

4 讨论

4.1 离子的注入使陈年的光果甘草种子,本来已经降低的生命活力又有所提高,而使当年新采的生命活力很强的乌拉尔甘草种子发芽率降低,说明强剂量的能量输入后,产生能量沉积效应和动量传递效应的综合结果。这种剂量下,对本来有较高发芽率的种子,产生低能的 N^+ 直接作用,导致 DNA 损伤,究其原因,可能因能量沉积产生大量自由基导致 DNA 和生物膜等大分子的损伤,从而造成发芽率下降。

4.2 呼吸率是最能直接体现种子生命活力的指标。从实验的结果看,光果甘草经离子注入后呼吸率增强,本来生命活力较强的乌拉尔甘草新鲜种子,却下降了。此外,甘草种子呼吸速率经在萌动时比长芽(2 天时呼吸率)时略大,这是因为在萌动时种子代谢活力较长芽时高。

4.3 离子注入后,对乌拉尔甘草当年新种子产生了抑制作用,而对于陈年的光果甘草离子注入后产

生激发和提高作用,幼苗不易倒伏,长势较未注入的有显著差别。乌拉尔甘草本身出苗率高,苗也壮,所以没有观察到显著变化。

4.4 注入适宜的诱变剂量可产生最大的增长率。本试验所用最佳剂量是否就是甘草离子注入的最佳剂量。特别是不同作物,不同品种,不同器官、组织、细胞甚至分子基因等的敏感性均不相同,可注入离子种类剂量更是多种多样。因此,研究确定甘草或其它药材品种的最佳诱变剂量,以获得定向诱变,选育新品种。

参 考 文 献

- [1] 余增亮,王学栋,吴耀进. 离子注入水稻诱变育种机理初探. 安徽农业科学,1989,(1):12-16.
- [2] 吴耀进,余增亮. 离子束辐照在水稻亲和系选育中的应用研究. 核农学通报,1990,11(4):154-156.
- [3] 余增亮. 离子注入生命科学. 物理,1997,26(6):333-338.

(2005-08-31 收稿)

川牛膝组织培养快繁技术研究

刘 坚,张 挺,陈德茜,张昌兵*,黄 卓

(四川农业大学农学院,四川雅安 625014)

摘要 从组培建立的无菌实生苗上截取腋芽和茎尖,诱导丛生芽并育成完整小植株。试验表明,以腋芽作外植体比茎尖好,较适宜的诱导培养基组成为 MS + NAA 0.1 ~ 0.2 mg/L + 6-BA 0.5 ~ 1.0 mg/L;根分化培养基为 MS + NAA 1.0 mg/L + Kt 2.0 mg/L,适宜培养条件为 25℃ 1500 Lx 光照 10 h/d 和 18℃ 黑暗 14 h/d。

关键词 川牛膝;组织培养;快速繁殖

中图分类号:R282.2 **文献标识码**:A **文章编号**:1001-4454(2006)05-0425-02

苋科川牛膝 *Cyathula officinalis* Kuan 为多年生草本,根药用,以四川天全县所产的质量最好^[1,2],素称天全牛膝。

为充分利用本地资料优势,天全县建立了川牛膝种植基地,对种子需求量日益增加,而天全产的川牛膝以 3 年生以上结出的种籽最佳,不及 3 年的育出种苗易烂^[3],导致本地种子供不应求和外地的麻牛膝 *Cyathula capitata* Moq. 流入天全县的现象,并造成天全牛膝与麻牛膝发生天然杂交,使本地品种白牛膝品质退化,严重影响商品价值。本研究通过组织培养途径,以解决品种退化和种苗规模化生产。

1 材料与方 法

试验材料从天全县采集的天全川牛膝种子,在四川农业大学药圃种植的两年生植株。

1.1 建立无菌植株 选取充实、饱满的种子,流水冲洗 30 min,洗衣粉液浸洗 4 ~ 5 min,清水清洗后,在超净工作台用 75% 的酒精振荡浸润 1 ~ 2 min,用无菌水清洗 3 次,再用 0.1% $HgCl_2$ 消毒 15 ~ 20 min,最后用无菌水清洗 5 次后,接种在 1/2 MS(含糖),6 ~ 8 粒/瓶(50 ml 三角瓶),置光照培养箱培养,每天 25℃ 和 1500 Lx 光照 10 h,18℃ 黑暗 14 h^[4]。

作者简介:刘坚(1979-),男,博士生,讲师,从事生物化学与分子生物教学、研究。

* 通讯作者:张昌兵

1.2 丛生芽诱导 以 MS 为基本培养基(蔗糖 2% 琼脂 0.8% pH5.8),添加不同种类、浓度的激素(表 1),用无菌苗茎尖及带芽茎段作外植体诱导丛生芽。

表 1 诱导丛生芽培养基的组成(单位 mg/L)

培养基代号	NAA	6-BA	NAA:6-BA
A	0.1	2	1:20
B	0.2	2	1:10
C	0.4	2	1:5
D	0.4	1	1:2.5
E	0.1	1	1:10
F	0.2	1	1:5
G	0.1	0.5	1:5

1.3 根诱导 切取丛生芽接种在 MS 培养基上(蔗糖 2% 琼脂 0.8% pH5.8),添加不同添素组合的培养基(表 2)诱导生根。

表 2 诱导根的培养基组成(单位 mg/L)

培养基代号	激素组成种类与浓度
R ₁	1.0NAA + 1.0Kt
R ₂	1.0NAA + 2.0Kt
R ₃	0.5IBA + 1.06-BA

1.4 试管苗移栽 从光照培养箱取出已生根完整小植株的三角瓶,揭开棉塞在窗台处炼苗 3~4 天,取出小植株,温水洗净根部附着的培养基,移栽在珍珠岩和蛭石(1:1)的基质中,用 1/2MS 的大量元素润湿基质,并每隔一周用 1/2MS 的大量元素浇一次,平时视基质的干湿情况,用自来水浇灌。

2 结果与分析

2.1 无菌植株的获得 种子接种培养两天后,有少量开始萌动,胚根突破种皮向培养基内伸入。第四天时,大部分种子都开始萌发。第 5~6 天,下胚轴快速向上生长,子叶伸展。第 13~14 天开始长出真叶,21~24 天即可移植。

2.2 丛生芽及根的诱导效果 无菌苗茎尖及带芽茎段接种两周后,切口处可见少量愈伤组织,再 1 周后,茎段的腋芽着生处膨大,并在茎节或紧靠节上、下部位分化出小芽点,形成不定芽。发生小芽点最多的是腋芽与叶柄着生处膨大的愈伤组织。接种的茎尖的可增粗、伸长,并在切口处长出数个芽。诱导结果见表 3。

七种培养基和两种外植体均可发生丛生芽,诱导率达 75~100%。不定芽发生数量以 D、E 诱导效果最好,但不定芽的生长情况则以 F、G 较好。

表 3 丛生芽诱导结果

培养基	平均芽数 (个/段)	最高芽数 (个/段)	丛生芽发生率 (%)
A	5	8	75
B	5	7	86
C	4	7	80
D	7	12	100
E	8	11	100
F	5	7	93
G	6	9	80

切取丛生芽接种在根诱导培养基上,经过一周的培养后,在切口处可见有一小团膨大组织,随后在该组织上长出了许多幼根。三种培养基,以 R₂ 的诱导生根的效果最好。

2.3 试管苗的移栽 在移栽的前一周内注意保持叶片的湿润,防止叶片萎蔫,经过一周的加强管理后,植株都能移栽成活。

3 讨论

由牛膝种子建立的无菌苗,植株长势健壮,易于培养诱导再生植株,为天全牛膝的快繁提供了可能的途径。

本研究设计的 7 种培养基均可能诱导无菌苗的腋芽和茎尖产生丛生芽,尤以腋芽发生不定芽快、数量多。

此外,笔者在试验过程中,也同时用田间生长的植株诱导,但产生的愈伤组织基本上都呈现玻璃化状,未能进一步分化出芽。因此天全牛膝的组织培养快繁技术,宜用无菌苗的腋芽直接诱导丛生芽和根的成苗途径,以达到快繁的目的。

注:本研究承范巧佳副教授、熊庆娥副教授和付体华教授悉心指导及论文的修改,谨谢!

参 考 文 献

- [1] 李家实. 中药鉴定学. 上海:上海科学技术出版社, 1996:67.
- [2] 向道斌,蒋超,李晓玉. 牛膝多糖对 T 淋巴细胞和天然杀伤细胞功能的影响. 中国药理学与毒理学杂志, 1994,8(3):209.
- [3] 黎万寿,陈幸,崔红梅. 川牛膝生产加工调查和开发利用. 基层中药杂志,2000,14(6):34.
- [4] 孙昌高. 药用植物种子手册. 北京:中国医药科技出版社,1989:56.

(2005-08-05 收稿)

2006-01-10 修回)