

桔梗的组织培养及快速繁殖

张凤生, 姜 淼, 李建红

(哈尔滨市农业科学院, 150070)

摘 要:以桔梗的种子获得无菌苗,取无菌苗的带节茎段为外植体,在诱导培养基 MS+BA 2.0 mg/L+NAA0.2 mg/L 上培养 15 d 左右,分化出苗,叶墨绿,叶片较大。丛生芽的增殖培养基以 MS+BA0.5 mg/L+NAA0.2 mg/L 为佳,芽长的大且粗壮。粗壮芽转入 1/2MS+NAA0.2 mg/L 生根培养基中,生根率达 95%。以上培养基中均附加 3%的绵白糖。pH 为 6.0。

关键词:桔梗;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S 567.23⁺9;S 603.6 文献标识码:B
文章编号:1001-0009(2007)01-0165-01

桔梗(*platycodon. grandifloxmccjacq.*), A. DC) 属桔梗科植物,别名也叫包袱花、铃当花、和尚帽子、和尚头。系多年生草本。株高 30~100 cm,全株具白色乳汁。根长圆锥形,肥大肉质,外皮黄褐或灰褐色。茎直立,上部稍分枝。叶对生或轮生,卵状披针形或披针形,边缘有细锯齿。花单生或呈疏生的总状花序。花期 7~8 月。桔梗通常以根入药,性平,味苦,辛,有开宣肺气,祛痰排脓的功能。用于治疗外感咳嗽,咽喉肿痛,肺病吐脓,胸痛,痢疾腹痛。临床用于肺炎,慢性支气管炎,小儿喘息性肺炎,肺脓疡,急性扁桃体炎,急性咽炎,声带小结,急性腰扭伤。通过采用组织培养技术,以桔梗无菌苗茎尖和茎段为外植体获得大量无毒的试管苗,对桔梗品质的优化和野生资源的保护及中药材的需求有着重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

通过桔梗的种子获得无菌苗为外植体。桔梗的种子由黑龙江省北药技术开发有限公司提供。

1.2 方法

选取成熟饱满的种子拿到超净工作台上备用。接种前先将种子用 75%酒精浸 30 s,再用无菌水冲洗 1 次,再倒入 0.1 升汞消毒 7 min 后用无菌水冲洗 5 次,每次时间为 2~3 min。然后接入培养基中。诱导培养基为 MS+3.0%蔗糖+0.75%琼脂,附加不同浓度的 BA 和 NAA,pH 为 6.0。培养温度为 22℃~28℃,每天光照 12h,光照强度为 1 500~2 000 Lx。增殖培养基为在上述培养基基础上附加不同浓度的 BA。无根苗生根培养基为 1/2MS 培养基,附加不同浓度的 NAA。

1.3 移栽

把苗从瓶中取出后,用水将根部培养基清洗干净,注意不要伤根。栽到育苗盘中,草炭:蛭石=1:1 的配

方上,平整介质分成行宽为 3 cm,苗距 1 cm。栽完后放到温室或用竹子搭建成的小拱棚里,再用薄膜或遮阳网盖上,处理的第一周是关键时期,此时苗非常细弱,从培养基到土壤中,环境条件变化大,光照、温度和湿度都与此前不同,植株由异养变自养,根系不发达,稍不留心就可能造成死苗。此段时期的管理工作主要是遮荫或保暖,防曝晒,保持膜内温度,并注意防霉,3~4 d 后适当增加通风时间,以防膜内湿度过高。晚间温度过低适当保温,控制在 15℃~20℃。湿度 80%~90%。如果管理措施得当,成活率可达 90%以上。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

将消完毒的桔梗种子接种到做好的以下 4 种培养基上,观察其生长状况。有不同大小的愈伤组织出现,在其上面有许多绿色的颗粒状小芽点,以后这些小芽点开始分化丛生的营养芽。15 d 以后观察并统计结果,比较 4 种诱芽培养基的效果(见表 1),可以看出 4 号培养基比较适合桔梗初期诱导生长。

表 1 培养基中激素配比对桔梗诱导的影响

培养基号	母液	细胞分裂素 (6-BA)	生长素 (NAA)	生长状况
1	MS	0.5	0.1	有愈伤组织,分化苗浅绿
2	MS	1	1.0	无愈伤组织,个别分化
3	MS	3	0.3	有小块的愈伤组织,苗分化高
4	MS	2	0.2	分化出苗,叶墨绿,叶片较大

注:细胞分裂素和生长素浓度均为 mg/L(下同)。

2.2 丛生芽的增殖培养

表 2 6-BA、NAA 丛生芽增殖的影响

培养基号	母液	细胞分裂素 (6-BA)	生长素 (NAA)	形成芽数 /始接芽数	增殖倍数	生长势
1	MS	0.5	0.2	200/5	40	苗绿
2	MS	1	0.2	11/5	2.2	苗分化不好
3	MS	1.5	0.2	20/5	4	淡绿
4	MS	2	0.2	58/5	11.6	苗浓绿

待丛生芽长至 1.5~3.0 cm 时,将其分割成许多小苗或小块,转接入 4 种增殖培养基中,以扩大增殖系数。培养 1 个月后观察增殖效果(见表 2),由表可以看出 2 号的增殖倍数不高且苗的分化不好,3、4 号培养基的分化苗长势不好,1 号的增殖倍数最高,且分化较好,因此桔梗的扩繁培养基定为 1 号。

2.3 生根培养

表 3 NAA 对桔梗丛生芽生根的影响

培养基号	母液	生长素(NAA)	根数(条)/棵	生根苗数/接苗数	生根率(%)
1	MS	0.2	12	76/80	95
2	MS	0.3	5	60/80	75
3	MS	0.01	7	64/80	80

于 10 月份增殖培养基上的粗壮芽转入 3 种生根培养基中,培养条件相同。10 d 以后观察并统计结果(表 3),试验表明 2 号培养基长根虽粗,但是个别未生根。3 号根细弱。1 号的根均匀且长根条数约为 12 条,1 号较适合桔梗生根培养。

3 讨论

通过以上研究,摸索出了一整套桔梗的快速繁殖技术,可进行大规模的工厂化生产,达到离体快速繁殖的目的。但是扩繁的组培苗细弱,影响了成活率的提高。在进行下一步试验研究中,应该利用一些生长抑制剂进行调控,效果会更好。

第一作者简介:张凤生,男,助研,现从事植物组织培养研究工作。
收稿日期:2006-09-10