## 溪黄草离体培养和快速繁殖

红、冼建春、肖省娥、徐鸿华 (广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510405)

探讨溪黄草 Isodon serra (Maxim.) Kudo 离体培养的过程, 为优良品种的快速繁殖奠定基础。 方法 以溪黄草无菌苗的带节茎为外植体、采用 MT 基本培养基、附加不同植物激素进行试验。结果 加激素 BA 有利于芽的发生: 适宜的 BA 浓度为 1 mg/L, 出芽率高达 100%, 且出芽数量多: 基本培养基以完全的 MT 成分为好; 生根培养基选择 MT+ 0.2 mg/LNAA, 生根率为 100%; 试管苗移栽, 成活率为 90%。结论 通过溪 黄草离体培养的研究,获得了较高的植株再生频率,建立了有效的组织培养再生体系。

关键词: 溪黄草: 离体培养: 快速繁殖

中图分类号: S 567 文献标识码: B 文章编号: 0253 - 2670(2001) 03 - 0255 - 02

### In vitro culture and rapid propagation of Isodon serra

HE Hong, XIAN Jian-chun, XIAO Sheng-e, XU Hong-hua

(College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of TCM, Guangzhou Guangdong 510405, China)

Abstract: Object To study the in vitro culture of Isodon serra (Maxim.) Kudo, so as to lay a foundation for the rapid propagation of its improved breeds. **Methods** The explants used for culture were stem segments with node from I. serra. The media were MT basal media containing different plant hormones. **Results** The media containing BA were effective to induce shoot formation. Optimal BA concentration for shoot formation and growth was 1 mg/L. MT basal medium was better than 1/2 MT. The optimal rooting medium for regenerated shoots was MT basal medium supplemented with 0.2 mg/L NAA, a root induction rate of 100% was achieved. The survival rate of plantlet was 90% after transplanting under suitable condition. Conclusion An effective plant regeneration system has been established for I. serra on the basis of factors affecting the culture in vitro.

Key words: Isodon serra (Maxim.) Kudo; in vitro culture; rapid propagation

溪黄草 Isodon serra (Maxim.) Kudo 为唇形科 香茶菜属植物, 民间习用草药, 常用清热利湿、凉血 散瘀、治急性黄疸型肝炎、急性胆囊炎等疾病[1]。 溪 黄草通常以种子或扦插繁殖[2]。由于种子繁殖后代 性状分离大, 扦插繁殖诱导生根困难及繁殖数低等, 难以得到迅速的推广和发展。利用组织培养快繁技 术, 既可保持优良品种的种性, 又可在短期内使优良 品种迅速推广种植[3]。我们试用植物组织培养技术 进行溪黄草无菌试管苗快速繁殖研究, 为工厂化育 苗提供技术依据。

#### 材料与方法

植物材料: 供试材料取自广州中医药大学药 圃, 采取溪黄草顶芽或侧芽作为外植体, 用 70% 乙 醇消毒 30 s, 再用 0.1% 的升汞浸泡 10 ~ 15 min, 无 菌水清洗 4~5 次,接种于 MT 培养基上生长。待苗 茎长有 3~4 个节段时, 切取 1 cm 长的带节茎段, 接 种在多芽形成的不同培养基上进行离体培养。

- 采用 MT(Murashige and Tucker 1969)<sup>[4]</sup>基 本培养基,根据试验要求附加不同浓度的 BA、NAA 等, 每天光照 16 h, 温度为(26 ± 1)
- 结果与分析
- 植物激素对出芽的影响: 以带节茎为材料, 接 种于含不同激素的 MT 培养基上, 外植体接种 1 周 左右, 开始变绿膨大, 2周后陆续分化形成不定芽, 1 个月后统计结果(表 1)。5 培养基均能诱导 80% 以 上的出芽率, 尤以 2, 4 号培养基效果最好, 出芽率达 100%。单个外植体诱导芽的数量,以2号培养基上 最多, 出芽数为 6 个以上, 其次为 4 号培养基。因此 在进行溪黄草的离体培养和快速繁殖时, 带节茎是 较好的材料, MT 基本培养基附加 BA 能提高成芽 率,并能增加外植体出芽的数量。
- 2.2 BA 浓度对出芽的影响:表 2 可见,在无 BA 的

贺 红(1967),女, 1997 年毕业于华南师范大学生物系, 获理学博士学位, 现为广州中医药大学中药资源室副研究员。主要从 事中药生物工程方面的研究工作, 目前正在主持国家自然科学基金及广东省自然科学基金等课题的研究, 发表论文 30 余篇。 作者简介: 贺

表 1 不同激素对出芽的影响

编号	培养基	外植体数	出芽率	单个外植体诱导
	(mg/L)	( 1	(%)	芽的数量(个)
1	МТ	41	82. 9	2~3
2	MT + BA1	38	100	6个以上
3	MT+ZT1	38	92. 1	2~3
4	MT + BA0.5 + ZT0.5	40	100	3 ~ 4
_ 5	MT + KT1	42	90. 5	2~3

MT 培养基上, 出芽率为 80.0%, 随着 BA 浓度的升高, 出芽率增加, BA 为  $1\,\mathrm{mg/L}$  以上时, 出芽率均为 100%。单个外植体诱导芽的数量与 BA 浓度有关, 不加 BA 时, 芽数为  $2\sim3$  个, 附加 BA 能增加成芽数量, BA  $1\,\mathrm{mg/L}$  时, 芽数达 6 个以上, 但 BA 浓度继续增加, 出芽数反而下降。同时试验还观察到, BA 为  $2\,\mathrm{mg/L}$  时, 长出的芽矮小, 叶色淡绿, 生长受抑制, BA 为  $4\,\mathrm{mg/L}$  时, 抑制作用更为明显。因此, MT 附加低浓度的 BA  $(1\,\mathrm{mg/L})$  对芽的诱导与生长较为适宜。

表 2 不同 BA 浓度对出芽的影响

BA 浓度	外植体数	出芽率	单个外植体诱导芽的数量
(mg/L)	( 1	(%)	(个)
0	35	80.0	2~3
0. 5	38	94. 7	3 ~ 4
1.0	40	100	6个以上
2. 0	36	100	4 ~ 5
4. 0	42	100	2~3

2.3 基本培养基对芽生长的影响: 各选取 35 个外

植体,分别培养在附加 BA 1 mg/L 的 MT 和1/2 MT 培养基上,培养1个月,从产生芽数、苗高度、苗健壮程度及叶色等方面观察,发现 MT 明显优于1/2 MT。在1/2 MT上,不仅芽数少、苗小,而且叶色发黄,茎细弱,培养一段时间后,部分苗顶出现发黄、萎缩现象。说明矿质元素减半不利用芽生长,故基本培养基以完全的 MT 成分为好。

- 2.4 根的诱导: 溪黄草外植体培养诱导形成的芽,生成丛生苗(图 1), 待苗生长至 2  $_{\rm cm}$  长时, 切下转入生根培养基, 转瓶后一般 1 个月左右开始形成根, 获得完整植株(图 2)。本试验以 MT 及 MT + 0.2  $_{\rm mg/L}$  NAA 为诱导培养基, 分别接入 30 及 35 个无根苗, 结果表明, 溪黄草组培苗较易生根, 在无激素的 MT 培养基上, 生根率为 86%, 附加 0.2  $_{\rm mg/L}$  NAA, 生根率可达 100%。
- 2.5 幼苗移栽: 试管苗移栽能否成活, 是用组培法进行快繁的重要一环。只有生根试管苗经过移栽后,根能长出新根和根尖, 并能从土壤中或其它栽培介质中吸取水分及养分, 才能成活。方法是选取已生根的健壮的溪黄草试管苗, 揭开瓶塞, 让幼苗在自然光下或培养室光照下锻炼 2 d, 然后取出转入已消毒的细沙中沙培炼苗, 添加 1/2 MT 培养液作养分, 待生长稳定, 长出新叶后移栽于露天种植, 在移栽的 32 株苗中, 90% 获得成活(图 3)。







图 1 带节茎培养诱导出丛生芽

参考文献:

图 2 已长出根的试管苗

图 3 试管苗移栽成活

# [1] 赖小平,陈建南,陈林姣,等.中药资源开发利用研究论文集 [C].广东:广东科技出版社,1996.

- [2] 陈建南, 赖小平, 刘 念. 广东溪黄草药材的原植物调查及商品鉴定[J]. 中药材, 1996, 19(2): 45-47.
- [3] 杨世林, 张本刚, 陈 君, 等. 药材栽培在中药资源可持续利用中的作用及发展战略[J]. 中草药, 1999, 30(11): 870-873.
- [4] Murashige T, Tucker DP H. Growth factor requirements of Citrus tissue culture [J]. Proc first Int Citrus Symp, 1969, 3: 1155-1161.

#### 关键词的标引

据文献报道[陈浩元,郑进保,李兴昌.科技书刊标准化 18 讲[M],北京:北京师范大学出版社,1998.],关键词包括两类词:1) 叙词(正式主题词),指收入《汉语主题词表》(叙词表)中可用于标引文献主题概念的即经过规范化的词和词组;2)直接从文章的题名、摘要、层次标题或文章其它内容中抽出来的,能反映该文主题概念的自然语言(词或词组),即汉语主题词表中的上位词、下位词、替代词等非正式主题词和词表中找不到的自由词。