

文章编号:1000-2642(2006)02-0319-03

绞股蓝快繁技术的研究

石小刚,周璐,王小峰,张小伟,程远辉,邱萍,张兴翠

(西南大学农学与生命科学学院,重庆 400716)

摘要:以绞股蓝茎尖作为外植体,进行绞股蓝快繁技术的研究。试验表明:茎尖在 MS + NAA 0.2 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L 中诱导效果最高,快繁的最佳培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + IAA 0.5 mg/L,生根培养以无激素的 MS 培养基较好。

关键词:绞股蓝;快速繁殖;优化

中图分类号:S 567.23+7

文献标识码:A

FAST PROPAGATION OF *GYNOSTEMMA PENTAPHYLLUM* (THUNB.) MAKINO

SHI Xiao-gang, ZHOU Lu, WANG Xiao-feng, ZHANG Xiao-wei, CHENG Yuan-hui, QIU Ping, ZHANG Xing-cui

(College of Agronomy and Life Science, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: The stem tips of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino were used as explants in tissue culture so as to establish a fast propagation system for this plant species. The best medium was MS + NAA 0.2 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L for shoot induction, MS + 6-BA 1.0 mg/L + IAA 0.5 mg/L for multiplication and MS without the addition of any plant hormones for rooting.

Key words: *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino; fast propagation; optimization

1 材料与方 法

1.1 材 料

葫芦科绞股蓝属植物绞股蓝 (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino)^[1-2] 的茎尖及其幼嫩茎段。

1.2 外植体获取

在晴天中午或午后取 3~5 cm 长的绞股蓝幼嫩茎段,在自来水下冲洗 2 h,然后用 75% 的酒精浸泡 30 s,用蒸馏水冲洗 3 遍,后用 0.1% 升汞溶液浸泡 8~10 min,用蒸馏水清洗 3~5 遍,备用。

1.3 培养条件

在超净工作台上将灭菌外植体切成 0.5~1 cm

长的茎段,接入 MS 培养基中培养。培养基 pH 值为 5.8,培养室温度为 25±2℃,每日光照 12 h,光照强度为 1 300~1 500 lx^[3](下同)。

培养基的配制均为 MS 培养基,添加不同浓度的不同激素构成不同的培养基。如表 1。

1.4 外植体诱导培养

将灭菌绞股蓝茎段接入外植体诱导培养基中,4 周后观察绞股蓝生长状况。

1.5 丛生芽诱导培养基的选择

将组培苗转入丛生芽诱导培养基中培养,每种处理 3 瓶,每瓶接 5 株,4 周后观察其丛生芽诱导状况。

1.6 生根培养基的筛选

将诱导后的绞股蓝茎段转入生根培养基中培养,2 周后观察其长根情况。

收稿日期:2005-11-10

基金项目:农业部生物技术与作物品质改良重点实验室开放课题

作者简介:石小刚(1980-),男,四川岳池人,西南大学硕士研究生,从事遗传育种与生物技术研究。

表1 培养基
Table 1 Medium

培养基类型	编号	激素1	激素2	编号	激素1	激素2
		NAA	6-BA		NAA	6-BA
外植体	1	0	0	2	0.2	0.5
诱导培养基	3	0.2	1.0	4	0.2	2.0
	5	0.2	3.0	6	0.2	5.0
		IAA	6-BA		IAA	6-BA
	1	0	1.0	2	0	2.0
	3	0	3.0	4	0	5.0
丛生芽	5	0.1	1.0	6	0.1	2.0
	7	0.1	3.0	8	0.1	5.0
	9	0.2	1.0	10	0.1	2.0
诱导培养基	11	0.2	3.0	11	0.2	5.0
	13	0.5	1.0	14	0.5	2.0
	15	0.5	3.0	16	0.5	5.0
	17	0	0			
			IBA	NAA		IBA
生根培养基	1	0	0	2	0	0.5
	3	0	1.0	4	0	2.0
	5	0.5	0	6	0.5	0.5
	7	0.5	1.0	8	0.5	2.0
	9	1.0	0	10	1.0	0.5
	11	1.0	1.0	12	1.0	2.0
	13	2.0	0	14	2.0	0.5
	15	2.0	1.0	16	2.0	2.0

注:激素浓度:mg/L。Note:Hormone;mg/L.

2 结果与分析

2.1 外植体诱导

在培养基(2),(3),(4),(5),(6)号中,都能获得无菌苗,其中(4)号培养基效果最好,(1)号培养基能诱发其长根。

2.2 丛生芽诱导培养基的选择

将绞股蓝组培苗转入16种不同激素组合的培养基中,并以MS培养基作对照,4周后观察比较其丛生芽诱导效果,结果与分析见表2和表3。

对表2数据进行方差分析,所得结果见表3。

观察发现,绞股蓝在不含激素的培养基中,即在(17)号MS培养基中长成完整植株,其生长速度较快,如将其切段转接,如此反复多次,亦可达到快繁的目的。在有激素的培养基中,在培养7d后其基部形成白色突起,20d后长出大量丛生芽,以在MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L中增殖芽最多而且芽最健壮,即(13)号培养基增殖倍数为7倍。6-BA浓度过低时增殖倍数低,浓度过高时增殖倍数高,但分化的芽小密集不易分辨。

方差分析结果表明,不同的培养基之间,绞股蓝组培苗的芽增殖个数间存在极显著差异。为了了解

哪些处理间存在真实差异,进一步做多重比较后,得到的结果显示:除了培养基(2)与(14),(3)与(5),(4)与(16),(10)与(15),(11)与(12)之间无显著差异外,其余培养基之间都存在显著差异。其中(8),(11),(6),(5),(13),(15)等之间还呈极显著差异。而最佳培养基配方为(13)号:MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L。

表2 激素浓度对芽增殖的影响结果分析

Table 2 Analysis about the bud multiplication with different hormone concentration

编号	处 理			重 复			Ti	yi
	IAA	6-BA		I	II	III		
(1)	0	1.0		21	19	17	57	19.00
(2)	0	2.0		12	13	13	38	12.67
(3)	0	3.0		20	18	21	59	19.67
(4)	0	5.0		8	12	11	31	10.33
(5)	0.1	1.0		18	22	19	59	19.67
(6)	0.1	2.0		14	13	17	44	14.67
(7)	0.1	3.0		18	23	21	62	20.67
(8)	0.1	5.0		11	10	8	29	9.67
(9)	0.2	1.0		24	17	20	61	20.33
(10)	0.2	2.0		18	25	21	64	21.33
(11)	0.2	3.0		8	14	13	35	11.67
(12)	0.2	5.0		9	13	13	35	11.67
(13)	0.5	1.0		22	24	26	72	24.00
(14)	0.5	2.0		10	15	12	37	12.33
(15)	0.5	3.0		19	24	21	64	21.33
(16)	0.5	5.0		8	12	11	31	10.33

T=778

注:①所列数据为每瓶中芽的增殖数;②已除开原有芽个数;③激素浓度单位 cmg/L^{-1} 。

Note:①The datas represent the number of buds in each bottle. ②The number of buds except the original one. ③Hormone;mg/L.

表3 表2资料的方差分析

Table 3 Variety analysis of the table 2

变异来源	DF	SS	MS	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
处理间	15	1 094.58	72.97	13.02	1.99	2.66
误差	32	179.33	5.60			
总变异	47	1 273.92				

2.3 生根培养基的筛选

将绞股蓝茎段转入生根培养基中,2周后观察其效果,结果见表4。

经实验发现,绞股蓝在(1)号培养基中生根最快,但在(15)号培养基中根长势最好,除根数整齐度和根长整齐度都较为一致外,根相对较粗且有须根发出。但考虑到在同种长势下,应尽量选择无激素培养基,有利于节约成本,减少产品中化学物质的残留,提高产品的品质,所以在工厂化生产中,应选择(1)号培养基。

表4 生根培养基结果观察表

Table 4 Result of root culture

培养基编号	激素组合		接种数量/个	长根株数/根	根粗壮整齐度	根数整齐度	根长整齐度
	IBA	NAA					
(1)	0	0	10	10	较细	整齐	整齐
(2)	0	0.5	10	9	较细	不整齐	不整齐
(3)	0	1.0	10	9	较细	较整齐	整齐
(4)	0	2.0	10	8	较细	整齐	不整齐
(5)	0.5	0	10	10	较细	整齐	较整齐
(6)	0.5	0.5	10	10	普通较粗	较整齐	整齐
(7)	0.5	1.0	10	9	6株较粗	整齐	较整齐
(8)	0.5	2.0	10	10	5株较粗	整齐	较整齐
(9)	1.0	0	10	10	6株较粗	较整齐	较整齐
(10)	1.0	0.5	10	9	8株较粗	较整齐	不整齐
(11)	1.0	1.0	10	10	普遍较粗	较整齐	不整齐
(12)	1.0	2.0	10	7	2株较粗	较整齐	整齐
(13)	2.0	0	10	9	2株较粗	较整齐	不整齐
(14)	2.0	0.5	10	7	3株较粗	较整齐	不整齐
(15)	2.0	1.0	10	10	普遍较粗	整齐	整齐
(16)	2.0	2.0	10	6	普遍较粗	不整齐	不整齐

注:激素浓度:mg/L。Note: Hormone: mg/L.

2.4 过渡移栽技术

绞股蓝移栽比较容易成活,一年中春、秋二季都可进行,对环境的变化适应能力强^[4]。其移栽成活率高达95%以上,在移栽后7 d左右即可生新根长新叶,30 d左右牵蔓生长。

3 结论与讨论

绞股蓝在MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L培养基中分化成芽,快速繁殖。利用快繁技术,不仅可缩短育种年限,而且可使新品种在短时期内得以推广应用。在工厂化生产中,为了节约成本,减少化学物质残留,提高产品品质,建议选择MS培养基。

参考文献:

- [1] 郑小江,刘金龙. 绞股蓝研究与开发[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版),1997,15(6):31-33,45.
- [2] 刘欣,叶文才,萧文鸾,等. 绞股蓝的化学成分研究[J]. 中国药科大学学报,2003,34(1):21-23.
- [3] 汪丽琴,杨貌仙. 绞股蓝的组织培养及细胞组织学观察[J]. 北京师范大学学报(自然科学版),1992,28(1):93-98.
- [4] 赵志顺,卜秀艳. 药用植物生产技术问答(叶、全草、菌类)[M]. 北京:中国农业大学出版社,2002:40-60.

(上接第308页)

- [23] KWON J H, AHN Y J. Acaricidal activity of *Cnidium officinale* rhizome-derived butyridenepthalide against *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae) [J]. Pest Management Science, 2003, 59(1):119-123.
- [24] PARK B S, LEE S E, CHOI W S. Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperocetadecalinone de-

rived from dried fruits of *Piper longum* L [J]. Crop Protection, 2002, 21(3):249-251.

- [25] ASLAN I, KORDALI S, CALMASUR O. Toxicity of the vapours of *Artemisia absinthium* essential oils to *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabasi* (Genn.) [J]. Fresenius Environmental Bulletin, 2005, 14(5):413-417.