

钩藤的组织培养与植株再生

毛堂芬¹ 刘作易^{2*} 贺定祥³ 刘涛⁴

¹贵州省生物技术研究所, 贵阳 550006; ²贵州省农业生物技术重点实验室, 贵阳 550006; ³贵州省黔东南州信邦中药饮片有限责任公司, 贵阳 556000; ⁴贵州省柑橘科学研究所, 贵州罗甸 550100

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks.

MAO Tang-Fen¹, LIU Zuo-Yi^{2*}, HE Ding-Xiang³, LIU Tao⁴

¹Guizhou Biotechnology Institute, Guiyang 550006, China; ²The Key Laboratory for Agricultural Biotechnology of Guizhou, Guiyang 550006, China; ³Xinbang Traditional Chinese Medicine Limited Company, Eastsouth District of Guizhou Province, Guiyang 556000, China; ⁴Guizhou Orange Institute, Luodian, Guizhou 550100, China

1 植物名称 钩藤[*Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks.]。

2 材料类别 成熟种子。

3 培养条件 以 B₅ 为基本培养基。(1)种子萌发培养基: 加活性炭和不加活性炭的 B₅ (不含任何激素); (2)增殖培养基: B₅+6-BA 2.0 mg·L⁻¹ (单位下同)+NAA 0.2+0.2% 活性炭; (3)生根培养基: B₅+NAA 0.5+0.2% 活性炭。上述培养基均附加 3% 蔗糖和 0.8% 琼脂粉, pH 5.8。培养温度为(25±2)℃, 光照时间 12 h·d⁻¹, 光强为 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

4 生长及分化情况

4.1 无菌材料的获得 参考张建康等(2005)的方法, 选取成熟饱满、色泽好且未开裂的蒴果, 先用 70% 的酒精进行表面消毒 30 s, 再用 0.1% 的升汞溶液加适量吐温-80 浸泡消毒 12 min, 最后用无菌水冲洗 5 次。随后以灭菌后的滤纸吸干蒴果表面上的水分, 用无菌的解剖刀切开蒴果, 将里面细小的种子撒播在培养基(1)上。经过 20 d 左右的培养, 在未加活性炭的培养基上种子开始萌动, 但萌发不整齐, 生长缓慢, 没有根的形成, 叶色黄绿; 在添加有活性炭的培养基上培养 7 d 以后, 种子就开始萌发, 可见白色的胚突破种皮, 萌发整齐, 生长较快, 同时产生细根, 叶色浓绿。待长成小苗后, 去掉叶片和根, 将其切成带腋芽的小茎段竖插于增殖培养基(2)上。

4.2 丛生芽的诱导与增殖 以上接种的茎段在增殖培养基(2)上培养 10 d 以后, 腋芽开始萌动, 1 个腋芽长出 2~5 个小芽。当丛生芽长大时, 可切成带腋芽的茎段, 转接入新鲜的增殖培养基(2)中扩繁。25~30 d 继代增殖培养 1 次。

4.3 生根培养 当丛生芽长到约 1.5 cm 高时, 将其分切成单苗, 接入生根培养基(3)中。约 20 d 后, 幼苗的基部长出 3~6 条白色的细根, 形成完整的再生植株(图 1), 生根率达 90% 以上。



图 1 钩藤的生根培养

4.4 试管苗移栽 根长到 2~3 cm 时, 将苗高 4 cm 以上且根系发达、生长健壮的试管苗的培养瓶置于室温自然散射光条件下炼苗 2 d, 然后揭去瓶口的封口膜, 炼苗 2 d, 再用镊子轻轻从培养瓶中夹出瓶苗, 用自来水洗去附在根部的培养基, 用 800 倍的多菌灵溶液浸泡消毒处理 15 min, 栽植于用甲醛消毒处理过的基质(腐殖土:蛭石=1:1)中, 并浇水淋透, 适当保湿遮荫。1 星期后再浇水, 并喷施 1/2MS 大量元素的营养液。移栽成活率可达 85% 以上(图 2)。

收稿 2006-07-10 修订 2006-09-18

资助 贵州省种植业结构调整综合配套技术试验示范项目(黔农农[2005]08 号)。

* 通讯作者(E-mail: liuzuoqi@yahoo.com.cn, Tel: 0851-3761761)。



图2 钩藤组织培养苗移栽成活

5 意义与进展 钩藤又名鹰爪风, 为茜草科钩藤属多年生木质藤本植物。分布于我国贵州、云南和广西等地。钩藤始载于《名医别录》, 主要含多种生物碱, 如钩藤碱、异钩藤碱、赛鸡纳碱、异赛鸡纳碱、去氢毛帽柱木碱、兜花木碱等。以带钩枝条入药, 具有熄风止痉和清热平肝等功效, 用于治疗头痛眩晕、感冒夹惊、惊悸抽搐、

妊娠子痫、高血压等症。尤其对小儿惊风具有独特疗效, 是中医儿科要药, 也是治疗心脑血管疾病等的原料药物。目前, 钩藤的药源多为野生, 由于掠夺性的采收, 野生资源大大减少, 加上国际市场对钩藤的需求量越来越大, 现有的野生资源已不能满足需求。在一般的自然条件下, 人工栽培采用播种、分株和扦插等方法繁殖, 但其成活率得不到有效保证, 繁殖速度慢, 无法满足市场需求。采用组织培养方法建立的快速繁殖技术体系, 可以周年生产钩藤种苗。本文结果对保护这一宝贵的中药材资源及其持续利用, 可能有一定的潜在应用价值。钩藤的组织培养尚未见报道。

参考文献

- 张建康, 石大兴, 蒋祺, 孙克燕(2005). 爱沙木的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 41 (2): 190