

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation Technology of Medicinal Plant *Tussilago farfara*

Xiaoling Li¹, Rong Fan², Menghong Hu^{3*}

¹Gansu Vocational and Technical College of Forestry, Tianshui Gansu

²Gansu Xiaolongshan Forestry Experimental Bureau, Tianshui Gansu

³Gansu Province Xiaolongshan Forestry Experimental Bureau Forestry Scientific Research, Gansu Province Key Laboratory of Secondary Forest Cultivation, Tianshui Gansu
Email: 973049635@qq.com, ^{*}hmh831125@163.com

Received: Jul. 1st, 2020; accepted: Jul. 17th, 2020; published: Jul. 24th, 2020

Abstract

To provide technical support for the industrialization, scale and standardization planting of *Tussilago farfara*, the young stem segments with axillary buds were used as explants, the effects of three substrates (MS, White and B₅), different hormones and concentrations on callus induction, adventitious bud differentiation, adventitious bud proliferation, rooting and growth of *Tussilago farfara* were studied, MS + 2, 4-D 1.0 mg·L⁻¹ + 6-BA 3.0 mg·L⁻¹ was the most suitable medium for Callus induction from the young shoot segment of *Tussilago farfara*. The induction rate was 90.0%. The best medium for adventitious bud differentiation was MS + NAA 2.0 mg·L⁻¹ + 6-BA 3.0 mg·L⁻¹, the differentiation rate reached 96.67%. White was the best medium for the growth and proliferation of adventitious buds. The ideal combination of White + 0.2 mg·L⁻¹ IBA + 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA, White + 0.1 mg·L⁻¹ IBA + 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA combination reached 4.86 cm in length, the multiplication multiple of bud was 6.5, 1/2MS + IBA 0.1 mg·L⁻¹ + NAA 1.0 mg·L⁻¹ combination was the most suitable upgrading medium, the rooting rate was 100.0%, the average rooting number is 5.5, the average root length is 3.60 cm, the root system is vigorous, the perlite:vermiculite:Humus = 2:2:1 is the best bottle matrix proportion of seedling transplanting, the transplanting survival rate is high, the survival rate is 98.8%. The rapid propagation of Calli from axillary buds of Coltsfoot can meet the needs of industrial and large-scale production.

Keywords

Tussilago farfara, Young Stem Segments, Stroma, Hormones, Concentrations

药用植物款冬组培快繁技术研究

李晓玲¹, 樊 嵘², 胡勐鸿^{3*}

*通讯作者: 胡勐鸿(1965-), 高级工程师, 主要从事云杉杂交制种和良种基地管理, 作者简介: 李晓玲(1970-), 女, 副教授。主要从事组织培养。

¹甘肃林业职业技术学院, 甘肃 天水

²甘肃省小陇山林业实验局, 甘肃 天水

³甘肃省小陇山林业实验局林业科学研究, 甘肃省次生林培育重点实验室, 甘肃 天水
Email: 973049635@qq.com, hmh831125@163.com

收稿日期: 2020年7月1日; 录用日期: 2020年7月17日; 发布日期: 2020年7月24日

摘要

为款冬(*Tussilago farfara*)产业化、规模化、标准化种植提供技术支撑, 以款冬带腋芽的幼嫩茎段为外植体, 采用3种基质(MS、White和B5)、不同激素和浓度对款冬愈伤组织诱导、不定芽分化、不定芽增殖、生根、生长影响的研究, 结果显示: MS + 2, 4-D 1.0 mg·L⁻¹ + 6-BA 3.0 mg·L⁻¹是款冬腋芽的幼嫩茎段愈伤组织最适宜的诱导基质, 诱导率90.00%, 不定芽分化最好的基质是: MS + NAA 2.0 mg·L⁻¹ + 6-BA 3.0 mg·L⁻¹, 分化率达到96.67%, 对不定芽生长和增殖效果最好的基质种类是White, 其基质、激素和激素浓度的理想组合为White + 0.2 mg·L⁻¹ IBA + 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA, White + 0.1 mg·L⁻¹ IBA + 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA; 芽长达到4.86 cm, 芽的增殖倍数是6.50。1/2MS + IBA 0.1 mg·L⁻¹ + NAA 1.0 mg·L⁻¹组合是最适宜的生根基质, 生根率为100.00%, 平均生根数5.50条·株⁻¹, 根系平均长3.60 cm, 根系生长旺盛, 珍珠岩:蛭石:腐殖土 = 2:2:1是瓶苗移栽最好的基质配比, 成活率达到96.00%以上。款冬腋芽的幼嫩茎段愈伤组织生根快速繁殖技术能够满足工厂化、规模化生产的需求。

关键词

款冬, 幼嫩茎段, 基质, 激素, 浓度

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

款冬(*Tussilago farfara*)属于菊科款冬属植物。其药用部分为款冬的干燥花蕾, 其性温、味辛、微苦。归肺经, 具有润肺下气、化痰止咳的作用[1]。外感内伤、寒热虚实的咳嗽, 皆可应用[2] [3]。特别是肺虚久咳不止, 最为适用。现代药理研究证明, 款冬花具有收缩血管、抗血小板活化因子、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等作用。其主要化学成分为黄酮、萜类、酚类、生物碱类及挥发油类[2] [3] [4] [5]。主产河南、甘肃、陕西、山西等省[6], 以甘肃生产的质量最好。产量约占全国的 30%以上, 属十大陇药之一[7] [8]。由于款冬适应性强, 对土壤要求不严, 易于栽培、好管理、见效快, 经济价值比种植农作物收益高, 随着野生资源的日趋匮乏和 market 价格的逐年走强[9], 种植面积越来越大, 是致富的好项目之一[8]。但是款冬成熟种子很少, 无法大量用种子繁殖, 根状茎繁殖系数低、工作强度大、栽培年限长, 难以满足产业化、规模化、标准化生产的要求。植物的无性系苗具有生长特性、质量、标准、规格等一致的特性, 便于规模化、标准化和工厂化生产[10] [11] [12]。组织培养是快速无性繁殖并能满足产业化、工厂化、标准化生产最有效的方法, 在菊科植物中已有较多的研究[13]。目前款冬的研究在栽培技术[14]-[22]、病虫害防治技术[23] [24]、采收加工[25] [26]、质量标准[27] [28]、化学成分[29] [30]、药理、毒性等[5] [31] [32]方面有广泛的研究; 关于款冬组织培养和快繁技术也有研究, 但梁文裕等[33]和王贵军等[34]只选用 MS 一

种基质, 王杰等[35]和任继文等[36]利用款冬幼叶作为外植体, 进行组织培养与再生体系构建, 但是采用幼叶作为外植体受时间(季节)限制, 而且叶柄及背部覆细小绒毛, 消毒难度大。因此在前人研究的基础上, 以带腋芽的款冬幼嫩茎段为外植体, 选用3种基质(MS、White、B₅)和不同激素浓度对款冬幼嫩茎段愈伤组织诱导快速繁殖影响的研究, 筛选出组织培养快速繁殖适宜的基质、激素种类和浓度, 期望为款冬产业化、规模化、工厂化栽培提供技术支撑。

2. 试验材料与方法

2.1. 材料来源与处理

试验材料为小陇山林区天然分布的款冬。4月初, 将采集款冬当年生幼嫩茎段, 用自来水将其表面灰尘泥土冲洗干净, 将茎段剪成4~5 cm小段, 放入消毒瓶中, 在超净工作台上, 加入2滴聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯(吐温80), 以加速消毒剂的浸润效果。75%乙醇浸泡30 s, 再转入饱和漂白粉上清液浸泡900 s, 浸泡过程中要不时晃动, 最后用无菌水冲3遍, 每次1~2 min, 吸干水分后, 在超净工作台上, 将已消毒的款冬剪成长1.0~2.0 cm含有一个节的小茎段, 按照试验设计, 使用无菌镊子接种于灭好菌的培养基中, 置培养室培养。

2.2. 试验设计与培养条件

2.2.1. 款冬愈伤组织诱导培养基试验

愈伤组织诱导培养基设计了3种基质(MS、White、B₅) + 2, 4-D质量浓度2个梯度(0.5、1.0 mg·L⁻¹) + 6-BA质量浓度2个梯度(2.0、3.0 mg·L⁻¹)的6个处理(组合), 每个处理接种30个小块(试验设计见表1, 试验1)。

Table 1. Experimental design of tissue culture and rapid propagation of *Tussilago farfara*

表 1. 款冬组培快繁试验设计表

| 处理 | 基质 | 试验 1 | | 试验 2 | | 试验 3 | | 基质 | 试验 4 | |
|----|----------------|-------|------|------|------|------|------|-------------------|------|-----|
| | | 2,4-D | 6-BA | NAA | 6-BA | IBA | 6-BA | | IBA | NAA |
| 1 | MS | 0.5 | 2.0 | 1.0 | 2.0 | 0.1 | 2.0 | 1/2MS | 0.1 | 1.0 |
| 2 | MS | 1.0 | 3.0 | 2.0 | 3.0 | 0.2 | 3.0 | 1/2MS | 0.2 | 2.0 |
| 3 | White | 0.5 | 2.0 | 1.0 | 2.0 | 0.1 | 2.0 | 1/2White | 0.1 | 1.0 |
| 4 | White | 1.0 | 3.0 | 2.0 | 3.0 | 0.2 | 3.0 | 1/2White | 0.2 | 2.0 |
| 5 | B ₅ | 0.5 | 2.0 | 1.0 | 2.0 | 0.1 | 2.0 | 1/2B ₅ | 0.1 | 1.0 |
| 6 | B ₅ | 1.0 | 3.0 | 2.0 | 3.0 | 0.2 | 3.0 | 1/2B ₅ | 0.2 | 2.0 |

注: 表中不同激素浓度单位为 mg·L⁻¹。

2.2.2. 款冬不定芽分化培养基的试验

将诱导获得的愈伤组织剪切至分化培养基, 每个培养基中移入3个愈伤块。不定芽分化培养基设计了3种基质、激素(NAA)2个浓度梯度(1.0、2.0 mg·L⁻¹)、细胞分裂素6-BA(2.0、3.0 mg·L⁻¹)2个浓度梯度的6个处理(试验设计见表1, 试验2)。

2.2.3. 不同基本培养基对款冬组培苗增殖的试验

设计了3种基质(MS、White、B₅)和(IBA)2个(0.1、0.2) mg·L⁻¹浓度梯度的6个处理(见表1, 试验3), 每个处理都添加2.0 mg·L⁻¹的细胞分裂素6-BA。选取分化苗中生长健壮的单芽切成1.0 cm左右长的茎段,

每个处理接种 30 个茎段。

2.2.4. 款冬组培苗生根培养基试验

将增殖获得的丛生芽切成 1.0 cm 左右高的茎段, 接种于生根培养基, 生根培养基设计了基质(1/2MS、1/2White 和 1/2B₅) + IBA (0.1、0.2) mg·L⁻¹ + 6-BA (1.0、2.0) mg·L⁻¹ 的 6 个处理(见表 1, 试验 4), 每个处理接种 30 个茎段。

2.2.5. 炼苗与移栽驯化

炼苗时将生根瓶苗放入温室中, 瓶盖打开 1/2 炼苗 2 d 后, 移开瓶盖或全部打开炼苗 4, 在炼苗期间不断喷水。把炼好的健壮苗从培养基取出, 洗净培养基, 用 0.1%多菌灵溶液浸泡根部 3 min, 清水洗去药液, 移栽在装有 1%的高锰酸钾消毒基质的苗钵上, 基质比例为珍珠岩:蛭石:腐殖土 = 2:2:1, 浇透水后放置在通风阴凉的温室大棚中, 定期施肥浇水。

2.2.6. 培养条件

以上培养基 pH 值均为 5.6~5.8, 琼脂 6 g/L, 蔗糖 30 g/L, 在 0.1 MPa (121℃)灭菌 22 min, 接种后置于 20℃~23℃培养, 光照强度为 2000 lx, 每天光照时间为 12 h。

2.2.7. 数据获取与处理

30 d 后统计愈伤组织诱导结果、芽分化数、生根状况, 计算诱导率、芽分化率、生根率和芽增殖倍数, 并采用电子游标卡尺测定芽长度、根系长度, 精度 0.01 cm。移栽驯化 40 d 后统计成活株数, 计算移栽成活率。

诱导率、分化率、生根率分别是出愈数、芽分化数、生根个数与接种数的比率。平均芽长、平均生根数、平均根长分别是诱导萌发芽数的总长、测定苗生根数量之和、生根数量长度之和与诱导萌发芽数量、测定苗数量、生根苗数量的比。移栽成活率为移栽株数与成活株数的比率。

数据采用 spss16.0 进行方差分析(GLM)和多重比较(LSD), 方差分析时百分率座反正弦转换。

3. 结果与分析

3.1. 不同培养基与植物生长调节剂组合对愈伤组织诱导的影响

2 周后观察, 各处理愈伤组织块明显增大, 但不均一。处理 1、处理 2 愈伤组织大、致密、呈黄绿色, 处理 3 和处理 4 愈伤组织块较大、较致密、淡黄绿色, 处理 5 和处理 6 愈伤组织小、疏松、呈乳黄色。其中处理 1 和处理 2 的平均诱导率最高, 为 76.70%, 比处理 3 和处理 4、处理 5 和处理 6 的平均诱导率高; 4 周后处理 1 和处理 2 培养基愈伤组织生长普遍良好, 小苗健壮, 叶片浓绿; 由此可见不同基质间对款冬诱导率有差别。而且就处理 1 和处理 2 间诱导率也不同, 处理 2 的诱导率比处理 1 高 42.9%, 由此可见影响款冬诱导发芽的因素除基质外还与外源激素种类、浓度有关。处理 2 表面最先出现小疣突, 款冬愈伤组织出愈程度大, 愈伤化程度高, 其颜色翠绿, 为团簇状(见图 1(a)), 是较为理想的愈伤组织诱导培养组合, 诱导率为 90.0% (表 2)。

3.2. 不同培养基与植物生长调节剂组合对款冬不定芽分化的影响

在不考虑交互作用的情况下, 方差分析显示 3 种基质对款冬不定芽分化的影响差异不显著($F_{0.05} = 1.43$, $\rho = 0.41$)。3 种基质对款冬不定芽分化的影响虽然差异不显著, 但 3 种基质分化率的大小依次为 MS (86.70 ± 14.14)%、White (84.95 ± 2.33)%、B₅ (71.95 ± 2.33)%, NAA 2.0 mg·L⁻¹ 的分化率 > NAA 1.0 mg·L⁻¹, 6-BA 3.0 mg·L⁻¹ > 6-BA 2.0 mg·L⁻¹, NAA 与 6-BA 高浓度与低浓度平均分化率相同, 为(84.43 ± 13.48)%和(77.77

± 5.08)%。NAA 和 6-BA 浓度对不定芽分化率的影响趋势一致，都是较高浓度比低浓度有利于不定芽的分化。而 NAA 1.0 mg·L⁻¹ + 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ 不定芽分化率平均为(77.77 ± 5.08)%，NAA 2.0 mg·L⁻¹ + 6-BA 3.0 mg·L⁻¹ 的分化率是(84.43 ± 13.48)。分析可知 MS + NAA 2.0 mg·L⁻¹ + 6-BA 3.0 mg·L⁻¹ 组合不定芽分化率最高，达到 96.67% (见图 1(b))。

Table 2. Effects of different basic medium and plant growth regulator combinations on callus induction, adventitious bud differentiation and proliferation of *Tussilago farfara*

表 2. 不同基本培养基与植物生长调节剂组合对款冬愈伤组织诱导、不定芽分化、增殖的影响

| 处理 | 试验 1 | 试验 2 | 试验 3 | | |
|----|---------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------|
| | 诱导率 (Induction rate) % | 分化率 (Differentiation rate) % | 平均芽长 (Average bud length) cm | 芽增殖倍数 (Bud Multiplication) | 生长状况(Growth Condition) |
| 1 | 63.30 | 76.70 | 4.19 | 2.30 | 长势旺盛，嫩绿色，生长慢 |
| 2 | 90.00 | 96.70 | 4.36 | 2.70 | 长势较旺盛，淡嫩绿色，生长较慢 |
| 3 | 50.00 | 83.30 | 4.86 | 6.50 | 长势较旺盛，浅绿色，生长较快，不定芽壮 |
| 4 | 43.30 | 86.60 | 4.53 | 5.90 | 长势较旺盛，嫩绿色，生长较快 |
| 5 | 53.30 | 73.30 | 2.04 | 1.80 | 长势一般浅绿色，不定芽较弱 |
| 6 | 40.00 | 70.00 | 2.39 | 1.20 | 生长慢，浅绿色，不定芽较弱 |

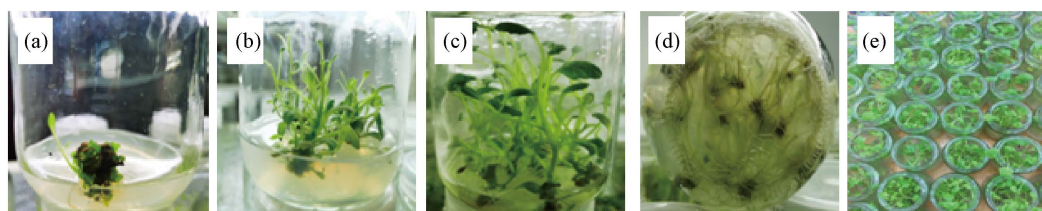


Figure 1. Tissue culture, rapid propagation and regeneration of *Tussilago farfara*. (a) is the callus induced from the stem segment, (b) is the differentiation of adventitious buds, (c) is the subculture, (d) is the rooting culture and (e) is the refined seedling of *Tussilago farfara*

图 1. 款冬的组培快繁与再生。(a)为款冬茎段诱导出的愈伤组织，(b)为款冬不定芽的分化，(c)为款冬继代培养，(d)为款冬生根培养，(e)为款冬炼苗

3.3. 不同基本培养基对款冬组培苗增殖的影响

方差分析结果，基质对款冬不定芽生长的影响差异达显著水平($F_{0.05} = 56.77, \rho = 0.02$)，多重比较结果，基质 B₅ 的平均芽长最低，为(2.22 ± 0.25) cm，且与 MS 和 White 差异显著，基质 MS 与 White 间差异不显著，其中 White 基质的平均芽最长为(4.70 ± 0.23) cm，其次就是 MS 基质，为(4.28 ± 0.12) cm。IBA 浓度对不定芽生长的影响差异不显著，IBA 0.1 mg·L⁻¹ 和 0.2 mg·L⁻¹ 的平均芽长分别为(3.70 ± 1.47) cm 和 (3.76 ± 1.19) cm，0.2 mg·L⁻¹ IBA 的平均芽长比 1.0 mg·L⁻¹ 略高 1.7%。

对款冬不定芽增殖倍数的影响 3 种基质间具有显著差异($F_{0.05} = 73.56, \rho = 0.01$)，IBA 浓度的影响差异不显著。多重比较显示 White 款冬芽的增殖倍数最高，为(6.20 ± 0.42)，且与 MS 和 B₅ 差异显著，MS 和 B₅ 间差异不显著，款冬不定芽的增殖倍数分别为(2.50 ± 0.28)和(1.50 ± 0.42)。本实验中 White + 0.1 mg·L⁻¹ IBA 组合(添加 2.0 mg·L⁻¹ 的 6-BA)款冬不定芽的生长和增殖倍数是所有组合中最高的，分别达到 4.86 cm 和 6.50 倍(图 1(c))。综合来看款冬丛生芽分化和增殖的理想基质为 White，IBA 浓度宜选用 0.2 mg·L⁻¹，理想组合为 White + 0.2 mg·L⁻¹ IBA (添加 2.0 mg·L⁻¹ 的 6-BA) (本实验没有涉及该组合)。

3.4. 不同基本培养基和生长素组合对款冬生根的影响

1/2MS、1/2White 和 1/2B₅ 等 3 种生根基本培养基对款冬生根率的影响差异达显著水平($F_{0.05} = 170.23$, $\rho = 0.01$)。多重比较显示, 1/2B₅ 的生根率最低, 为(89.65 ± 2.19)%, 且与 1/2MS 和 1/2White 差异达显著水平, 1/2MS 和 1/2White 间生根率相同, 均为(100.00 ± 0.00)%。激素浓度的影响无差异。

3 种培养基对款冬生根数、根系长度的影响差异不显著。虽然差异不显著, 但生根数从大到小的顺序为 1/2MS (5.20 ± 0.42)条·株⁻¹、1/2White (4.07 ± 0.43)条·株⁻¹、1/2B₅ (3.34 ± 0.42)条·株⁻¹, 平均根长的大小顺序是 1/2MS (3.17 ± 0.61) cm、1/2B₅ (1.62 ± 0.57) cm、1/2White (1.57 ± 0.57) cm。IBA 0.1 mg·L⁻¹ 和 NAA 1.0 mg·L⁻¹ 与 IBA 0.2 mg·L⁻¹ 和 NAA 2.0 mg·L⁻¹ 对生根数的影响一致, 其值分别是(4.30 ± 1.23)条·株⁻¹ 与(4.10 ± 0.70)条·株⁻¹, 对平均根长的影响效果与生根数的影响一样, 影响的大小为(2.26 ± 1.22) cm 与(1.97 ± 0.79) cm。

根据生根率及根的生长情况, 1/2MS + IBA 0.1 mg·L⁻¹ + NAA 1.0 mg·L⁻¹ 组合对款冬生根、根系生长较适合, 生根率达到 100.00%, 平均生根数 5.50 条·株⁻¹, 根系平均长 3.60 cm (见表 3), 是所有组合中最好的, 而且生长旺盛, 根系粗壮发达(见图 1(d))。

Table 3. Effects of different basic media and Auxin combinations on the rooting of *Tussilago farfara*

表 3. 不同基本培养基和生长素组合对款冬生根的影响

| 实验组合 | 生根率(%) Rooting rate | 平均生根数(条) Average rooting number | 平均根长(cm) Average root length | 生长状况 Growth Condition |
|------|------------------------|------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| 1 | 100 | 5.5 | 3.60 | 长势旺盛, 根系粗壮发达 |
| 2 | 100 | 4.9 | 2.74 | 长势较旺盛, 根较粗壮 |
| 3 | 100 | 4.37 | 1.97 | 长势较旺盛, 根系较粗壮 |
| 4 | 100 | 3.76 | 1.16 | 长势较旺盛, 根系较细弱 |
| 5 | 88.1 | 3.04 | 1.22 | 生长缓慢, 根系细弱不发达 |
| 6 | 91.2 | 3.64 | 2.02 | 长势一般, 根系细弱发达 |

3.5. 移栽驯化

款冬生根瓶苗移栽驯化 40 d 后, 统计其成活率(采用随机抽样调查法, 调查了 165 株, 成活 160 株), 平均成活率可达 96.00%以上, 且小苗的生长状态良好(见图 1(e))。能满足款冬工厂化和规模化生产需要, 是新的栽培途径。

4. 结果与讨论

款冬是我国北方重要的药用植物, 主要分布在黄土高原地区, 以产甘肃的质量最好, 款冬适应性强, 栽培管理容易、经济价值高[7] [8]。市场需求不断增加, 价格逐年上涨[9]。研究表明款冬组培株单株生长、花粒数、花重等性状优于野生株和常规栽植株, 有效成分及含量与野生款冬基本一致[36]。随着野生资源的日渐枯竭, 大量人工栽培不仅满足市场的需求, 而且有效保护野生款冬资源。组织培养和快繁技术是款冬工厂化、规模化生产的有效支撑, 影响款冬组织培养和快繁的因素比较多, 除了与基质种类、激素类型和浓度有关外[36], 还与款冬产地、生长环境、遗传因素(品种)等有关[35], 即使同一生长环境下的同一品种, 因为不同器官愈伤组织诱导、分化、生根、成苗也有差别[33]。移栽驯化过程中由于不同基质种类的稳定性、吸水性、疏松透气性等理化性质不同, 所以不同基质种类及其配比直接影响款冬组

育苗移栽驯化成活率、生长和质量[37][38]。

王贵军等[34]研究认为款冬叶愈伤组织诱导最好的基质是 MS + 6-BA 1.0 mg·L⁻¹ + NAA 0.1 mg·L⁻¹, 王杰等[35]在 MS + 6-BA 1.0 mg·L⁻¹ 中添加 NAA 0.2 mg·L⁻¹ 对款冬叶愈伤组织的诱导效果最理想, 而任继文等[36]则认为 MS + 6-BA 3.0 mg·L⁻¹ + 2,4-D 2.0 mg·L⁻¹ 对款冬叶愈伤组织诱导效果最好, 诱导率达到 96.2%。可能是由于研究材料生长环境、品种等不同的缘故。本研究认为 MS、White、B₅ 等 3 种基质对款冬带腋芽的幼嫩茎段都有明显促进愈伤组织诱导的作用, 以 MS 效果最好, 最佳组合为: MS+2, 4-D 1.0 mg·L⁻¹ + 6-BA 3.0 mg·L⁻¹, 诱导率达到 90.00%。不定芽的分化和增殖是组织培养快速繁殖的关键, 款冬不定芽分化最好的基质是 MS + NAA 2.0 mg·L⁻¹ + 6-BA 3.0 mg·L⁻¹, 分化率达到 96.67%。对不定芽生长和增殖 3 种基质间具有显著差异, MS 与 White 效果最好, White + 0.2 mg·L⁻¹ IBA + 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA 是款冬不定芽生长和增殖最好的基质, White + 0.1 mg·L⁻¹ IBA + 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA 的生长和增殖倍数为 4.86 cm 和 6.50 倍。促进不定芽生根最好的基质是 1/2MS + IBA 0.1 mg·L⁻¹ + NAA 1.0 mg·L⁻¹, 生根率为 100.00%, 本研究结论与任继文等[36]对款冬叶的研究叶为外植体的结论基本相近。对瓶苗移栽成活和生长的影响, 不同基质种类和配比水平不同; 王杰等[35]以珠岩: 蛭石: 泥炭土 = 3:1:6 对移栽苗的生长和成活最有利, 在河沙: 有机肥 = 3:1 的基质中瓶苗移栽成活率达到 90.0% 以上[36], 款冬带腋芽的幼嫩茎段瓶苗在珍珠岩: 蛭石: 腐殖土 = 2:2:1 的基质上, 成活率达到 98.80%。款冬组织培养和快繁技术能极大地缩短了栽培周期, 移栽成活率高, 完全能满足工厂化、规模化栽植的需要, 利用组织培养和快速繁殖技术不仅极大地满足市场对款冬日益增长的需求, 而且有效保护款冬野生资源, 是中药资源开发利用的新途径。今后款冬快速繁殖、脱毒技术、新品种选育等将是研究的重点。

基金项目

天水市科技支撑计划项目(2019-NCK-3692)。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 第 1 部. 北京: 化学工业出版社, 2015: 332.
- [2] 吴琪珍, 张朝凤, 等. 款冬花化学成分和药理活性研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2015, 34(2): 33-36.
- [3] 陈雪园, 张如松, 等. 款冬花化学成分及药理毒理研究进展[J]. 亚太传统医药, 2012, 8(1): 173-174.
- [4] 王金凤, 杨苏蓓. 款冬花研究进展[J]. 中国实用医药, 2009, 4(32): 221-224.
- [5] 侯阿娇, 郭新月, 满文静, 等. 款冬花的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2019, 36(1): 107-112.
- [6] 刘毅, 王允, 万德光, 等. 款冬花本草考证[J]. 中药材, 2010, 33(4): 634-636.
- [7] 王建忠. 十大陇药产销概况[J]. 中药研究与信息, 2005, 7(11): 45-48.
- [8] 高慧琴, 张莉云, 王仲良. 十大陇药(六)——款冬花[J]. 甘肃中医学院学报, 2013, 30(6): 2.
- [9] 丁立威. 款冬花走势分析[J]. 中国现代中药, 2010, 12(12): 44-46.
- [10] 胡勐鸿, 欧阳芳群, 贾子瑞, 等. 不同穗条类型、长度的欧洲云杉扦插苗质量评价[J]. 林业科学研究, 2016, 29(6): 919-925.
- [11] 胡勐鸿, 欧阳芳群, 贾子瑞, 等. 我国云杉扦插繁殖技术研究进展[J]. 温带林业研究, 2018, 1(1): 20-29.
- [12] 胡勐鸿, 欧阳芳群, 贾子瑞, 等. 欧洲云山扦插生根影响因子研究与生根力优良单株选择[J]. 林业科学, 2014, 50(2): 42-49.
- [13] 沈秀丽. 甜叶菊的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(1): 42-43.
- [14] 王爱华. 武山县全膜双垄沟款冬花栽培技术[J]. 现代农业, 2019(3): 6-7.
- [15] 潘晓春, 陈向东, 张明, 等. 干旱半干旱地区款冬栽培技术研究[J]. 南方农业, 2019, 13(26): 17-18.
- [16] 曹容, 杨宇翔, 陈萍, 等. 甘肃款冬花栽培中存在的问题浅析[J]. 甘肃科技, 2019, 35(7): 144-145, 7.

- [17] 管青霞, 李城德. 全膜双垄沟播玉米后茬免耕栽培款冬花技术[J]. 甘肃农业科技, 2016(5): 57-58.
- [18] 吴燕. 不同种类基肥对款冬花出苗率及产量的影响[J]. 2016(5): 96-97.
- [19] 车树理, 杨文玺, 武睿. 不同栽培方式对款冬花产量的影响[J]. 现代农业, 2017(9): 83-84.
- [20] 杨菊红. 武山县山旱地款冬花全膜覆盖栽培技术规范[J]. 植土保肥, 2018(2): 30.
- [21] 韩晓明. 青海省干旱及半干旱地区款冬花覆膜栽培技术[J]. 农业科技通讯, 2017(12): 267-269.
- [22] 李城德. 半干旱区款冬花栽培技术规程[J]. 甘肃农业科技, 2017(3): 61-64.
- [23] 郑开颜, 韦杰, 王乾, 等. 张家口地区款冬花褐斑病的发生与防治[J]. 现代农业科技, 2018(10): 134.
- [24] 郑开颜, 王宇, 王乾, 等. 款冬花枯萎病的发生规律及防治措施[J]. 安徽农协通报, 2018, 24(13): 62-63.
- [25] 韩学俭. 款冬花采集加工技术[J]. 四川农业科技, 2006(2): 26.
- [26] 熊飞. 款冬花种植及采收加工技术[J]. 科学种养, 2014(3): 17-18.
- [27] 刘毅, 万德光, 王允, 等. 款冬花质量标准研究[J]. 中药材, 2008, 31(5): 761-763.
- [28] 颜爽, 何宇新, 毛正睿, 等. 蜜炙款冬花质量标准研究[J]. 西华大学学报(自然科学版), 2019, 38(3): 68-72.
- [29] 吴笛, 张朝凤, 张勉, 等. 中药款冬花的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(4): 260-263.
- [30] 刘玉峰, 杨秀伟, 武滨. 款冬花化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(22): 2378-2381.
- [31] 张燕, 黄芳, 吴笛, 等. 款冬花及其所含生物碱对小鼠肝脏毒性作用的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1810-1811.
- [32] 回连强, 高双荣, 刘婷, 等. 款冬花及其总生物碱的肝脏毒性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 238-241.
- [33] 梁文裕, 王俊, 赵辉. 款冬组织培养与快繁技术的研究[J]. 宁夏大学学报(自然科学版), 2000, 21(4): 345-348, 356.
- [34] 王贵军, 弓强. 款冬组织培养快速繁殖试验研究[J]. 安徽农学通报, 2014(14): 27, 32.
- [35] 王杰, 韩梦豪, 许琳玉, 等. 款冬组培快繁技术研究[J]. 现代园艺, 2020(5): 11-13.
- [36] 任继文, 雷颖. 款冬叶柄愈伤组织培养与再生体系建立[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(20): 3895-3900.
- [37] 任志雨, 切岩祥和, 王丽娟, 等. 椰糠与蛭石不同配比在黄瓜无土育苗中的应用[J]. 北方园艺, 2014(2): 53-56.
- [38] 仇硕, 赵健, 赵志国, 等. 报春石斛组培快繁技术体系的建立[J]. 北方园艺, 2019(3): 78-83.