

多齿吊石苣苔的组织培养与快速繁殖

黄宁珍*, 赵志国, 石云平, 唐凤鸾, 付传明, 盘波, 周太久

广西壮族自治区/中国科学院广西植物研究所, 广西桂林 541006

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Lysionotus denticulosus* W. T. Wang

HUANG Ning-Zhen*, ZHAO Zhi-Guo, SHI Yun-Ping, TANG Feng-Luan, FU Chuan-Ming, PAN Bo, ZHOU Tai-Jiu

Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi 541006, China

1 植物名称 多齿吊石苣苔(*Lysionotus denticulosus* W. T. Wang)。

2 材料类别 中上部叶片。

3 培养条件 (1)诱导培养基: MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹ (单位下同)+IBA 0.1+3%蔗糖; (2)增殖培养基: MS+6-BA 0.5~1.0+IBA 0.05+3%蔗糖; (3)生根培养基: MS+BA 0.1+IBA 0.01+2%蔗糖。以上培养基均加 0.6% 琼脂, pH 6.0。培养温度为(28±3) °C, 光照时间为 12 h·d⁻¹, 光照强度为 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 材料的消毒和接种 取多齿吊石苣苔中上部比较厚实的叶片, 用 0.2% 左右的洗洁精浸洗 5 min, 并用自来水冲洗干净后, 移至超净工作台内, 先放入 75% 酒精中浸泡 30 s, 后转入 0.1% HgCl₂ 溶液中消毒 7~8 min, 无菌水冲洗 5 次。用手术剪将叶片剪成约 1.0 cm×1.5 cm 的小块, 斜插于诱导培养基 (1) 中培养。

4.2 愈伤与不定芽的诱导 叶片外植体接种一段时间后, 边缘逐渐长出愈伤组织, 叶片增厚, 培养 45 d 后观测, 在未污染的外植体中, 愈伤诱导率为 85.7%, 不定芽诱导率为 14.3%; 不定芽主要在叶片的上表面形成, 再培养 2~3 周, 不定芽逐渐长成 1~2 cm 的芽苗 (图 1)。

4.3 不定芽的继代增殖 初代诱导的不定芽长到 1~2 cm 时, 分切成单株接种到培养基 (2) 上进行增殖培养, 40 d 左右形成新的丛芽 (图 2), 如此反复分切丛生芽进行增殖培养, 可以获得大量芽苗, 每 40 d 增殖系数为 4.0。在继代培养中, 如果要获得较高的增殖系数, 6-BA 浓度可调至较高的浓度水平, 为 1.0 mg·L⁻¹; 如果要获得比较壮实的芽苗, 则 6-BA 浓度应调至相对较低的浓度水平, 为 0.5 mg·L⁻¹。对较高、较壮实的芽苗进行再次继代时, 可以将之剪切成 1.5 cm 左右的茎节进行增殖培养。继代增殖的次数根据所需的种苗数量而定, 但原则上为 20 代

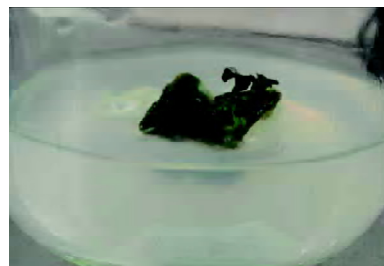


图 1 多齿吊石苣苔的初代诱导



图 2 多齿吊石苣苔的继代增殖

左右, 如果继代次数过多, 会出现培养材料退化, 生长和繁殖速度变慢。

4.4 生根培养 当芽苗长到 2~3 cm、有 2~3 片以上真叶时, 从基部切下芽苗, 接入培养基 (3) 中诱导生根, 培养 35 d 后观测, 除了少数比较弱小的芽苗外, 几乎全部培养材料均能生根, 生根率达到 95% 以上 (图 3)。另外, 在生根培养中, 低盐浓度 (1/2MS) 的培养基容易使被培养材料产生大量的气生根 (图 4), 在一定程度上影响地上部分的正常生长。

收稿 2010-07-05 修定 2010-07-12

资助 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科攻 0992003B-31) 和桂林市科学研究与技术开发计划项目 (20090525)。

* 通讯作者 (E-mail: hnzhen68@yahoo.com.cn; Tel: 0773-2900645)。



图3 多齿吊石苣苔的生根培养



图4 多齿吊石苣苔在低盐浓度培养基(1/2MS+BA 0.1+IBA 0.01)中形成的气生根

因此,与多数植物不同,多齿吊石苣苔的生根培养基以MS为无机盐并添加低浓度的6-BA ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)效果较好。

4.5 炼苗及移栽 将生根的试管苗于室内打开瓶盖炼苗2 d后,将苗从培养瓶中轻轻取出,用自来水洗净根部培养基,移栽到基质中,移栽基质为有机质含量比较丰富的塘泥经堆沤腐熟后制成。移栽苗在荫蔽75%的连栋大棚内培养。根据天气情况定期浇水,保持苗钵湿度,40 d后统计成活率。桂林地区春季(4~5月)移栽,成活率90%以上(图5)。



图5 多齿吊石苣苔生根组培苗的移栽

5 意义与进展 苦苣苔科植物含有黄酮类、苯乙醇类、醌类、萜类等多种化学活性物质,具有显著的抑菌、消炎、抗病毒、止咳、祛痰、平喘及解蛇毒等功效,多数种类为民间常用草药,是分离新的活性成分和寻求新型先导化合物的良好材料(郑晓珂等2003)。然而由于该科植物分布区域窄、资源数量少,多数物种为珍稀植物,目前难以找到足量的材料进行化学和药理学研究。因此,对该科植物进行组织培养与快速繁殖技术研究,获得大规模的种苗和植物材料,是加快其有效成分研究和开发应用进程的良好手段。多齿吊石苣苔为吊石苣苔属多年生亚灌木植物,分布于广西(那坡、武鸣、南丹、环江)、云南(麻栗坡)和贵州(荔波)等地,生于石灰岩山地疏林中(李振宇和王印政2004);与吊石苣苔属其他物种一样,该植物含有抗结核活性成分石吊兰素(nevadensin)以及多种具有重要生理活性的化合物,在医学临床和新药研发方面均有重要的应用潜力(房秀华1997;李振宇和王印政2004;冯卫生等2007;盛卫国等2009)。在苦苣苔科植物中,虽已有不少物种进行了组织培养研究(汤正辉等2005;梁桂友2007;温放等2008),但有关吊石苣苔属植物的相关研究仅见吊石苣苔(*L. pauciflorus*)一种(刘伟和黄勇2010),而多齿吊石苣苔的组织培养和快速繁殖技术研究未见报道。本文的研究结果将为该物种的大规模繁殖、保护及可持续开发利用奠定实验和技术基础,也为同属其他物种的组织培养技术研究提供借鉴和参考。

参考文献

- 房秀华(1997). 苦苣苔科药用植物化学成分研究及化学系统学初探[博士论文]. 北京: 中国协和医科大学, 39~72
- 冯卫生, 李倩, 郑晓珂(2007). 吊石苣苔的化学成分研究. 中国药理学杂志, 42 (5): 337~338
- 李振宇, 王印政(2004). 中国苦苣苔科植物. 郑州: 河南科技出版社, 384~385, 627~644
- 梁桂友(2007). 三种苦苣苔科植物组织培养快速繁殖研究[硕士论文]. 北京: 北京林业大学, 23~33
- 刘伟, 黄勇(2010). 吊石苣苔的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 46 (2): 159~160
- 盛卫国, 熊阳, 徐莲英(2009). 高效液相色谱法测定石吊兰中石吊兰素的含量. 中成药, 31 (2): 321~322
- 汤正辉, 石雷, 陈维伦, 苗琛, 邢全(2005). 异裂苣苔的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 41 (5): 643
- 温放, 张启翔, 任翔翔(2008). 黄花牛耳朵的离体培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 44 (2): 301~302
- 郑晓珂, 李军, 冯卫生, 刘云宝(2003). 苦苣苔科植物研究进展. 中国新药杂志, 12 (4): 261~263