0.1% HgCl₂ 溶液处理 8~10 min, 无菌水洗 5~6 次, 以无菌滤纸吸干表面水分, 在解剖镜下

收稿日期: 2004-06-02

基金项目: 湖北省“十五”重大科技攻关项目(2001ZZ304Z01Z02Z03)

作者简介: 别运清(1969-), 男, 湖北仙桃人, 讲师, 主要从事植物组织培养教学与研究工作。

小心剥出茎尖, 用利刀切取 0.5~0.7 mm 大小的茎尖(带 2~3 个叶原基), 迅速接种于下述 4 种诱导培养基中, ①MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L; ②MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L; ③MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L; ④MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。每种培养基接种 20 个茎尖, 每瓶 1 个, 共 80 瓶, 平均分为 2 组: 一组一直光照培养, 光照强度 2 000~2 500 lx, 每天 12 h 光照; 另一组暗培养 7 d 后转入光照培养。培养温度均为 25 ℃左右。观察各培养基愈伤组织诱导和分化情况。

1.3 愈伤组织的增殖与分化

将在上述培养基上生长良好的愈伤组织切成小块, 转接到 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA (或 IBA)0.1~0.2 mg/L 的培养基中培养, 培养条件同愈伤组织光培养, 20 d 后观察增殖效果。

1.4 生根培养基的筛选

将丛芽中约 2.5~3 cm 高的苗切下, 接种于 1/2MS+IBA 0.5 mg/L 和 1/2MS+NAA 0.5 mg/L 2 种培养基上, 观察生根效果。

1.5 盆栽 对比 试验

将组培苗与常规种苗进行盆栽对比试验。各

10 盆, 每盆栽 1 株苗, 常规管理。观察单苗分蘖数和块根数。

以上培养基均附加 3%蔗糖, 0.6%~0.7%琼脂粉, 调节 pH 5.8。在 1.1 kg/cm² 压力下 (121 ℃)灭菌 20~25 min。

2 结果与分析

2.1 不同培养基愈伤组织诱导效果

试验只进行了 6-BA 与 NAA 的不同浓度配合的研究。接种的茎尖在①~④号培养基中培养, 20 d 后均可形成愈伤组织。愈伤组织的诱导与分化情况见表 1。从中可以看出, 在①、②号培养基中的愈伤组织形成率在 80%以上, 但其结构疏松, 无分化能力。说明较高浓度(> 1.0 mg/L)的生长素不利于湖北麦冬愈伤组织的分化。在③、④号培养基中, 能较好地形成愈伤组织, 形成率 50%~70%, 正常愈伤组织初期为白色随后转为淡黄色, 30 d 左右出现少量绿色颗粒状物, 继续培养还会出现少量芽的分化。2 种培养方式比较, 先暗培养再光培养对愈伤组织的诱导效果略好于一直光培养, 但对愈伤组织的分化状况并无明显影响。

表 1 愈伤组织的诱导与分化情况

培养基	光培养			先暗培养再光培养		
	接种数 (个)	成活数 (个)	生长分化状况	接种数 (个)	成活数 (个)	生长分化状况
①	10	9	愈伤组织乳白色, 疏松, 无不定芽分化	10	9	愈伤组织乳白色, 疏松, 无不定芽分化
②	10	10	愈伤组织乳白色, 较疏松, 无不定芽分化	10	8	愈伤组织乳白色, 较疏松, 无不定芽分化
③	10	6	愈伤组织初为乳白色, 结构紧密, 后转淡绿色, 分化不定芽	10	7	愈伤组织初为乳白色, 结构紧密, 后转淡绿色, 分化不定芽
④	10	5	愈伤组织初为乳白色, 结构致密, 后转淡绿色, 分化不定芽丛	10	7	愈伤组织初为乳白色, 结构致密, 后转淡绿色, 分化不定芽丛

2.2 愈伤组织的增殖与分化

将生长良好的愈伤组织切成小块, 转接到 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA (或 IBA)0.1~0.2 mg/L 培养基中培养, 培养条件同愈伤组织光培养诱导。20 d 后形成大量丛芽, 增殖倍率约为 10 倍。

2.3 不同培养基生根效果与植株再生

丛芽在 2 种生根培养基中均 15 d 开始生根。

其中, 1/2MS+NAA 0.5 mg/L 培养基的生根效果更好, 2 周后可产生 5~6 条根。

将生根苗移出培养室在 20℃ 左右室温下炼苗 3 d 后移栽至含水量为 60%左右的蛭石或珍珠岩, 或珍珠岩与椰糠(w/w=1:1)的育苗盘中, 喷洒 1:800 的多菌灵溶液, 覆膜保湿, 1 周后揭膜, 2 周后成活率可达 98%以上。

2.4 盆栽 对比 试验 结果

表 2 列出了组培苗和常规种苗的盆栽对比试验结果。根据表 2 的数据,对组培苗盆栽试验结果进行了相关分析。发现其单株产量(y)与单苗块根数(x_1)的相关系数为 0.77,二者有高度线性相关性,可以近似用一元线性方程 $y = 3.84 + 0.08x_1$ 表示,即单苗块根数每增加 1 个,单株产量增加 0.08 g。其单苗块根数(x_1)与单苗分蘖数(x_2)也高度线性相关,相关系数为 0.83,两者可以近似用一元线性方程 $x_1 = 3.88 + 1.73x_2$ 表示,即每增加 1 个分蘖,单苗块根数增加 1.73 个。麦

冬以块根入药,麦冬地下部分的储藏根是药用的最终产品,因此,块根数的多少将直接影响其产量;其地上部分(尤其是分蘖数)是产品产量形成的生物学保证,由于 x_1 与 x_2 呈正相关,分蘖数的增加将会促进块根数的增加,从而增加产量。所以分蘖数和块根数是影响麦冬产量的 2 个重要因素。

根据表 2,对组培苗与常规苗盆栽试验进行对比分析可以看出,因为组培技术的使用,使单苗分蘖数平均增加 1.5 个,单苗块根数($> 1\text{ cm}$)平

表 2 盆栽对比试验结果

盆号	组培苗			常规苗		
	单株产量 (g)	单苗分蘖数 (个)	单苗块根数 ($> 1\text{ cm}$, 个)	单株产量 (g)	单苗分蘖数 (个)	单苗块根数 ($> 1\text{ cm}$, 个)
1	4.68	4	12	3.23	4	10
2	4.95	7	16	2.87	3	7
3	4.83	6	13	3.15	3	8
4	4.35	3	10	4.22	4	15
5	5.04	5	13	3.16	4	7
6	5.37	7	18	3.29	3	8
7	4.87	4	11	2.83	3	5
8	4.56	4	8	3.46	3	9
9	5.13	6	12	3.37	3	9
10	4.92	5	14	4.02	6	11
平均	4.87	5.1	12.7	3.36	3.6	8.9

均增加 3.8 个,从而使单株产量平均增加 1.51 g,组培技术的使用增产效果明显。

3 结论

多数农作物,特别是无性繁殖作物,都易受到一种或一种以上病原菌的侵染。病原菌侵染不一定会造成植物的死亡,很多病毒甚至可能不表现任何可见症状。然而,在植物中病毒的存在会减少作物的产量和降低品质。据报道,当以特定的无毒植株取代被病毒侵染的母株后,产量最多可增加 300%(平均为 30%)。

众所周知,病毒在植物体内的分布是不均匀的。在受侵染的植株中,顶端分生组织一般是无毒的,或者只携带浓度很低的病毒。因此,通过茎

尖培养可以获得无病毒植物。湖北麦冬一直采用无性繁殖,利用湖北麦冬茎尖培养获得再生植株,对于获得湖北麦冬优良个体或无性系,特别是获得无病毒植株及无性系具有特殊的作用。

初步的盆栽试验结果表明:湖北麦冬茎尖组培苗单苗块根数与单苗分蘖数均显著高于常规苗,从而使单株产量显著提高,说明组培技术的使用增产效果明显。

参考文献:

[1] 吴弢,余伯阳,徐珞珊,等.湖北麦冬开花后长出小植株或小叶的发育解剖观察[J].中草药,2000,31(6):453—455.
[2] 李浚明.植物组织培养教程[M].北京:中国农业大学出版社,2001.