

## 黑龙骨的组织培养与植株再生

张明婧<sup>1,2</sup>, 杨霞<sup>2</sup>, 杨国峰<sup>1,2</sup>, 赵德刚<sup>1,2,\*</sup>

贵州大学<sup>1</sup>贵州省农业生物工程重点实验室, <sup>2</sup>生命科学学院, 贵阳 550025

## Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Periploca forrestii* Schltr.

ZHANG Ming-Jing<sup>1,2</sup>, YANG Xia<sup>2</sup>, YANG Guo-Zheng<sup>1,2</sup>, ZHAO De-Gang<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Guizhou Key Lab of Agro-Bioengineering, <sup>2</sup>College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China

**1 植物名称** 黑龙骨(*Periploca forrestii* Schltr.)。

**2 材料类别** 种胚萌发的无菌苗茎段。

**3 培养条件** 以MS为基本培养基。(1)种子萌发培养基: 不含任何激素的MS; (2)诱导分化培养基: MS+TDZ 2.0 mg·L<sup>-1</sup>(单位下同)+NAA 0.1; (3)增殖培养基: MS+6-BA 2.0+NAA 0.1; (4)生根培养基: MS+NAA 0.2。以上培养基均附加3.0%蔗糖、0.75%琼脂固化, pH 5.8。培养温度为(25±2)℃, 光照时间为12 h·d<sup>-1</sup>, 光照强度为30~40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>。

### 4 生长与分化情况

**4.1 无菌材料的获得** 供试材料来源于贵州地区。挑选籽粒饱满的种子, 先用1%的洗衣粉水浸泡10 min, 流水冲洗30 min, 然后在超净工作台上用75%酒精消毒1 min和无菌水冲洗2~3遍, 再用0.1%的升汞消毒7 min, 用无菌水冲洗4~6遍, 放于无菌纸上吸干种子表面水分。一部分直接接种于培养基(1)上, 一部分用镊子和刀片切开种皮, 取出幼胚接种于培养基(1)上。

**4.2 种子萌发** 直接接种于培养基(1)上的黑龙骨种子, 25 d后仅有极少数萌发, 且污染率达20%。将剥开的种胚接种于培养基(1), 3 d后种胚由乳白色变为绿色, 25 d长至3 cm左右, 且污染率降为0。

**4.3 芽的诱导与增殖** 将种胚萌发的无菌苗茎切成0.5 cm左右茎段, 接入培养基(2)上。培养20 d后茎段切口处产生愈伤组织, 再分化出芽, 将芽接入培养基(3)后芽迅速生长并增殖, 增殖率达2.25倍。

**4.4 根的诱导** 黑龙骨芽生长至3 cm左右, 将芽切下接入生根培养基(4)上, 培养10 d后芽苗基部产生白色不定根, 20 d后不定根上长出侧根, 生根率达到74%。

**4.5 炼苗与移栽** 幼苗长至5 cm左右时, 于培养瓶中揭开封口膜, 加入冷水至淹没培养基, 在20℃左右温室炼苗7 d后, 洗去根部培养基, 移栽到蛭石:黄土=1:1的基质中, 移栽后的前10 d可用塑料薄膜覆盖, 湿度保持在80%以上, 10 d后揭开薄膜, 成活率达80%。

**5 意义与进展** 黑龙骨为萝藦科杠柳属植物, 又名滇杠柳、黑骨头, 黑龙骨生长于我国云贵高原特有的潮湿避光环境处。此植物全株可药用, 可舒筋活血、祛风除湿, 还可治疗风湿性关节炎、跌打损伤、胃痛、消化不良、闭经和痢疾等。目前, 从黑龙骨的根中提取的有效成分已进入商品化生产, 市场上已开发出黑骨藤追风活络胶囊和黑骨藤伸筋透骨液等产品, 随着市场对黑龙骨需求量的增加, 生产中需要的黑龙骨材料也越来越多, 这对黑龙骨资源及生态环境都造成很大破坏, 因此扩大黑龙骨的原料来源成为急待解决的问题。本文结果可能对黑龙骨的产业化生产有一定的参考意义。黑龙骨的组织培养和植株再生尚未见报道。

收稿 2007-06-22 修订 2007-07-10

资助 科技部国家重大基础研究前期专项(2003CCA02600)和贵州大学研究生创新基金。

\* 通讯作者(E-mail: dgzhao@gzu.edu.cn; Tel: 0851-3863615)。