

唐古特大黄的离体快速繁殖

徐文华 王莉 李毅 陈桂琛*

中国科学院西北高原生物研究所 西宁 810001

In vitro Rapid Propagation of *Rheum tanguticum*

XU Wen-Hua, WANG Li, LI Yi, CHEN Gui-Chen*

Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001

1 植物名称 唐古特大黄 (*Rheum tanguticum*), 又名鸡爪大黄。

2 材料类别 无菌种子苗。

3 培养条件 种子萌发培养基:(1)MS无激素培养基。前期分化培养基:(2)MS+2,4-D $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (单位下同)+KT 1+ZT 0.5+6-BA 0.5。后期分化培养基:(3)MS+ 2,4-D 1+KT 2+ZT 0.5+6-BA 1。以上3种培养基均附加CH 300、肌醇200、3%蔗糖、 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂粉。生根培养基:(4)MS+NAA 1+3%蔗糖;(5)1/2MS+NAA 1+3%蔗糖;(6)1/2MS+NAA 0.5+1.5%蔗糖;(7)1/2MS + NAA 0.5+3%蔗糖;(8)1/2MS+NAA 1+1.5%蔗糖。pH 5.8。培养温度为 (25 ± 1) , 光源为日光灯, 光照度为 $2\ 000\sim 3\ 000\text{ lx}$, 光照时间 $12\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

4 生长与分化情况

4.1 无菌种子苗的培育 唐古特大黄种子在52 的水浴锅内恒温浸泡 12 min后, 置冷蒸馏水中5~6 h。在超净工作台上, 将处理过的种子用0.2%的 HgCl_2 溶液浸泡灭菌10~12 min, 无菌水冲洗4~5遍, 接种到培养基(1)上。培养1周后种子开始发芽, 再过5~7 d萌发成长为具有2片子叶的无菌幼苗, 备用。

4.2 丛生芽的诱导 将种子萌发2片子叶未伸展的无菌幼苗接种到培养基(2)上进行光照培养, 子叶伸展变绿, 幼苗长大, 3周后开始芽的分化, 分化出2~5个芽。

4.3 快速繁殖 将丛生芽切割, 接种到培养基(3)上, 3周后即可形成大量的丛生芽, 平均达到8.75个, 芽数明显多于培养基(2)上的芽数。将丛生芽再切割在培养基(3)上继代培养, 即可继续不断得到大量丛生芽。

4.4 根的诱导和植株再生 将增殖形成的高2.0~3.5 cm的粗壮芽分割成单芽, 分别转接到培养基(4)~(8)上诱导生根。2周后, 培养基(7)上芽基部形成少量愈伤组织, 根原基变白、突起, 根开

始长出, 1个月后有4~5条白色小根长出, 长达2~3 cm, 形成一株健壮的再生小植株。培养基(5)上试管苗第30天开始长根;(6)、(8)上第35天开始长根;(4)上45 d后开始长根, 形成粗壮根。培养基(4)~(8)上的生根率分别为80%、100%、87.5%、88.8%、50%。

4.5 移栽 在苗根长至3~4 cm时, 将培养瓶的封口膜揭开, 在室温下炼苗5~7 d后, 取出试管苗, 洗净其根部附着的琼脂, 将其根部浸泡在双蒸水中, 同时罩一玻璃罩, 注意通风。1周后移栽到瓦盆内, 保持环境温度20~25 和空气相对湿度75%左右。后期逐渐通风, 增加光照, 2~3 d浇自来水1次。10 d后幼苗成活率达60%。

5 意义与进展 唐古特大黄属蓼科大黄属, 为药用大黄(亦称“正品大黄”)之一, 多年生粗壮草本, 产于西藏东部、青海、甘肃, 是我国著名的特产药材之一。在医药上主要用于治疗血症、痰饮、解毒、泻火、清热、导滞、攻积及通宣气机等。长期以来, 大黄的生产一直依赖野生植物的采收, 其资源得不到有效的保护, 已陷入濒危灭绝的境地。作为市场紧缺的名贵中药, 其需求量已呈现供不应求的趋势。采用组织培养技术进行快速繁殖可在短期内生产大量种苗。本文采用组织培养技术, 通过无菌幼苗分化芽的途径进行快速繁殖, 保持了优质大黄的遗传性, 这为唐古特大黄药材生产的产业化提供了可能的新途径。以无菌幼苗为外植体离体快速繁殖唐古特大黄, 尚未见报道。

收稿 2003-04-23 修定 2003-11-03

资助 中国科学院“西部之光”项目(2000年度)和国家中西部专项基金(2001BA901A47)。

* 通讯作者(E-mail:gcchen@mail.nwipb.ac.cn, Tel:0971-6143523)。