

平贝母鳞茎离体培养研究

李余先^{1,2}, 陈凯峰¹

(1. 吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101; 2. 吉林农业大学, 吉林 长春 130118)

摘要:以 MS 为基本培养基, 添加不同的激素配比进行平贝母鳞茎离体培养对比试验。结果表明: 生长素 NAA 对形成愈伤组织有主导作用, 添加量以 0.6 mg/L 较为合适, 6-BA 和 KT 对促进芽分化都能起主导作用, 6-BA 以 0.4 mg/L 为好, KT 以 1.0 mg/L 为好, 在生根阶段, 添加 2.0 mg/L 的 IBA 较为理想。

关键词:培养基; 激素配比; 平贝母

中图分类号: S 567.23⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)03-0121-02

平贝母(*Fritillaria ussuriensis* Maxim.) 是百合科多年生草本植物, 主要分布于黑龙江、吉林、辽宁等省, 是我国东北地区的一种名贵药用植物, 始载于《神农本草经》, 有清热润肺, 化痰止咳的功效。由于其分布范围较狭窄, 生长地区的林木不断受到砍伐, 自然植被遭受破坏, 林地环境恶化, 加之不断采挖, 因而野生植株逐渐减少, 目前中药上常用的大都为人工栽培。而人工栽培常用的繁殖方法为种子或鳞茎繁殖, 用种子繁殖, 不仅困难, 而且周期长; 如用鳞茎繁殖, 则用种量大而繁殖系数低。如种 1 只鳞茎, 只能收 1.5 只鳞茎, 除去留种, 只有 0.5~0.6 只供药用, 所以尝试采用鳞茎的离体培养方法, 快速繁殖平贝母, 具有较大的实用价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

平贝母鳞茎取于吉林农业科技学院药植园, 当年采收。选用 MS 基本培养基, NAA、KT、IBA、6-BA 4 种激素配比, 加入 4% 蔗糖的液体培养基, 用 100 mL 三角瓶培养^[1]。

1.2 试验方法

1.2.1 基本培养基及添加成分 在不同阶段采用不同培养基配方, 基本培养基为 MS, 主要在激素上加以变化。愈伤组织诱导培养基为 5 个配比: 基本培养基都采用 MS, 然后添加不同配比的 NAA, 分别记作: J1: MS+NAA 0.2 mg/L; J2: MS+NAA 0.4 mg/L; J3: MS+NAA 0.6 mg/L; J4: MS+NAA 0.8 mg/L; J5: MS+NAA 1.0 mg/L^[2]。分化培养基为 4 个配比: 基本培养基都采用 MS, 然后添加不同配比的 6-BA 和 KT 以及

0.5 mg/L 的 NAA, 分别记作: Y1: MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L; Y2: MS+6-BA 0.4 mg/L+NAA 0.5 mg/L; Y3: MS+KT 0.8 mg/L+NAA 0.5 mg/L; Y4: MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L。根诱导培养基为 4 个配比: 基本培养基都采用 MS, 然后添加不同配比的 IBA, 分别记作: S1: MS+IBA 1.0 mg/L; S2: MS+IBA 1.5 mg/L; S3: MS+IBA 2.0 mg/L; S4: MS+IBA 2.5 mg/L。

1.2.2 材料处理 接种: 在接种前选择当年采收健壮无病的平贝母鳞茎, 先刮去鳞片上的栓皮, 用水洗净后, 在 0.1% 升汞溶液中消毒 20 min, 倒去消毒液, 用无菌水冲洗 3~4 次, 沥干水, 在超净工作台内将鳞片切成 5 mm² 厚 2 mm 的小块接种。接种时在三角瓶内放入 2.5~3 cm 高的滤纸卷, 其上面放一圆形滤纸块作为“载桥”, 液体培养基一般装 30~40 mL。分化增殖: 在鳞茎小块接种 3~4 周后开始, 接种的鳞茎小块会从基部陆续长出黄绿色的愈伤组织, 切割这些愈伤组织, 在超净工作台内转瓶到上述 4 种分化液体培养基中(采用“载桥”方式), 然后放到培养室让其生长。根诱导培养: 待愈伤组织在分化培养基上分化出白色的小鳞茎时, 长到一定的大小转接到上述根诱导培养基中(采用“载桥”方式), 放入培养室进行培养, 等再生植株长成健壮的完整苗时再进行出瓶培养, 在无菌基质中培养成生产用苗。

1.2.3 培养条件 培养室光温可控, 愈伤组织诱导阶段温度控制在 16~21℃, 漫射光下培养; 分化增殖阶段先在低温 1~2℃ 条件下培养 3~4 周, 转至 18℃ 条件下培养, 光照度 400 lx, 每天光照 12 h; 生根阶段温度 18℃ 左右, 光照度 400~2 000 lx(先低后高)。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织诱导情况

鳞茎小块在 5 种诱导培养基上均有不同程度的分化, 从形成愈伤组织的时间及愈伤组织诱导率来看, 5 种

第一作者简介: 李余先(1979-), 男, 吉林市人, 在读硕士, 研究方向为天然产物化学与新药研发。E-mail: victoryliyuxian@163.com。
收稿日期: 2009-10-09

表 1 5 种诱导培养基上外植体诱导分化情况

诱导培养基	愈伤组织出现时间/d	愈伤组织诱导率/%
J1	20	12
J2	18	48
J3	16	68
J4	15	52
J5	15	46

诱导培养基对外植体的影响有明显差异(见表 1)。

由表 1 可知,5 种诱导分化培养基都可以诱导出愈伤组织,但 J1 出现愈伤组织的时间相对较晚,愈伤组织诱导率极其低,说明该配方不适合,其它 4 种配方诱导率都大于 45%,说明都可以用于诱导分化,但比较而言 J3 最高,说明添加 0.6 mg/L 的 NAA 较为合适^[3]。

2.2 分化情况

将愈伤组织切块后进行转瓶,在 4 种分化培养基上有一定差异。在观察的过程中发现在 Y1、Y3 上 40 d 左右开始形成小鳞茎,Y2、Y4 上 30 d 左右开始形成,并且在每种培养基上除了形成小鳞茎外都会有一些芽的形成。在 4 种分化培养基上最终形成的小鳞茎数量差距较大(见图 1)。

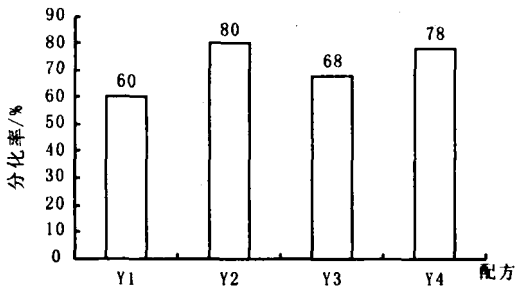


图 1 不同分化培养基的增殖系数

由图 1 可知,培养基 Y2 分化率高达 80%,其次 Y4 为 78%,Y1、Y3 相对较低,可见 6-BA 和 KT 2 种细胞分裂素都可以用于小鳞茎的分化,只需在用量上加以调整^[4]。

2.3 生根培养基情况

在 4 种生根培养基上,均能发育成生根植株,但生根时间和生根率不同,具体结果(见表 2)。

表 2 不同生根培养基诱导生根情况

生根培养基	生根时间/d	生根率/%
S1	15	40
S2	12	82
S3	8	100
S4	8	60

从表 2 可知,生根培养基有 4 个配比,均有不同表现。生根时间一般以 10 d 左右适宜,S2、S3、S4 均可。但生根率有差异,S4 上先形成根系,但后来部分根干枯,造成生根率降低,S2 生根时间稍长,相比较而言,S3 生根时间短,根系条数偏多,最为理想。

3 结论

综合 3 个培养环节,生长素 NAA 对形成愈伤组织有主导作用,添加量以 0.6 mg/L 较为合适;6-BA 和 KT 对促进芽分化都能起主导作用,但添加量应加以控制,6-BA 以 0.4 mg/L 为好,KT 以 1.0 mg/L 为好;在生根阶段,添加 2.0 mg/L 的 IBA 较为理想。从该试验结果可得出,平贝母鳞茎离体培养的方案:选用平贝母的鳞茎切块转入 J3;MS+NAA 0.6 mg/L 培养基上,诱导出愈伤组织,然后将愈伤组织切块转入 Y2;MS+6-BA 0.4 mg/L+NAA 0.5 mg/L 或 MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基上,分化出多数量的的小鳞茎,将这些小鳞茎进一步转入 S3;MS+ IBA 2.0 mg/L 培养基上,分化出根,进而形成再生植株^[5]。

参考文献

[1] 张美萍,王义,魏汉莲,等. 平贝母培养物次生代谢研究[J]. 吉林农业大学学报,2003(2):56.
[2] 袁艺. 4 种都江堰川芎亲缘关系的 RAPD 分析及浙贝母鳞茎愈伤组织的诱导及植株再生研究[D]. 四川大学硕士学位论文,2005.
[3] 许矛,张美萍. 平贝母快速繁殖研究[J]. 中药材,2007(1):6-8.
[4] 唐巍. 培养条件对平贝母愈伤组织分化的影响[J]. 中药材,1996(4):67-68.

Bulbs Culture of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. in Vitro

LI Yu-xian^{1,2}, CHEN Kai-feng¹

(1. Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin Jilin 132101; 2. Jilin Agricultural University, Changchun, Jinlin 110003)

Abstract: In every stage, taking MS as basic medium, added different hormone ratio to bulbs culture *in vitro* to reproduce fritillaria rapidly. The resulted showed NAA had leading role on the formation of callus and 0.6 mg/L amount was more appropriate. 6-BA and KT had leading role on the differentiation of buds. 0.4 mg/L 6-BA amount was better. 1.0 mg/L KT was better. In rooting stag, added 2.0 mg/L IBA amount was ideal.

Key words: medium; hormone ratio; *Fritillaria ussuriensis* Maxim