

文章编号:1001-4276-(2006)01-0182-03

雷公藤组织培养快繁技术初探

赖呈纯,余亚白,谢鸿根,陈源,王琦,胡雪珍
(福建省农业科学院农业工程技术研究所,福建福州350003)

摘要: 以带腋芽的幼嫩茎段为外植体,研究雷公藤的离体快繁技术。结果表明:附加2.0 mg/L BA和0.1 mg/L IBA的MS固体培养基可诱导腋芽萌发,诱导率达95%;附加3.0 mg/L BA和0.1 mg/L IBA的MS固体培养基为适宜的芽苗继代增殖培养基,增殖率可达5.21。

关键词: 雷公藤;离体培养;快繁技术

中图分类号: Q813.1 **文献标识码:** A

雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. F)又名黄藤、黄藤木、黄腊藤、断肠草等,属卫矛科雷公藤属木质藤本植物。现其药用部分多用去二层皮的根木质部,其具有清热解毒、祛风通络、舒筋活血、消肿止痛、杀虫止血等功效。近30年来临床应用取得良好效果,药理研究也取得很大进展,是一个有很大发展前景的药物^[1-3]。雷公藤一般是采用种子和扦插进行繁殖^[4],但种子繁殖要1~2年才能移到大田种植,繁殖周期长,扦插繁殖要花费大量的插穗材料和人力物力,同时加上市场对雷公藤原料需求日益增长,因此采用传统的繁殖方式很难满足市场的需求。目前还未见有关雷公藤离体快繁的报道。采用离体培养的方法进行快速繁殖,可以在短时间内生产出大量的雷公藤试管苗^[5]。本研究利用离体快繁技术提高其繁殖速度,试图为大规模工厂化生产雷公藤种苗奠定基础,同时为进行雷公藤药理研究提供优良的试验材料。

1 材料与方 法

1.1 取材与消毒

从生长旺盛、健壮的成年植株取带腋芽的幼嫩茎段,作为外植体。先将茎段在洗涤剂中浸洗,后用自来水漂洗,放入体积分数为75的酒精浸泡30s,再置入0.1 g/L升汞消毒6~10 min,随即用无菌水浸洗4~5遍。然后切取0.5~1.0 cm的带腋芽茎段接种在诱导侧芽萌发的培养基上。

1.2 培养基

诱导腋芽萌发培养基为附加0.1 mg/L IBA、2.0 mg/L BA的MS固体培养基。芽苗的继代增殖转移至附加0.1 mg/L NAA、2.0 mg/L BA和0.1 mg/L IBA、2.0 mg/L BA的两种MS培养基上,比较不同生长素对芽苗增殖的影响。芽苗的继代增殖转移至分别附加0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mg/L BA,且皆附加有0.1 mg/L IBA的MS固体培养基,比较不同含量BA对芽苗增

收稿日期:2006-11-03

作者简介:赖呈纯,男,研究实习员,博士研究生。研究方向:植物生物技术。

殖的影响。

上述培养基都附加 2% 的蔗糖,以 6 g/L 的琼脂粉为固化剂,pH 为 5.8。

1.3 培养条件

培养室温度设置 25 ± 1 °C,光照强度为 1500 - 2000 lx,每天光照时间 12 h 左右。

2 结果与分析

2.1 外植体的消毒处理

在外植体的消毒过程中,我们比较了升汞消毒时间对污染率的影响。外植体培养 2 周后的结果见表 1。

表 1 不同消毒时间对外植体污染率的影响

消毒时间(min)	接种瓶数(瓶)	污染瓶数(瓶)	污染率(%)
6	15	7	46.7
8	15	3	20.0
10	15	1	6.7

注:每瓶接种一个外植体。

从表 1 可看出,外植体消毒时间为 6 min 的污染率最高,为 46.7%;消毒时间为 8 min 的污染率最低,为 20.0%;消毒时间为 10 min 的污染率为 6.7%。这说明消毒时间对外植体污染率有显著影响。同时污染率差异试验中还观察到,消毒 10 min 的外植体形成的芽苗萌发后细弱,可见消毒时间超过 8 min 对芽苗生长有影响。综合考虑污染率和芽苗的质量,雷公藤外植体消毒时间以 8 min 为宜。

2.2 无菌株系的建立

将雷公藤带腋芽的茎段接种于附加 0.1 mg/L NAA 和 2.0 mg/L BA 的 MS 固体培养基上诱导腋芽萌发。外植体培养 7 d 后陆续萌发出嫩绿色小芽,芽诱导率 95% 以上。经过 30 - 35 d 的培养芽苗可伸长至 4 - 5 cm,此时可将其转移至增殖培养基上进行继代增殖培养。

2.3 芽苗的继代增殖

表 2 不同 BA 浓度对雷公藤继代增殖系数的影响

BA(mg/L)	接种的茎段数(个)	污染茎段(个)	增殖后的芽苗数(个)	增殖系数(%)
0.5	30	2	29	1.04
1.0	30	0	78	2.60
2.0	30	0	121	4.03
3.0	30	2	146	5.21
4.0	30	0	162	5.40

注:培养基中均附加 0.1 mg/L IBA。

将初代培养中诱导出的健壮芽苗,切取带节茎段转移至不同生长素和含有不同 BA 浓度的 MS 固体培养基中继代增殖培养。每个处理 15 瓶,每瓶接种 2 个茎段,1 周后开始长出嫩绿的小芽并逐渐形成丛生芽,培养 35 d 后观察结果。接种到附加 0.1 mg/L NAA、2.0 mg/L BA 的 MS 培养基上的茎段基部会膨大形成很大愈伤组织块,并且产生的芽苗数比在 0.1 mg/L IBA 培养的少,因此 NAA 不适宜作为雷公藤芽苗增殖培养的生长素。接种到不同浓度 BA 的增殖情况如表 2 所示。由表 2 可以看出,随着 BA 浓度的增大,雷公藤芽苗产生的数量也增多,芽苗的增殖系数随 BA 浓度的提高而升高,每个茎段形成芽苗数量由 1.04 提高到 5.40,因此 BA 明显促进芽苗的增殖;同时 BA 含量对形成芽苗的大小也有影响,在本试验的 BA 浓度

范围内,随 BA 浓度的升高,芽苗逐渐变得弱小,尤其是 BA 质量浓度在 4.0 mg/L 时,表现更为明显,芽苗细弱且部分玻璃化。综合考虑芽苗质量与增殖系数两方面因素,雷公藤芽苗在增殖培养时,BA 浓度应以 3.0 为佳。

3 讨论

从本试验结果可知雷公藤茎段外植体离体培养,消毒时间以 8 min 为宜;诱导茎段腋芽萌发时,采用附加 2.0 mg/L BA 和 0.1 mg/L IBA 的 MS 固体培养基;芽苗增殖时,综合考虑增殖系数和芽苗质量两方面因素,以附加 3.0 mg/L BA 和 0.1 mg/L IBA 的 MS 培养基效果最佳,增殖系数达 5.21,且芽苗质量好。采用本试验的增殖方式,经腋芽萌发产生芽苗,不经愈伤组织阶段,减少了变异,遗传稳定性好,有利于其品种特性的保持,可用于雷公藤的快速繁殖。在试验过程中,我们发现雷公藤芽苗形成后会直接长出不定根,其生根培养和小苗移栽还有待于进一步研究。试验中,我们发现有些茎段由其先端膨大的愈伤组织诱导产生不定芽,尚待更深入的研究。我们认为如果采用适当的植物生长调节剂组合,并给予适当的培养条件,可以诱导雷公藤产生愈伤组织并分化形成不定芽。此外,该研究还为利用离体突变体筛选、转基因等生物技术手段进行雷公藤品种改良奠定重要基础,同时为研究雷公藤的药理提供一个良好的试验平台。

参 考 文 献

- [1] 邓翠娥, 吴斯金. 雷公藤医药作用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(4): 370 - 371.
- [2] 高晓英, 陈政光. 中药雷公藤的研究进展[J]. 山东生物医学工程, 2001, 20(1): 46 - 48.
- [3] 斯金平, 阮秀春, 郭宝林, 等. 雷公藤资源现状及可持续利用的研究[J]. 中药材, 2005, 28(1): 10 - 11.
- [4] 刁诗冬, 徐 杰, 徐同印. 雷公藤栽培管理技术[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(5): 338.
- [5] 王蒂主编. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004

MICROPROPAGATION TECHNIQUE OF *TRIPTERYGINUM WILFORDII* HOOK. F

LAI Cheng-chun, YU Ya-bai, XIE Hong-gen, CHEN Yuan, WANG Qi, HU Xue-zhen
(Institute of Agricultural Engineering and Technology, Fujian Academy of Agricultural Sciences,
Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: The micropropagation technique of *Tripteryginum wilfordii* Hook. F was developed from the explants of young stem nodes with axillary buds. The results showed that the percentage of axillary germinated buds was over 95% on the solid MS medium supplemented with 2.0 mg/L BA and 0.1 mg/L IBA; the solid MS medium with 3.0 mg/L BA and 0.1 mg/L IBA was suitable for multiplication of shoots on the subculture, the proliferous ratio of shoots was up to 5.21.

Key words: *Tripteryginum wilfordii* Hook. F; in vitro culture; micropropagation technique