

# 颠茄的离体培养与快速繁殖研究

李 慧, 吴 松, 孙其文, 马承忠

(江苏联合职业技术学院 淮安生物工程分院, 江苏 淮安 223200)

**摘 要:**以颠茄的种子和种子萌发后带顶芽的幼茎段作为外植体,研究了外植体消毒方法、激素组合对其离体培养与快速繁殖的影响。结果表明:种子在 0.1%升汞+3 滴吐温-80 溶液中浸泡 10 min、茎段在 0.1%升汞溶液+2 滴吐温-80 分别浸泡 2 min 灭菌效果较好;外植体分化的适宜培养基为:1.0 mg/L 6-BA+0.05 mg/L IBA;诱导丛生芽的最适培养基 1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA+3%蔗糖;诱导试管苗生根的最适培养基为:1/2MS+0.2 mg/L IBA。

**关键词:**颠茄;组织培养;快速繁殖;激素组合

**中图分类号:**S 567.9;S 035.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)12-0192-03

颠茄 (*Atropa belladonna* L.), 俗名“野山茄”, 双子叶植物纲, 茄科多年生有毒草本植物。颠茄全草入药, 叶和根含莨菪碱和微量东莨菪碱, 可制成侵膏和配剂, 能抑制腺体分泌, 具麻醉和镇定作用, 近年来在戒除毒瘾和网瘾上取得了显著疗效, 致使对颠茄的需求激增, 但国内颠茄的野生资源和部分地区的零星种植, 不能满足市场的需求, 因此, 通过植物组织培养途径, 短期内获得大量种苗, 扩大种植规模, 以满足市场的需要。通过采用组织培养法进行快速繁殖研究, 旨在为颠茄工厂化育苗提供技术参数。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验于 2006 年 3 月至 2007 年 6 月进行。供试材料颠茄种子购自四川省重庆市, 分别以种子和种子萌发后带顶芽的幼茎段作为外植体(幼苗取自淮安生物工程分院标本园驯化池内, 2006 年 2 月种植)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 消毒 种子消毒: 选取饱满度一致的颠茄种子, 包在纱布小袋内, 挂于水龙头下, 用流水冲洗 2 h, 然后进行表面灭菌。在无菌条件下, 先用纯酒精迅速漂洗一下, 无菌水冲洗 3~4 次, 再分别采用升汞、次氯酸钠、吐温-80 及新洁尔灭 4 种灭菌剂, 进行不同灭菌剂的效果试验。然后将经表面灭菌处理的试验材料, 用无菌水冲洗 5 次后接种于诱导培养基上。培养条件: 每天光照 12 h, 光照强度 2 000 lx, 培养温度(25±2)℃。茎段消毒: 于晴天的下午选取带有顶芽和幼嫩侧芽的茎段, 用自来

水冲洗去除表面尘土, 然后进行表面灭菌。在无菌条件下, 先用 75%酒精浸泡 20~30 s, 无菌水冲洗 3~4 次, 再转入 0.1%升汞溶液+2 滴吐温-80 分别浸泡 4、2、1 min, 无菌水冲洗 5~6 次。在以上的过程中要不断摇动, 以去除附在外植体表面的气泡。用消毒滤纸吸干水珠后, 将幼茎切成 0.3 cm 长的茎段接种在诱导培养基上。

### 1.2.2 不同激素浓度对外植体分化能力的影响试验

将无菌种子或茎段分别接种于添加了不同浓度 IBA 和 6-BA 的 MS 培养基上, 30 d 后统计愈伤组织诱导率, 45 d 后统计分化成苗率。

1.2.3 丛生芽增殖培养基筛选试验 将高约 1.5 cm 的无菌苗接种于添加了 6-BA、IBA、IAA 和 NAA 4 种不同激素和生长素配比的 MS 培养基上, 20 d 后统计芽数并记录生长情况。

1.2.4 生根培养基筛选试验 取高约 1.5 cm 的无菌苗接种于添加了 IBA、NAA 和 IAA 3 种不同生长素浓度的 1/2 MS 培养基上, 培养 2 周后, 记录生根率、平均根长、平均根数及根的粗细情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 消毒剂及灭菌方法比较

2.1.1 种子消毒 植物组织培养的成功首先在于初代培养, 即能否健全在于无菌外植体, 为此进行了 5 种不同消毒方法及消毒剂的比较试验, 以便选择杀伤力小且效果较好的药剂和灭菌方法。不同消毒剂种类及消毒方法的灭菌试验结果见表 1。结果表明: 用 0.1%升汞+3 滴吐温-80 消毒 10 min 和用 2%次氯酸钠和 0.1%升汞消毒 8 min, 这 2 种方法灭菌效果较好, 没有污染, 但方法 3 对外植体的杀伤力却很强, 获得的无菌材料萌发率较低; 方法 1、2 和 4 发芽率较高, 但方法 1 和 4 污染率也较高, 消毒不够彻底。因此, 最佳消毒方案为: 用流水冲去表面尘土和部分细菌, 再用纯酒精迅速漂洗一下, 浸在

第一作者简介: 李慧(1971-), 女, 江苏宿迁人, 硕士, 副教授, 主要从事园艺作物的组织培养研究。E-mail: lihui710623@163.com。

基金项目: 淮安市科技发展计划项目(SN0638)。

收稿日期: 2007-07-09

0.1%升汞+3滴吐温-80溶液中10 min,无菌水冲洗5次,即可转入培养基中。

表1 不同灭菌剂及灭菌方法对颠茄种子消毒效果的比较

| 编号 | 灭菌剂            | 时间 /min | 接种数  | 污染数 | 污染率 /% | 发芽数 | 发芽率 /% |
|----|----------------|---------|------|-----|--------|-----|--------|
| 1  | 0.1%升汞         | 10      | 30.0 | 9   | 30.0   | 26  | 86.7   |
| 2  | 0.1%升汞+3滴吐温-80 | 10      | 30   | 0   | 0      | 30  | 100    |
| 3  | 2%次氯酸钠+0.1%升汞  | 8       | 30   | 0   | 0      | 10  | 33.3   |
| 4  | 2%次氯酸钠         | 10      | 30   | 6   | 20.0   | 24  | 80.0   |
| 5  | 0.3%新洁尔灭       | 10      | 30   | 10  | 33.3   | 8   | 26.7   |

注:接种20 d后统计结果。

2.1.2 茎段消毒 由于升汞是一种剧毒物质,即使在升汞处理完后,用无菌水冲洗7~8次,仍然有少量残留在外植体上,导致外植体死亡。经过4 min浸泡处理,外植体染菌率为0,成活率为52%。2 min浸泡茎段,外植体总染菌率为2%,总死亡数为3个;当茎段浸泡1 min后,外植体总死亡率为6个,但总染菌率高达56%(表2)。从以上数据分析表明:用4 min浸泡茎段处理,外植体染菌率虽然很低,但是死亡率过高;茎段浸泡1 min,外植体死亡率大大降低,但染菌率却很高,这2种处理方法得到的未受伤害的外植体只是其中很少的一部分,所消耗的材料太多。因此,颠茄茎段的灭菌宜用升汞浸泡2 min。观察中发现3种处理外植体在接种一周内都有不同程度褐化现象并导致生长缓慢,10 d后,成活的外植体褐化现象消失。这可能是由于使用乙醇进行表面消毒时酒精毒害所致。

表2 不同时间处理对颠茄幼茎的伤害和染菌情况

| 处理时间 /min | 接入外植体数/个 | 染菌数/个 | 污染率/% | 死亡数/个 | 总成活数/个 | 成活率/% |
|-----------|----------|-------|-------|-------|--------|-------|
| 4         | 50       | 0     | 0     | 24    | 26     | 52    |
| 2         | 50       | 0     | 0     | 4     | 46     | 92    |
| 1         | 50       | 28    | 56    | 6     | 44     | 88    |

注:接种20 d后统计结果。

## 2.2 不同激素浓度对外植体分化能力的影响

颠茄茎段接种在附加不同浓度 IBA 和 6-BA 的 MS

表5 不同激素组合和浓度对颠茄试管苗生根的影响

| 激素浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ |     |     | 无根苗数 | 生根率/% | 平均每株根数/条 | 平均根长/cm | 生根苗质量      |
|---------------------------------------|-----|-----|------|-------|----------|---------|------------|
| IBA                                   | NAA | IAA |      |       |          |         |            |
| 0.05                                  | 0   | 0   | 100  | 22    | 1.5      | 2.73    | 根细长,无侧根    |
| 0.10                                  | 0   | 0   | 100  | 93    | 3.2      | 2.87    | 根略粗,有少量侧根  |
| 0.20                                  | 0   | 0   | 100  | 100   | 4.6      | 4.14    | 根粗壮,部分根具侧根 |
| 0                                     | 0.1 | 0   | 100  | 85    | 3.1      | 3.22    | 根粗壮,部分根具侧根 |
| 0                                     | 0.2 | 0   | 100  | 57    | 2.6      | 2.65    | 根一般,无侧根    |
| 0                                     | 0   | 0.1 | 100  | 59    | 3.1      | 1.27    | 根一般,无侧根    |
| 0                                     | 0   | 0.2 | 100  | 71    | 3.5      | 2.43    | 根略细,无侧根    |
| 0                                     | 0   | 0   | 100  | 0     | 0        | 0       | 切口处形成球状突起  |

在增殖培养试验中,设计了8种不同激素及生长素浓度配比的MS培养基,将无根苗转接到各培养基上,结果见表4。由表4可知,6-BA的浓度对丛生芽的数目有较大的影响,6-BA的浓度越高,产生的丛生芽越多,但浓

培养基上后,均可不同程度的分化出芽(表3)。在6组激素浓度中,以1号、2号和4号培养基的诱导效果较好,30 d后愈伤组织诱导率达100%,45 d后愈伤组织直接分化成苗率均超过85%。6号培养基对愈伤组织也有一定的诱导作用,但作用十分缓慢,而3号高IBA浓度的培养基则对成芽起抑制作用,出现分化停滞现象,最后逐渐发黑趋于死亡。

在不同生长素浓度对外植体分化能力影响的试验中,芽的形成与不同激素用量的比例有关,在一定范围内,成芽率与6-BA/IBA呈正相关,但IBA浓度对芽的形成存在一定的限制作用。

表3 不同激素浓度对颠茄茎段分化能力的影响

| 编号 | 6-BA / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | IBA / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | 培养外植体数 |      | 成芽率 |
|----|--|---------------------------------------|--------|------|-----|
|    |  |                                       | 30 d   | 45 d |     |
| 1  | 1.0                                    | 0.05                                  | 30     | 100  | 100 |
| 2  | 1.0                                    | 0.10                                  | 30     | 100  | 88  |
| 3  | 1.0                                    | 0.20                                  | 30     | 86.7 | 24  |
| 4  | 0.5                                    | 0.05                                  | 30     | 100  | 86  |
| 5  | 0.5                                    | 0.10                                  | 30     | 60.0 | 64  |
| 6  | 0.5                                    | 0.20                                  | 30     | 46.7 | 54  |

注:愈伤组织诱导率(%)=(诱导出愈伤组织的外植体数/接入外植体数) $\times$ 100%;成芽率(%)=(分化不定芽的外植体数/接入外植体数) $\times$ 100%。

## 2.3 丛生芽增殖培养基筛选

表4 不同激素组合和浓度对颠茄丛生芽繁殖的影响

| 培养基编号 | 激素浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ |      |      |      | 增殖率  | 苗高 /cm  | 试管苗生长情况 |
|-------|---------------------------------------|------|------|------|------|---------|---------|
|       | 6-BA                                  | IBA  | IAA  | NAA  |      |         |         |
| 1     | 2.0                                   | —    | 0.10 | —    | 9.42 | 6.5~8.0 | 严重玻璃化   |
| 2     | 1.5                                   | —    | —    | 0.10 | 8.63 | 6.5~7.5 | 严重玻璃化   |
| 3     | 1.5                                   | 0.10 | —    | —    | 6.94 | 5.0~6.5 | 严重玻璃化   |
| 4     | 1.0                                   | —    | —    | 0.05 | 7.86 | 5.0~6.0 | 轻微玻璃化   |
| 5     | 1.0                                   | 0.10 | —    | —    | 7.16 | 4.0~5.5 | 生长最好    |
| 6     | 1.0                                   | —    | —    | —    | 6.83 | 4.0~6.0 | 叶片轻度卷曲  |
| 7     | 0.5                                   | 0.05 | —    | —    | 5.92 | 5.0~6.0 | 生长良好    |
| 8     | 0.1                                   | 0.05 | —    | —    | 3.24 | 4.0~5.5 | 生长良好    |
| 9     | —                                     | —    | —    | —    | 1.28 | 3.0~3.5 | 生长良好    |

注:每块材料1单芽或带有1大于2 mm的小芽统计为2,不足2 mm的芽点突起不计。表列数据为100块材料的平均值;增殖率计算式为:继代后20 d平均芽数/继代当天平均芽数。

度高,新生芽节间伸长,且形成玻璃化苗的可能性增大。单独使用6-BA时,新生的叶片卷曲、增厚,有明显的愈伤化倾向,可见在高浓度(6-BA浓度高于1.0 mg/L)或单独使用6-BA时,对芽的生长都有不良影响。当6-BA

# 小茴香嫩茎的组织培养

帕提曼·阿不都热合曼,秦 勇,玉苏甫·阿不力提甫

(新疆农业大学 园艺学院,乌鲁木齐 830052)

**摘 要:**以小茴香嫩茎为外植体,进行了组织培养研究。结果表明,适合诱导小茴香愈伤组织的最佳培养基为改良 MS 培养基+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L,诱导愈伤组织所需的时间最短,诱导率也高,形成的愈伤组织颜色浓绿,生长速度适中,质地致密;最佳生根培养基为改良 MS 培养基+6-BA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L,生根率高,生根数多,质量好。

**关键词:**小茴香;愈伤组织诱导;生根培养;最佳培养基

**中图分类号:**S 573+.3;S 035.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)12-0194-02

小茴香(*Foeniculum vulgare* Mill.),为伞形科 1a 生草本植物,叶和种子均有特殊的香味,嫩叶作为蔬菜食用,种子可作药用、调味品和香料,是一种重要的多用途芳香植物。目前对于小茴香的研究多集中在精油成份及影响因子<sup>[1-5]</sup>方面,关于小茴香的组织培养未见报道。现通过小茴香嫩茎的组织培养,获得整齐一致的小苗,以期对小茴香的生理抗旱研究提供基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料及处理

试验用小茴香(*Foeniculum vulgare* Mill.)来自新

第一作者简介:帕提曼·阿不都热合曼(1970-),女,实验师,学士,主要从事蔬菜栽培技术方面的研究。

收稿日期:2007-06-17

和 IBA 配合使用时具有较好的效果,其中以添加 1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA 的培养基为较为理想的组合,植株无玻璃化现象,新生叶片舒展宽大,叶色鲜绿,苗高为 4.0~5.5 cm,可切成 3~5 段,客观上扩大繁殖系数。

### 2.4 生根培养基筛选

将带有 1 节 2 叶的健壮苗或切段接种于添加不同生长素组合的 1/2 MS 培养基上。3 周后,试管苗的生根情况见表 5。由表 5 可看出,添加不同浓度的 IBA、NAA 和 IAA 均能改善生根情况,其中 0.2 mg/L IBA 和 0.1 mg/L NAA 均能增强根的粗壮度,但在添加 0.1 mg/L NAA 的培养基上试管苗生根率低,根数少,因此确定最佳的生根培养基为 1/2 MS+0.2 mg/L IBA。

### 2.5 练苗与移栽

9 月底至 10 月中上旬将生根幼苗连瓶搬到培养室外,揭开瓶盖,并喷适量清水,让幼苗在常温下透气锻炼 24 h。移时轻轻将幼苗取出,洗净附着在根上的培养基,栽于灭过菌的苗床或穴盘基质中,淋透水,放在小拱棚

疆维吾尔自治区吐鲁番地区。用浮选法选取饱满的小茴香种子,经自来水浸种 24 h 后,在超净工作台上用 0.1% 升汞浸泡 10 min,然后用无菌水冲洗 4~5 次,接种在 1/2 Haoglans 培养基上。小苗长至 4~5 cm 高时切取 0.5~1 cm 嫩茎,接种在不同诱导培养基上进行培养。经 15~25 d 后,切取 1.5~2 cm 的绿苗接种到生根培养基上,进行生根培养,25 d 后观察生根效果。

### 1.2 培养基的制备

1.2.1 诱导培养基 以改良 MS 为基本培养基,附加不同浓度配比的 6-BA(6-苄基氨基嘌呤)、NAA( $\alpha$ -萘乙酸),蔗糖 3%,琼脂 0.8%,培养基的 pH 值调至 5.6~5.8。

1.2.2 生根培养基 以改良 MS 为基本培养基,附加不同浓度配比的 6-BA(6-苄基氨基嘌呤)、NAA( $\alpha$ -萘乙酸),蔗糖 3%,琼脂 0.8%,培养基的 pH 值调至 5.6~5.8。

或温室内,温度保持在 24~28℃ 左右,相对湿度在 90%~95%。由于试管苗幼嫩,叶片角质层较薄,根系吸水力弱,应避免强光照射,因此必须架设荫棚,棚内透光度开始为 30%~40% 左右,逐步增至 50%~60%。每天雾状喷水 1~2 次,保持叶面湿润。每 10~15 d 用 50% 多菌灵 1 000 倍液或 50% 代森锰锌 800 倍液喷雾防治病害。幼苗长出一对或二对新叶时,可用 0.2% 的尿素液装在喷雾器内,进行喷雾施肥,施肥后再用清水喷淋 1 次,以免肥害,促进苗木生长。幼苗在苗床或穴盘中生长约 1 个月左右,生出新根抽出新叶时,即可单株移植到苗圃中。经此方法练苗后,最终成活率达 95% 以上。

### 参 考 文 献

- [1] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.
- [2] 刘艳梅,张喜春,薛玲霞.F<sub>1</sub>代杂种番茄的组织培养与植株再生[J].蔬菜,2005(5):44-46.
- [3] 曲雪艳,周庆红.樱桃番茄的组织培养与离体快繁技术研究[J].江西农业大学学报,2006(6):962-964.