

桔梗的组织培养

舒 变, 高山林

(中国药科大学, 江苏 南京 210038)

The tissue culture of *Platycodon grandiflorum* A. DC. SHU Luan, GAO Shan-lin (China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2001, 10(3): 63-64

Abstract: A Study of tissue culture *in vitro* and plant reproduction of *Platycodon grandiflorum* A. DC. was carried out. The results indicated that MS medium containing 6-BA 1.0 mg/L and IAA 0.5 mg/L was the best for callus induction; MS medium containing 6-BA 0.3 mg/L and IAA 0.1 mg/L was suitable for crowd bud propagation; 1/2 MS medium containing IAA 0.5 mg/L and ABT 0.1 mg/L is effective in inducing root with the ratio of 95%, fast propagation of *P. grandiflorum* by tissue culture method could be established, which will lay down the foundation of the breeding and clone of excellent varieties of *P. grandiflorum*.

关键词: 桔梗; 组织培养; 愈伤组织; 植株再生

Key words: *Platycodon grandiflorum* A. DC.; tissue culture; callus; plant reproduction

中图分类号: S567.23; Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2001)03-0063-02

桔梗(*Platycodon grandiflorum* A. DC.)为桔梗科多年生草本植物,根供药用,有宣肺、祛痰、排脓之功效。用于治疗外感咳嗽,咽喉肿痛,肺病吐脓等症^[1]。

近年来,桔梗成为极具开发前景的一种药食两用经济作物,需求量大增,野生资源不能满足需要,人工栽培问题已有研究^[2],进展也较快。桔梗药材生产主要采用种子或无性繁殖,而通过组织培养的方法进行桔梗快繁,在80年代中期少数学者进行过初步研究^[3,4]。作者拟通过桔梗的离体培养试验,优化培养条件,为缩短桔梗育苗周期和优良品种快繁提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

桔梗种子在MS基本培养基上无菌萌发。以无菌苗作为试验材料。

1.2 培养基配方(mg/L)

(1)基本培养基MS;(2)愈伤组织诱导培养基 2-1: MS+6-BA 0.2, 2-2: MS+2,4-D 0.2, 2-3: MS+6-BA 1.0, 2-4: MS+6-BA 0.5+IAA 0.1, 2-5: MS+6-BA 1.0+IAA 0.5, 2-6: MS+6-BA 2.0+IAA 1.0;(3)丛生芽繁殖培养基 3-1: MS, 3-2: MS+6-BA 0.1+IAA 0.05, 3-3: MS+6-BA 0.2+IAA 0.1, 3-4: MS+6-BA 0.3+IAA 0.1, 3-5: MS+6-BA 0.5+IAA 0.1, 3-6: MS+6-BA 1.0+IAA 0.2;(4)生根培养基 4-1: 1/2 MS, 4-2: 1/2 MS+IAA 0.2, 4-3: 1/2 MS+IAA 0.5, 4-4: 1/2 MS+IAA 0.2+ABT 0.1, 4-5: 1/2 MS+IAA 0.5+ABT 0.1, 4-6: 1/2 MS+IAA 0.2+ABT 0.2。

1.3 培养条件

培养温度(25±1)℃,每天光照16h,光强1200 lx。

1.4 培养方法

(1)愈伤组织的诱导 将无菌苗的叶片切成0.5cm见方的小片,分别接种于6组愈伤组织诱导培养基中培养,每组接种60片。(2)丛生芽的繁殖 取已分化的丛生芽切成0.5cm见方小块,分别接种于6组丛生芽繁殖培养基中培养,每组接种80块。(3)试管苗生根 试管苗生长到一定高度,将其切成带节小段,分别接种于6组生根培养基中培养,每组接种100株。

2 结果与分析

2.1 不同愈伤组织诱导培养基对桔梗愈伤组织形成的影响

在MS中添加不同激素的6培养基组合上培养25d后,供培养的各60片无菌叶片形成愈伤组织的情况见表1。

从表1可知,2,4-D诱导愈伤组织的效果较强,在MS+2,4-D 0.2 mg/L培养基中,100%的无菌叶片产生愈伤组织,团状愈伤组织生长良好,但其出现愈伤组织的时间较长,且细胞脱分化后无法再重新分化,因而不宜用于桔梗的快繁。由表1还可看出,较高的6-BA和IAA浓度有利于桔梗愈伤组织的形成,2-5及2-6组培养基中均是100%的无菌叶片产生愈伤组织,且愈伤组织出现时间短,生长旺盛,后期能很快分化出丛生芽,分化率均达100%。但2-6组有轻微的玻璃化现象,表明激素浓度偏高。可见2-5组即MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L为诱导桔梗愈伤组织最佳培养基组合。

2.2 不同培养基组合对桔梗丛生芽繁殖的影响

丛生芽在MS中添加不同激素的6培养基组合上培养25

收稿日期: 2001-03-01

作者简介: 舒 变(1977-),女,江西靖安人,硕士,主要从事药用植物生物技术研究。

表1 不同组合和浓度的诱导培养基对桔梗愈伤组织形成的影响
Table 1 The effects of inducing callus of *Platycodon grandiflorum* by using different combinations and concentrations of phytohormone

组合号 No. of comb.	植物激素 Phytohormone (mg/L)			出现愈伤 组织时间 Forming callus time (d)	愈伤组织数 Numbers of callus	分化率 Differentiation ratio (%)
	6-BA	IAA	2,4-D			
2-1	0.2	0	0	17	26	100
2-2	0	0	0.2	20	60	0
2-3	1.0	0	0	15	51	100
2-4	0.5	0.1	0	17	44	100
2-5	1.0	0.5	0	10	60	100
2-6	2.0	1.0	0	10	60	100

d后,供培养的各80块丛生芽的成苗情况见表2。

由表2可知,在6-BA和IAA浓度均较低的培养基组合3-2中,成苗率略高于MS。在6-BA和IAA浓度较高的培养基组合3-6中,成苗率低于MS,且出现严重的玻璃化现象,可见激素浓度较高即MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L的培养基组合不适于桔梗丛生芽繁殖培养。而在IAA 0.1 mg/L,6-BA 0.3 mg/L和0.5 mg/L的2培养基组合3-4和3-5中,成苗率均较高,其中3-4组即MS+0.3 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IAA是桔梗丛生芽繁殖培养的最佳培养基组合,不仅成苗率最高,而且苗粗壮,长势好。

表2 不同组合和浓度的植物激素培养基对桔梗丛生芽繁殖的影响
Table 2 The effects of crowd buds propagation of *Platycodon grandiflorum* by using different combinations and concentrations of phytohormone

组合号 No. of comb.	激素 Phytohormone (mg/L)		成苗数 Forming plantlets No.
	6-BA	IAA	
3-1	0	0	155
3-2	0.1	0.05	163
3-3	0.2	0.1	198
3-4	0.3	0.1	268
3-5	0.5	0.1	239
3-6	1.0	0.2	151

2.3 不同培养基组合对桔梗试管苗生根的影响

在1/2 MS中添加不同生长素的6培养基组合上培养20 d后,供培养的各100株试管苗的生根情况见表3。

由表3可看出,在没有生长素的1/2 MS培养基上,桔梗也能生根,但试管苗的根细长,较弱,苗成活率低。在1/2 MS中加入IAA后生根率并没有提高,当加入0.2 mg/L IAA时,不仅生根时间比4-1组长,生根数、平均生根数也低于4-1组,而且生出的根极细。加IAA的同时加入ABT时,不仅生根时间提前,生根率明显提高,而且生根数增多,根系粗壮,也利于栽移成活。其中4-5组即1/2 MS+0.5 mg/L IAA+0.1 mg/L ABT是桔梗的最佳生根培养基组合。

表3 不同组合和浓度的生根培养基对桔梗试管苗生根的影响
Table 3 The effects of inducing roots of *Platycodon grandiflorum* by using different combinations and concentrations of plant hormone

组合号 No. of comb.	植物激素 Phytohormone (mg/L)		生根时间 Rooting time (d)	生根数 Number of roots	平均根数 Mean Number	平均根长 Root length (mm)
	IAA	ABT				
4-1	0	0	8	63	3.8	37.1
4-2	0.2	0	10	16	1.7	17.6
4-3	0.5	0	8	70	4.9	30.3
4-4	0.2	0.1	6	76	7.9	18.0
4-5	0.5	0.1	6	95	9.1	18.3
4-6	0.2	0.2	5	84	7.8	10.2

3 讨论

实验结果表明,桔梗试管苗可以较容易地诱导愈伤组织,并且愈伤组织保持着较强的再分化能力,但使用2,4-D诱导的愈伤组织无法再分化,与牛德水^[4]的结论不同,其原因有待进一步研究。桔梗丛生芽繁殖效果较好,在适宜的培养基中,丛生芽生长极其旺盛,20 d左右便长满整个瓶子。但激素浓度偏高时,细胞分裂过快,植株叶绿素等成分的合成无法跟上,就会产生黄绿色略透明的玻璃化苗。桔梗试管苗能在不含激素的培养基中生根,说明桔梗试管苗的内源激素也可以自发生根,但根数少且细弱;加入ABT可以显著增加发根数及根的粗壮度,改善苗的性状,提高移栽成活率。但浓度过高,对生根反而有抑制作用。

本文是桔梗组织培养同源四倍体育种研究的一部分,应用组织培养技术进行多倍体育种国内已有报道,中国药科大学生物技术研究室在丹参^[5]和黄芩^[6]上获得了成功,而桔梗同源四倍体诱导和优良株系的筛选工作正在进行,本研究为桔梗组织培养多倍体育种和优良品系的克隆化快速繁殖奠定了基础。

参考文献:

- [1] 高文远,李志亮,肖培根. 桔梗现代研究进展[J]. 基层中药杂志,1996,10(2):48-50.
- [2] 刘占生. 提高桔梗产量的四个要素[J]. 基层中药杂志,1993,7(1):22.
- [3] 秦金山,郭龙. 桔梗叶片的离体培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯,1986,(1):44.
- [4] 牛德水. 桔梗下胚轴愈伤组织诱导及其植株再生[J]. 植物生理学通讯,1983,(5):42.
- [5] 高山林,徐德然,蔡朝晖,等. 丹参同源四倍体新物种的培育[J]. 中国药科大学学报,1992,23(4):224-228.
- [6] 陈柏君,高山林,卞云云. 黄芩组织培养同源四倍体的诱导[J]. 植物资源与环境学报,2000,9(1):9-11.

(责任编辑:宗世贤)