

崔瑞勤,陈科力,徐 雷. 基于组培快繁技术的白及种子萌发和幼苗形态观察[J]. 江苏农业科学,2015,43(2):238-240.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.02.077

# 基于组培快繁技术的白及种子萌发和幼苗形态观察

崔瑞勤,陈科力,徐 雷

(湖北中医药大学药学院,湖北武汉 430065)

**摘要:**为掌握白及实生苗培育过程中的生长发育特点,采用种子组培快繁技术育苗,并对该过程进行动态观察。在 1/2MS + 1.0 mg/L NAA 培养基中进行种子萌发及丛生芽诱导,7 d 后种子膨大成为淡黄色球状体,21 d 后种子突破种皮开始萌发,30 d 后开始形成原球茎,40 d 后原球茎进一步膨大、颜色逐渐转绿,部分诱导出愈伤组织,2 个月后原球茎基部出现绒毛状,愈伤组织分化大量丛生芽。丛生芽在 1/2MS + 1.0 mg/L NAA + 2.0 g/L 活性炭 + 1.0 mg/L GA<sub>3</sub> 培养基中进行生根诱导培养,约 40 d 即可培养出 3~5 条幼根,此后白及幼苗快速生长,即可进行炼苗移栽。

**关键词:**白及;种子;组培快繁技术;萌发;幼苗形态;观察

**中图分类号:**S567.23+9.04 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)02-0238-03

白及[*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f.]为兰科白及属多年生草本植物,是我国的野生资源,主要分布区域北起江苏、河南,南至台湾,东起浙江,西至西藏东南部。贵州的东部、西部、南部,广西的西北、西南山区是野生白及资源的集中分布地及药材产出中心<sup>[1]</sup>。当前,贵州、云南、广西、安徽、浙江、江西、湖北、四川等地均有白及人工栽培,以贵州、安徽、广西三地栽培量大质优<sup>[2]</sup>。白及干燥块茎可供药用,具收敛止血、消生肌的功效,用于咯血、吐血、外伤出血、疮疡肿毒、皮肤皲裂等症<sup>[3]</sup>。白及在我国具有悠久的药用历史,始载于《神农本草经》,距今已有 2 000 多年历史,是我国民间的传统中药,现代研究表明白及主要活性成分为联苕类、二萜菲,并含联菲类、其他含菲化合物以及甾类、萜类、酯类、醚类等化合物,具有止血、抗菌、抗肿瘤、促进伤口愈合、促进血管内皮细胞黏附生长以及保护黏膜等药理作用<sup>[4-5]</sup>。

白及不仅具有较高的药用价值,同时还具有较强的观赏性,也是我国现代医药工业和化妆品工业的重要原材料,由于白及应用广泛,近年来市场需求量不断增大,在繁殖受限、人工栽培量不足背景下,其野生资源遭到大量采挖,伴随供需

矛盾的不断凸显,白及的价格逐年攀升。目前我国白及资源十分短缺,大量地肆意采挖致使白及野生资源急剧减少,自然生境遭到严重破坏,由于其濒危稀缺,被国家列为重点保护的野生药用植物之一。

当前白及大规模人工栽培显得尤为迫切,尽管白及生长过程中能大量产生种子,但种子极细小、质轻且构造简单无胚乳,不具备自然萌发所需的足够养分,自然条件下与相适应的真菌共生,由真菌提供其营养才有可能发芽且萌发率较低,所以采用种子繁殖培育实生苗进行栽培较困难。目前,白及栽培主要采用块茎分离繁殖的方式,大量消耗经济部位用于繁殖,繁殖系数低,难以适应规模化种植的需要,不能满足市场需求<sup>[6]</sup>。同时,由于营养繁殖的后代源自母株的营养体的个体发育并非基于遗传意义上的重新开始,而是母体生长的延续,所以这种单一繁殖方式长期使用必然引起品种退化,导致产量下降、品质变劣、病虫害加重、适应性变差等诸多问题。所以,生产中适当采用种子繁殖尤为必要。

采用无菌播种方式进行白及种子组培快繁以获得实生苗,在培养基中配制白及种子萌发所需的全部养分,种子萌发率高,而且通常 1 枚白及蒴果中种子数量高达数十万,所以繁殖系数极大,而且以种子进行繁殖有利于引种驯化以及优良品种选育。所以,本试验采用组织培养技术培育白及实生苗,对白及种子的萌发、丛生芽的诱导、生根定植、移栽等环节展开跟踪观察,以期对白及大规模种子组培快繁育苗积累生产基础。

收稿日期:2014-04-24

基金项目:国家扶持中药材生产建设项目。

作者简介:崔瑞勤(1991—),女,硕士研究生,从事中药资源及其品质研究。E-mail:18995629089@163.com。

通信作者:徐 雷,博士研究生,讲师,从事中药资源及其品质研究。E-mail:wuhanxulei@163.com。

[11] Brown M, Kawaguchi S, Candy S, et al. Temperature effects on the growth and maturation of Antarctic krill (*Euphausia superba*) [J]. Deep - Sea Research Part II - Topical Studies in Oceanography, 2010, 57(7/8): 672-682.

[12] Aarset A V, Torres J J. Cold resistance and metabolic responses to salinity variations in the amphipod *Eusirus antarcticus* and the krill *Euphausia superba* [J]. Polar Biology, 1989, 9: 491-497.

[13] 李莹春, 朱国平, 孟 涛, 等. 人工条件下南极磷虾的温度耐受性试验观察[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(9): 204-206.

[14] 徐鹏翔, 李莹春, 朱国平, 等. 光照条件下南极磷虾行为初步研究[J]. 水产学报, 2012, 36(2): 300-305.

[15] King R, Nicol S, Cramp P, et al. Krill maintenance and experimentation at the Australian Antarctic Division [J]. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 2003, 36: 271-283.

[16] Kawaguchi S, King R, Meijers R, et al. An experimental aquarium for observing the schooling behaviour of Antarctic krill (*Euphausia superba*) [J]. Deep - Sea Research Part II - Topical Studies in Oceanography, 2010, 57(7/8): 683-692.

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料、仪器与试剂

1.1.1 材料 白及果实采自于湖北神农本草中药饮片有限公司中药材 GAP 示范园,经湖北中医药大学药学院陈科力教授鉴定为兰科植物白及的成熟蒴果。

1.1.2 仪器 HP1500GS-B 智能人工气候培养箱(湖北省武汉瑞华仪器设备有限公司);HVE-50 高压蒸汽灭菌器(日本株式会社平山制作所);BSC1360 II A2 生物安全柜(北京东联哈尔仪器制造有限公司)

1.1.3 试剂 琼脂粉(BR,国药集团化学试剂有限公司);MS 培养基(BR,美国 BIOSHARP 公司);NaClO 溶液(AR,西陇化工股份有限公司);赤霉素(上海沪江生化有限公司);1-萘乙酸(天津博迪化工股份有限公司);蔗糖(AR,天津市北方天医化学试剂厂)。

### 1.2 方法

1.2.1 果实预处理 将白及未开裂成熟蒴果用流水洗净,在超净台上分别用 75% 乙醇溶液表面消毒 1 min,8% NaClO 溶液消毒 10 min,再用无菌水反复冲洗 4~6 次,然后纵向剖开蒴果,用镊子夹取蒴果外壳,将粉末状的种子轻轻抖落到培养基表面<sup>[7]</sup>。

1.2.2 培养基制备 种子萌发培养基:1/2 MS + 1.0 mg/L NAA;生根诱导培养基:1/2 MS + 1.0 mg/L NAA + 2.0g/L 活性炭 + 1.0 mg/L GA<sub>3</sub>,培养基配制后于 121 ℃ 条件下高压蒸汽灭菌 20 min,备用。

1.2.3 培养条件 培养温度为 (25 ± 1) ℃,光照度 2 000~2 500 lx,光-暗周期 12 h-12 h。

1.2.4 无菌播种 在无菌条件下将白及蒴果纵向剖开,用镊子夹取蒴果外壳,将种子轻轻抖落到萌发培养基上,由于每枚蒴果中所含种子数量高达数十万,因此尽量控制培养基表面种子密度,使其均匀散布(图 1)。

## 2 结果与分析

### 2.1 丛生芽的诱导

白及种子播种于培养基表面后开始吸水膨胀,7 d 后种子明显变大,颜色变浅,成为淡黄色的球状体或纺锤体(图 2-a);接种 21 d 后种子突破种皮开始萌发(图 2-b);30 d 后开始形成淡黄色原球茎,呈球状(图 2-c);40 d 后原球茎进一步膨大颜色逐渐转绿,少数原球茎顶部出现幼叶,有的原球茎诱导出愈伤组织(图 2-d);2 个月后原球茎基部出现绒毛状,愈伤组织分化出芽(图 2-e),长出 1~2 cm 的绿叶,获得大量丛生芽(图 2-f),少数形成小的幼苗。在白及种子萌发和生长过程中发现,白及种胚通过 2 种方式形成幼苗,1 种方式是种胚萌发后形成淡黄色的球状体,进一步生长转变为直径为几毫米大小的原球茎,原球茎分化产生芽,最后发育形成幼苗(图 2-g);另 1 种方式是淡黄色的球状体伸长成根状茎后发育成小苗(图 2-h)。

### 2.2 生根培养

将长至 2~3 cm 的丛生芽转入生根诱导培养基中,由于加入了诱导根分化的 NAA,约 40 d 即可培养出 3~5 条侧根,基部都有白色细密的丛生毛出现(图 3)。在生根的同时幼苗快速生长,株高明显增加,叶片增多且叶色加深,培养基质被

快速消耗。

### 2.3 组培苗的移栽

白及苗移栽前要进行炼苗,在光照培养箱中打开培养盒盖,盖上封瓶膜炼苗 2 d,移至室温下继续炼苗 5 d,取出小苗,洗净根部培养基,移栽至栽培基质中(图 4-a)。栽培基质按  $m_{\text{腐殖土}}:m_{\text{蛭石}}=1:1$  进行配制,使用前消毒,移栽结束后注意保水保湿。白及苗冬天地地上部分枯萎,第 2 年春天在原球茎基础上长出新芽(图 4-b)。

## 3 结论与讨论

利用种子组培快繁技术,通过蒴果消毒、无菌播种、丛生芽诱导、生根诱导和炼苗移栽等环节在实验室条件下能获得大量白及实生苗,整个过程均在各环境因子可控条件下完成,但要组培实生苗用于大田生产,尚须炼苗移栽培育成种苗后定植于大田,通过试验虽然成功获得了白及种苗,但由于受本地气候不适宜白及生长的限制,并没有进行大田栽培实践,而且目前也很少有用白及组织培养技术迅速推广应用的相关报道(仅孟彪等通过诱导原块茎获得组培苗而非实生苗进行生产试验,结果无块茎的白及组培苗不能成活,且组培苗质量优劣与其块茎大小密切相关,块茎越大,成活率越高<sup>[8]</sup>),因此,组培实生苗的大田定植是制约其推广的关键环节。

试验中发现白及种胚可通过原球茎和根茎 2 种途径形成幼苗,2 种幼苗在后期的生产性能以及块茎品质均有待深入研究。试验中从无菌播种到大量产生丛生芽时间较长,需近 3 个月时间,由于培养基主要提供白及种子萌发所需养分,不同植物激素及其浓度促进生长发育进程,因此培养基中营养物质和激素的含量及其种类对种胚的无菌萌发和丛生芽的分化具有非常大的影响,是组培快繁技术的关键。培养基物理状态对白及生长发育也有影响,采用液体培养基或半固体培养基可以缩短萌发时间,但褐化现象较固体培养基严重,古碧珠等采用液体培养基诱导同科的兰花种子时也有类似现象<sup>[9]</sup>。尽管白及种子萌芽和生长发育是复杂的生理过程,与其遗传特性有关,但与所处营养条件、外源激素、生态因子等的诱导密切相关。笔者观察了在一定条件下白及的生长发育过程,而关于其生长发育进程的植物激素调控和生长条件掌控等方面仍需进一步深入研究。

组培实生苗技术的突破能有效解决白及的资源问题,但针对当前白及人工栽培中存在的生产技术落后、管理粗放、育种滞后、种质创新不足、资源破坏严重等问题,应加强白及优良品种选育,并系统开展规范化种植及野生资源抚育更新研究,从而推动其生产可持续健康发展,更好满足市场需求。

### 参考文献:

- [1] 周涛,江维克,李玲,等. 贵州野生白及资源调查和市场利用评价[J]. 贵阳中医学院学报,2010,32(6):28-30.
- [2] 张永为,蒋福升,王寅,等. 白及产业现状及可持续发展的探讨[J]. 中华中医药学刊,2012,30(10):2264-2267.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:95.
- [4] 任华忠,何毓敏,杨丽. 白及化学成分其药理活性研究进展[J]. 亚太传统医药,2009,5(2):134-140.



图1 白及种子无菌播种情况

[5]赵艳霞,邓雁如,张晓静,等. 白及属药用植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2013,25(8):1137-1145.

[6]管常东,叶静,郑晓君,等. 白芨组织快繁育苗技术研究进展[J]. 云南大学学报:自然科学版,2010,32(S1):416-421.

[7]张燕,黎斌,李思锋. 不同培养基上白芨的种子萌发与幼苗形态发生[J]. 西北植物学报,2009,29(8):1584-1589.

[8]孟彪,苗桂林,许东东,等. 白芨组培苗移栽技术研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2014,16(2):56-58.

[9]古碧珠,刘柏涛,何嘉碧,等. 兰花种子的原球茎诱导及其生长分化研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(31):13511-13513.

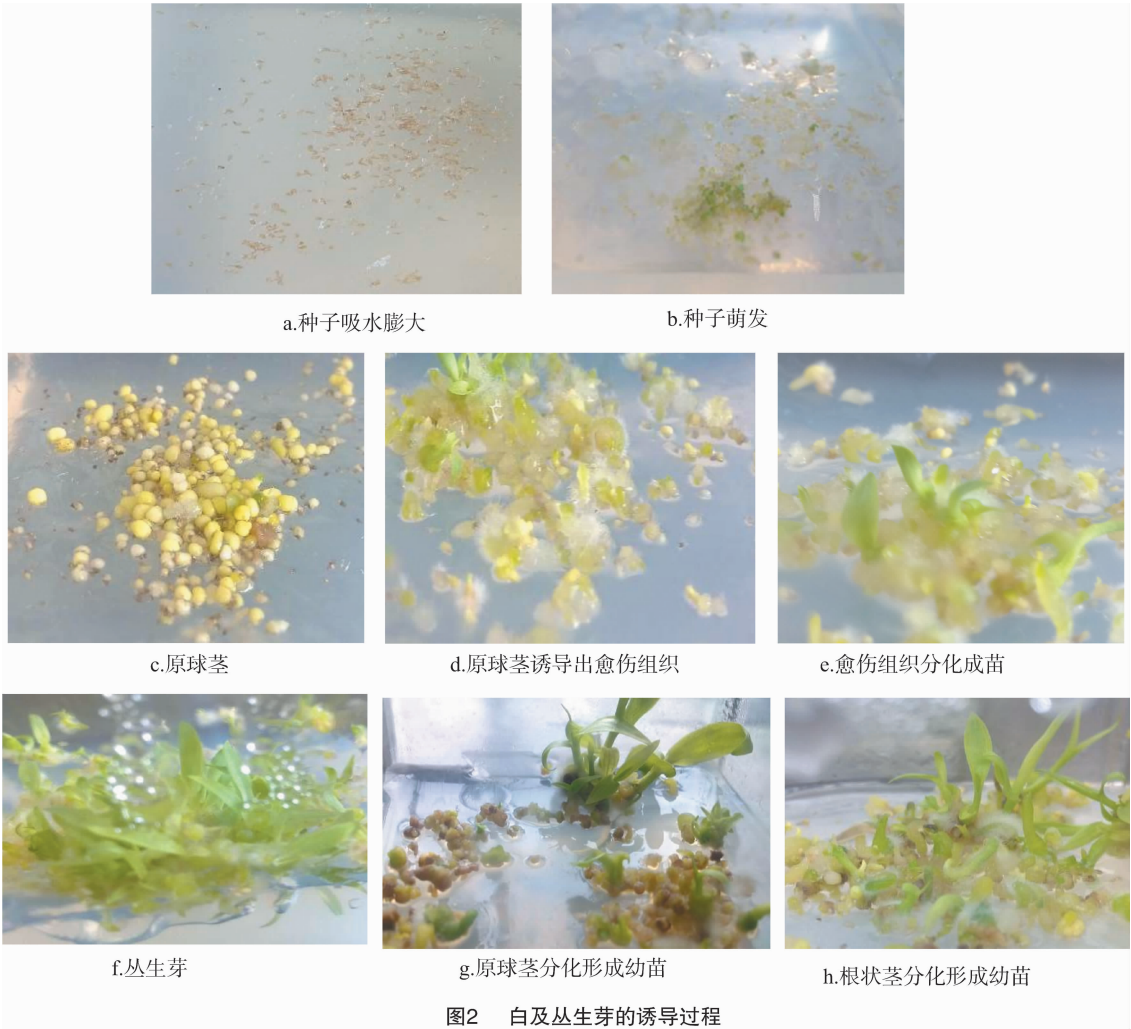


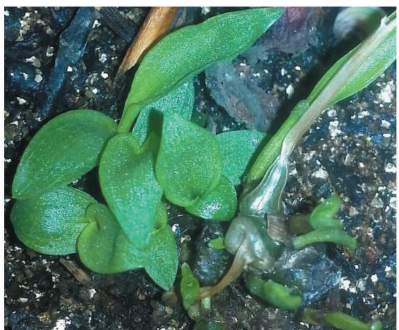
图2 白及丛生芽的诱导过程



图3 白及组培苗根茎基部毛状物



a.移栽后成活的小苗



b.新芽成苗

图4 白及组培苗移栽后的情况