维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:1672-058X(2006)05-0469-04

箭头唐松草的离体快速繁殖

唐 坤,王光利,吴 静,李 标
(重庆邮电大学 生物信息学院,重庆 400065)

摘 要:以箭头唐松草的茎段作为外植体接种到附加不同生长物质的培养基中,诱导其成为完整植株。该种植物的外植体适宜在MS + GA(0.1 mg/L) + 6-BA(1.2 mg/L) + NAA(0.5 mg/L)培养基上分化成苗;在MS + GA (0.5 mg/L) + NAA(0.5 mg/L) +6-BA(1.8 mg/L)培养基上增殖,增殖率可达5~11;无根苗在1/2MS + 6-BA (0.1 mg/L) + NAA (0.5 mg/L) + IBA(0.3 mg/L)培养基上迅速长根,生根率100%。

关键词:箭头唐松草;离体繁殖;组织培养
中图分类号:Q 94 **文献标识码**:A

箭头唐松草(*Thalictrum simplex* L. var. brevipes Hara)又叫水黄连,在四川叫"黄脚鸡",是毛茛科唐松草属植物[1,2]。其根或全草入药,可清湿热、解毒,治黄疸、痢疾、哮喘、麻疹合并肺炎、鼻疳、目赤、热疮[3]。箭头唐松草中含有唐松西明碱(Thalsimine),可镇静、降压、减缓心跳,所含的β-别隐品碱(β-allocyyptopine)有抗心房颤动的作用[4]。箭头唐松草碱对一些肿瘤和中枢神经系统也有抑制作用[5]。由于箭头唐松草的药用价值明显,因而市场需求量在逐步上升,传统的栽培方式已不能满足,急需大量地繁殖。传统上主要采用种子育苗繁殖,又由于种子的采集困难,发芽率低,育种周期长,需要低温春化等处理工艺,育苗有较大难度,难以实现规模化。但通过离体繁殖可在短期内获得大量种苗,可为规模化种植提供苗源,为我国药用植物培育提供技术支持。

1 材料与方法

(1) 材料。箭头唐松草种子幼苗(种子来源)的茎节。试验于2005年11月至2006年4月在重庆邮电大学生物信息学院植物组织培养实验室进行。

(2) 种子萌发。选取粒大饱满的箭头唐松草种子,剥去种壳后先用0.1 mg/L GA浸泡30 min,后用蒸馏水浸泡12 h。在无菌操作台上依次用75%酒精、10% H_2O_2、8% NaClO分别处理30 s、10 min、10 min,每次消毒后都要用无菌水冲洗3次,然后接种在无激素的MS培养基上,调pH为5.8,每瓶接种1粒。

(3) 诱导、增殖与生根培养。由胚萌发出的无菌苗长至5~6 cm,切取约1.5 cm长且带有顶芽茎段,接入培养基上进行芽的诱导培养;经培养出现丛生芽,待芽苗长到约3 cm,切下转入增殖培养基;当增殖苗高达3 cm时,选取较壮的芽苗接种在生根培养基上诱导生根。

(4) 培养基。选用MS为基本培养基,生根培养基以1/2MS为基本培养基。通过调节培养基中赤霉素(GA)、6-苄氨基嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和吲哚丁酸(IBA)等激素搭配和浓度配比来选择合适的培养基。培养基均含蔗糖30 g/L、琼脂6 g/L,pH 5.8。

① 诱导培养基。MS + GA(0.1 mg/L) +6-BA(0.6~1.5 mg/L) +NAA(0.3~0.9 mg/L)共20个处理,培养15~20 d。

② 增殖培养基。MS + GA(0.5 mg/L) +NAA(0.1~0.7 mg/L) +6-BA (0.6~2.4 mg/L)共20个处

收稿日期:2006-06-10;修回日期:2006-09-10。
作者简介:唐坤(1974-),女,重庆长生人,讲师,从事中药与药用植物研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

理,培养20~25 d。

③ 生根培养基。1/2 MS + 6-BA(0.1 mg/L) + IBA(0.3 mg/L) + NAA(0.5 mg/L),培养25~30 d。

(5) 培养条件。培养温度(25±1)℃,光照强度1 500 lx左右,光照时间12~14 h/d。

(6) 移栽基质。消毒的泥炭土及腐质土混合(1:1)的基质。

2 结果与分析

2.1 芽的诱导和不同激素组合对出愈率的影响

将种子接入培养基,2周后开始膨胀,3周后有幼苗长出。30~35 d左右,种子苗长至5~6 cm高。将无菌带芽的茎段接种于诱导培养基中。不同激素的浓度对植物愈伤组织的诱导和植株再生有重要影响[6]。在保持培养基中GA浓度0.1 mg/L不变的情况下,通过施加不同浓度的BA和NAA检验对茎段愈伤化影响,结果见表1。

表1 不同浓度的6-BA、NAA配比对箭头唐松草愈伤组织诱导率的影响 %

6-BA/mg·L^{-1}	NAA/mg·L^{-1}			
	0.1	0.5	1.0	1.5
0.6	67.2	77.9	88.3	82.4
0.9	81.6	92.7	94.3	91.6
1.2	90.8	99.9	97.5	95.1
1.5	86.4	88.6	89.3	86.2

当6-BA浓度一定时,NAA浓度低于0.1 mg/L和高于1.5 mg/L时,对愈伤组织的诱导不利,只有当6-BA为2.0 mg/L,NAA浓度为0.5、1.0 mg/L时,愈伤组织诱导率最高。试验结果经F值测定表明:各处理间差异达极显著水平($F=5.275^{**}$, $F_{0.95}=3.87$),且经回归分析认为在设置的20个处理中,GA(0.1 mg/L),6-BA浓度为1.2 mg/L,NAA浓度为0.5 mg/L的激素配比时对箭头唐松草茎段的愈伤组织诱导最好。试验结果得出,培养基为MS + GA(0.1 mg/L) + 6-BA(1.2 mg/L) + NAA(0.5 mg/L) + 蔗糖(30 g/L) + 琼脂(6 g/L)时对箭头唐松草茎段愈伤诱导培养最好。

2.2 增殖培养和不同激素组合对丛生芽出芽率的影响

丛生芽的数量直接关系到组培育苗的规模,而激素在丛生芽的分化培养中起着关键作用。待芽伸长并长出绿色叶片时,将苗分割成单株,转接到增殖培养基上;7~10 d后,小芽基部膨大,很快这些突起开始诱导分化出数量不等的不定芽,芽的分化率可达90%以上。经记数测定,每块愈伤组织可产生5~11个最终可发育成苗的有效芽,不定芽产生后生长较快,从肉眼可辨开始,约2~3周即可长成高2~3 cm的无根苗,分化出3~4片幼叶。一般30~35 d继代培养1次。在继代中,可将大芽丛分割成小芽丛,也可接种在新的增殖培养基上进行扩大繁殖,且应适当增强光强度,使苗生长健壮。

表2 不同浓度的6-BA、NAA配比对箭头唐松草丛生芽分化系数的影响

6-BA/mg·L^{-1}	NAA/mg·L^{-1}			
	0.1	0.3	0.5	0.7
0.6	5.6	7.8	8.1	7.3
1.2	7.4	8.5	9.0	8.4
1.8	8.2	9.3	10.2	8.9
2.4	7.6	8.1	7.9	6.3

在继代培养中,不同的激素配比对丛生芽的出芽率有明显的影响。要保持芽苗良好的长势,且分化出芽时不长愈伤组织,特将GA的浓度控制在0.5 mg/L保持不变,通过调节6-BA和NAA的浓度来观察丛生芽的出芽率。结果如表2所示,当6-BA浓度一定时,NAA浓度低于0.1 mg/L和高于0.7 mg/L时;或当NAA浓度一定时,6-BA浓度低于0.6 mg/L和高于2.4 mg/L时,对丛生芽的分化都不利;只有当NAA浓度为0.5 mg/L时,6-BA浓度为1.8 mg/L时,出芽率最高。试验结果经F值测定表明,各处理间差异达极显著水平($F=8.69^{**}$, $F_{0.99}=6.95$)。经分析认为在设置的20个处理中,以NAA(0.5 mg/L)、6-BA(1.8 mg/L)的丛生芽分化培养基最好。试验结果证实,培养基为MS + GA(0.5 mg/L) +

维普资讯 http://www.cqvip.com

NAA(0.5 mg/L) +6-BA(1.8 mg/L) + 蔗糖(30 g/L) + 琼脂(6 g/L)时对箭头唐松草愈伤组织的丛生芽出芽率最高,培养效果最好。

2.3 生根培养和培养基的选择

待无菌苗长到3 cm左右,转接到4种不同的生根培养基上(图1),30 d后观察结果(表3)。

表3　不同培养基对箭头唐松草生根的影响

序号	培养基/(mg/L)	生根情况		
		根数/条	根长/cm	根粗细
1	1/2MS + 6-BA0.1 + NAA0.5 + IBA 0.3	5~6	0.8~1.2	+ + +
2	1/2MS + 6-BA0.05 + NAA1.0 + IBA 0.3	2~3	0.6~1.0	+ +
3	1/2MS + NAA0.5 + IBA 0.3	2~3	0.4~1.0	+
4	1/2MS + 6-BA0.1 + NAA0.5	1~3	0.3~0.6	+ + +

由表3可以看出,对箭头唐松草的生根培养影响最大的主要是6-BA、NAA、IBA的浓度及6-BA/NAA的比率条件。从培养基1号和2号的生根情况可以看出,低浓度的6-BA,NAA有利于唐松草的生根培养;比较培养基1号和3号的生根情况,6-BA与NAA浓度比的恰当对生根是有作用的;比较培养基1号和4号的生根情况,一定浓度的IBA对箭头唐松草的生根作用比较明显。比较4种培养基的生根情况可以得知,箭头唐松草的最适生根培养基为1/2MS + 6-BA(0.1 mg/L) + NAA(0.5 mg/L) + IBA(0.3 mg/L) + 蔗糖(30 g/L) + 琼脂(6 g/L)。

待根长到约1 cm左右,把培养瓶放到室外炼苗3~5 d,即可进行移栽。将苗取出,洗去附着在苗上的培养基,移栽到泥炭土及腐质土混合的基质中,注意保温、保湿,成活率可达85%。试管苗移栽3~4周后可长出新根、新叶。成活后,可按常规进行栽培管理(图2)。

图1　箭头唐松草的生根

图2　箭头唐松草组培苗的栽培

3 讨　论

对于唐松草属植物的离体繁殖已有相关报道[7],但有关箭头唐松草的离体快速繁殖目前尚未见报道。通过对箭头唐松草的组织培养研究,找出适宜的诱导、增殖、生根快繁培养基,通过利用植物组培快繁方法解决箭头唐松草目前繁殖过程中受季节局限的问题。毛茛科唐松草属,在试管苗的移植过程中要特别注意温度和光照强度。不同的激素组合对箭头唐松草诱导分化和增殖影响较大。不论是诱导,还是增殖,6-BA和NAA的浓度比对其生长和发育都很重要,浓度过高或过低都不利于不定芽的分化和增殖。

试验中,对不同时期的基本培养基进行了适当调整。在愈伤分化和增殖阶段,培养基中需要较高的矿质元素,有利于愈伤分化和茎叶的生长,所以选用了MS培养基;较低的矿质元素有利于根的生长,因此生根阶段选用了1/2 MS培养基,效果显著。箭头唐松草离体快繁的成功,为更好地开发利用该种植物资源奠定了基础。

参考文献:

[1] 王文采, 王蜀秀, 肖培根,等. 中国植物志: 第27卷[M]. 北京: 科学出版社, 1979

维普资讯 http://www.cqvip.com

[2] 江苏新医学院 编. 中药大辞典:下册[M]. 上海: 科学技术出版社, 2002
[3] 张永红. 抗癌植物唐松草研究概况[J]. 西北民族学院学报:自然科学版, 1996, 17(1): 85-88
[4] UMAROV K S. The alkaloids of *Thalictrum simplex*[J]. Khim Prir Soedin, 1967, 3(5): 353
[5] 陈琪, 徐安龙. 唐松草属植物抗癌有效成分研究进展[J]. 中山大学研究生学刊:自然科学版, 2000, 21(2): 47-50
[6] 马艳, 肖娅萍, 胡雅琴. 苦皮藤组织培养与植株再生[J]. 中草药, 2003, 34(10): 4-7
[7] 罗桂芬, 胡虹, 孙卫邦. 重瓣偏翅唐松草的离体繁殖[J]. 云南植物研究, 1996, 18(2): 361-362

Rapid micropropagation of *Thalictrum simplex*

TANG Kun, WANG Guang-li, WU Jing, LI Biao
(College of Bioinformation, Chongqing University of Posts & Telecommunications, Chongqing 400065, China)

Abstract: Stems from seedlings of *Thalictrum simplex* were cut as explants and cultured onto the different media containing different promoting growth substances, and induced to form the whole plantlet. As to the explants of *T. simplex*, adapting to grow the shoots by differentiation on the MS + GA(0.1mg/L) + 6-BA (1.2 mg/L) + NAA(0.5 mg/L) culture medium; On another culture medium, the MS + GA(0.5 mg/L) + NAA(0.5 mg/L) + 6-BA (1.8 mg/L) medium, they can propagate quickly and the multiplication rate will reach 5~11. Meanwhile, the differential shoots grow roots promptly on the 1/2MS + 6-BA(0.1 mg/L) + NAA(0.5 mg/L) + IBA(0.3 mg/L) medium. The radicant rate can reach 100%.

Key words: *T. simplex*; micropropagation; tissue culture

责任编辑:田 静

(上接第429页)

参考文献:

[1] 朱洪. 离散数学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2000
[2] 姚慕生. 抽象代数学[M]. 北京:高等教育出版社,1999
[3] 潘承洞,潘承彪. 初等数论[M]. 北京:高等教育出版社,1992
[4] KENNETH H. Elementary Theoty and Its Applications Fifth edition[M]. Rosen: Pearson Education Inc. 2005
[5] 复旦大学. 概率论[M]. 第1册. 北京:人民教育出版社,1979

On stochastic algorithm for searching generator of limited circle group

Xu Zi-shan
(School of Computer Science and Information Engineering, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

Abstract: Circle group is a mathematics model which is used widely. One of its important characteristics is that it has generator and that searching for circle generator is always the premise of the application. Based on characteristics of limited circle group generator, this paper gives a rapid stochastic searching algorithm of limited circle group generator and analyzes its operation time.

Key words: circle group; generator; stochastic algorithm; probability distribution; expectation value

责任编辑:代晓红