

文章编号:1001-4829(2008)04-1086-03

青阳参组培快繁技术的研究

刘秀贤, 罗 栋, 李正红*, 梁 宁, 万友名

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 云南 昆明 650224)

摘 要:以青阳参的成熟种子获得无菌苗, 去除下胚轴和子叶作为外植体, 诱导腋芽的萌发和不定芽增殖生根。结果表明:适宜的增殖培养基是 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 3%, 每个外植体的平均芽数为 3.36 个;适宜的诱导生根生长调节剂是 ABT1 号 50 mg/L, 生根率达到 100%, 平均根数为 4.72 条;移栽后成活率可达到 90% 以上。

关键词:青阳参;组织培养;生长调节剂

中图分类号:S567.5*3 **文献标识码:**A

Studies on tissue culture and rapid propagation of *Cynanchum otophyllum* Schneid

LIU Xiu-xian, LUO Dong, LI Zheng-hong*, LIANG Ning, WAN You-ming

(Research Institute of Resource Insects, Chinese Academy of Forestry Sciences, Yunnan Kunming 650224, China)

Abstract: In this work, seedlings cultivated from the mature seeds of *Cynanchum otophyllum* were carried out without hypocotyls and cotyledons as explants the effects of adventitious bud multiplication and root induction were studied. The results showed that: The proper multiplication medium was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+sucrose 3%, and the average bud number of each explant was 3.36; 50 mg/L ABT1 was suitable for the root induction with 100% rooting ratio, and the average root number was 4.72; The transplanting survival rate was more than 90%.

Key words: *Cynanchum otophyllum* Schneid; tissue culture; growth regulator

青阳参(*Cynanchum otophyllum* Schneid) 别名青洋参、千年生等, 是萝藦科鹅绒藤属多年生草质藤本。产于湖南、广西、贵州、云南、四川和西藏等省(区)^[1]。生长于海拔 1500~2800 m 的山地、溪谷疏林中或山坡路边。根可入药, 味道甘苦, 毒性猛烈, 具有祛风除湿、解毒镇痉、补气养肾、强筋壮骨、活血化淤、化痰止咳等功效;可用于治疗腰痛、头晕、耳鸣、心慌、癫痫、麻疹、风湿骨痛、迁延性慢性肝炎和毒蛇咬伤等^[2]。目前对青阳参的研究主要集中在其药理药性、生长生活习性以及栽培技术等方面^[3-10], 而对其组培快繁技术的研究相对较少, 仅见赵沛基等^[11]以嫩枝和芽为外植体诱导形成愈伤组织。本文利用青阳参成熟的种子获得外植体, 通

过诱导增殖, 可以在短时间内获得大量无菌种苗, 对加速新品种培育、种质资源的保存以及药材需求都有着重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为青阳参(*Cynanchum otophyllum* Schneid)成熟种子, 来自昆明邦图生物开发有限公司。

1.2 方法

1.2.1 培养基及培养条件 诱导培养基:以 MS 为基本培养基, 附加 6-BA 2.0 mg/L、NAA 1.0 mg/L 蔗糖 30 g/L;增殖培养基:以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度 6-BA 和 NAA 组合以及蔗糖 30 g/L;生根培养基:以 1/4 MS 为基本培养基, 附加蔗糖 20 g/L;培养基 pH 5.8, 琼脂含量为 0.8%, 培养温度为(25±2)℃, 光照时间 12 h/d, 光强度 40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

收稿日期:2007-12-10

基金项目:国家环保总局项目“中国重点观赏植物种质资源调查”(2004-11-07)的部分内容

作者简介:刘秀贤(1967-), 女, 彝族, 云南宁洱人, 工程师, 主要从事组织培养研究, *为通讯作者。

表 1 不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对芽增殖的影响

Table 1 Effects of 6-BA and NAA on bud multiplication

编号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	每个外植体 平均芽数(个) Average bud number of each explant	芽平均长度(cm) Average length of buds
1	1.0	0.2	3.02	3.84
2	1.0	0.5	3.02	3.48
3	1.0	1.0	2.72	3.55
4	2.0	0.2	3.36	3.31
5	2.0	0.5	3.26	3.09
6	2.0	1.0	2.96	3.11
7	3.0	0.2	2.98	3.12
8	3.0	0.5	2.44	2.95
9	3.0	1.0	2.32	2.91



图 1 青阳参的增殖培养

Fig.1 Multiplication culture of *Cynanchum otophyllum*

1.2.2 无性繁殖体系的建立 将种子用洗衣粉水清洗干净,流水冲洗 30 min 后,移至超净工作台中,在无菌条件下用 75 % 酒精浸泡 30 s,迅速用无菌水冲洗 3 次,再用 0.1 % 升汞浸泡 10 min,最后用无菌水冲洗 5 次。用消毒滤纸吸干种子表面水分,将其接种在不含激素的 MS 培养基上。

1.2.3 启动(初代)培养 3 周后取上述无菌苗,去除下胚轴和子叶,接种于芽诱导培养基中。

1.2.4 增殖培养 1 个月后将诱导培养基上生长健壮的嫩梢剪下,切成带腋芽的长 0.5 ~ 1.0 cm 的茎段,接种于增殖培养基中,每个处理 10 瓶,每瓶接 5 个外植体。30 d 后调查统计不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对芽增殖的影响(图 1)。

1.2.5 生根培养 将上述培养基中不定芽剪下,下

端浸入不同浓度的生长调节剂中 3 ~ 5 s,然后接种于生根培养基中,每个处理 10 瓶,每瓶接 5 个芽。20 d 后调查统计不同浓度生长调节剂对生根诱导的影响(图 2)。

1.2.6 移栽 待小苗不定根长至 1 ~ 2 cm 时,移栽到经 800 ~ 1000 倍甲基托布津消毒的营养土中,正常栽培管理。1 个月后移入大田,观察并统计其成活率。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对芽增殖的影响

调查不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对芽增殖的影响,结果见表 1。由表 1 可见,不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对外植体平均个数及其生长量都有很大的影响,芽的增殖和生长不仅取决于 6-BA 和 NAA 的绝对量,还和两者的比例有关。就本试验所涉及的范围而言,在 6-BA 和 NAA 组合中,当 6-BA 的浓度一定时,每个外植体平均芽数基本随着 NAA 浓度的增加而下降;当 NAA 浓度一定时,中间浓度(2.0

表 2 不同浓度生长调节剂对生根诱导的影响

Table 2 Effects of different growth regulators concentration on root induction

编号 No.	生长调节剂 Growth regulator	生长调节剂浓度(mg/L) Growth regulator concentration	生根率(%) Rooting rate	平均根数(条) Average root number	生根状况 Condition of rooting
1	ABT 1 号	50	100	4.72	根多,根系正常 Normal in rooting number, strong growing vitality
2	ABT 1 号	100	100	4.64	根多,根系正常 Normal in rooting number, strong growing vitality
3	ABT 2 号	50	96	3.83	根较多,根系正常 More in rooting number, strong growing vitality
4	ABT 2 号	100	96	3.75	根较多,根系正常 More in rooting number, strong growing vitality
5	IBA	50	68	2.76	根较少,根系正常 Less in rooting number, strong growing vitality
6	IBA	100	72	3.72	部分苗基部产生愈伤组织,形成假根 Callus and rhizoids were formed in parts of the seedlings' basal part
7	NAA	50	92	4.26	根多,根系正常 Normal in rooting number, strong growing vitality
8	NAA	100	88	4.59	部分苗基部产生愈伤组织,形成假根 Callus and rhizoids were formed in parts of the seedlings' basal part



图2 青阳参的生根培养

Fig. 2 Rooting culture of *Cynanchum otophyllum*

mg/L)的6-BA更适宜芽的增殖。以6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L组合的外植体平均芽数最多,为3.36个。当6-BA的浓度一定时,低浓度的NAA更适宜芽的生长;当NAA浓度一定时,芽的生长量也随着6-BA浓度的下降而增加,以6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L组合的芽平均长度最大,为3.84 cm。综合外植体平均芽数和芽平均生长量,以6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L组合最为适宜,即6-BA和NAA的浓度比为10:1。

2.2 不同浓度生长调节剂对生根诱导的影响

调查不同浓度生长调节剂对生根诱导的影响,结果见表2。由表2可见,各浓度的生长调节剂对生根率和根系的生长都有很大的影响。在本试验所涉及的范围中,在浓度相同的4种生长调节剂中,ABT1号的效果最好,试验中2个浓度的ABT1号生根率都达到了100%,且根系生长正常,平均根数也较其他生长调节剂多。在ABT1号中,低浓度的ABT1号比高浓度的更有利于根系的生长,ABT1号为50 mg/L时,平均根数是4.72条。低浓度IBA的效果最差,诱导生根率只有68%,平均根数只有2.76条。高浓度的IBA和NAA都会导致部分苗的基部产生愈伤组织,从而形成假根。综合生根率、平均根数及根的生长状况,ABA1号50 mg/L最为适宜。

2.3 移栽

将小苗移栽到营养土后,正常栽培管理时,应特别注意保温、保湿(湿度保持在80%以上),遮光等管理工作。1周后逐步增加光照,1个月后可移入大田,最后进行统计,其栽培成活率可达90%以上。

3 讨论

对不同浓度6-BA与NAA组合分析比较,2种生长调节剂配合使用时对芽的增殖效果比较明显,初步确定青阳参芽的增殖培养基为MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 蔗糖30 g/L。

对不同种类、浓度的生长调节剂分析比较,各种调节剂对诱导生根都有较明显的效果,初步确定适宜诱导青阳参不定芽生根的调节剂为ABT1号50 mg/L。

利用成熟的种子可以快速方便地获得外植体材料,可以显著降低污染率,建立无性体系。通过人工手段,可以快速繁殖出许多无性系后代,从而满足保存种质资源和生产大量苗的需求。

栽入大田的组培苗,经过养护管理,与种子苗特征无异,而成活率可以达到90%以上,因而可以通过组培方法大量培养青阳参。至于组培苗与种子苗内在药效成分及其次生代谢产物是否有差异,还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1]中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第三册)[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [2]罗天浩. 森林药物资源学[M]. 北京: 国际文化出版公司, 1994. 431-432.
- [3]孙跃农, 闫继兰. 民族药青阳参的临床运用[J]. 中国民族民间医药杂志, 1999(5): 309.
- [4]王雅凡, 仝富斌. 青阳参中毒1例[J]. 现代中西医结合杂志, 2003, 12(3): 336.
- [5]陈阳美, 曾可斌, 谢运兰, 等. 青阳参对点燃癫痫大鼠脑内*c-fos*、*c-jun*基因表达的影响[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(5): 26-27.
- [6]杜忠德, 高学广. 青阳参片辅助治疗癫痫30例临床分析[J]. 中华临床医药杂志(北京), 2004, 5(6): 116.
- [7]明全忠, 董媛, 邹秀云. 高效液相色谱法测定青阳参片中青阳参皂苷元的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(8): 1156-1157.
- [8]赵益斌, 沈月毛, 何红平. 青阳参的一个新C21甾体苷[J]. 云南植物研究, 2005, 27(4): 443-446.
- [9]李全珍, 萧凤回, 段承俐. 楚雄州野生青阳参生境调查[J]. 云南农业, 2007(2): 28-29.
- [10]张林. 青阳参栽培技术[J]. 农村实用技术, 2005(8): 20.
- [11]赵沛基, 甘烦远, 珠娜. 青阳参组织培养及愈伤组织的成分分析[J]. 植物学通报, 2003, 20(5): 565-571.

(责任编辑 谢晓慧)