维普资讯 http://www.cqvip.com

颠茄的组织培养与快速繁殖

聂振朋[1]，温明霞[2]，李晓林[1]，郭启高[1]，梁国鲁[1]
(1.西南农业大学园艺园林学院，重庆 400716；2.浙江省柑橘研究所，浙江黄岩 318020)

摘要： 以颠茄的种子为外植体，在含不同浓度IBA、NAA和6-BA的MS培养基上进行不定芽分化、增殖及生根的培养，确定了颠茄快速繁殖体系的最适培养条件，丛生芽增殖培养基为MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L；生根培养基为MS+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

关键词： 颠茄；组织培养；快速繁殖；培养基；激素

中图分类号： S567.23⁺9.035.3 **文献标识码：** A **文章编号：** 1002-1302(2006)01-0106-02

颠茄学名 *Atropa belladonna* L.，为多年生草本植物，原产于欧洲中、南部及小亚细亚[1]，20世纪30年代引进中国，浙江、北京、上海、山东等地有栽培。颠茄全草入药，近年来在戒除毒瘾和网瘾上取得了显著疗效[2]，致使对颠茄的需求激增，国内颠茄的野生资源和部分地区零星的种植，不能满足市场的需求。

目前，对颠茄的研究大多集中在药理应用方面，对颠茄的组培研究国内鲜有报道。本试验探讨颠茄的组培和快速繁殖技术，为其组培苗的工厂化生产提供技术参数。

1 材料与方法

1.1 材料

用颠茄种子（来源于湖北襄樊）作为外植体进行培养。

1.2 方法

1.2.1 培养基 试验以MS+6 g/L琼脂+30 g/L蔗糖为基本培养基，分别添加不同种类和浓度的生长调节物质，设计了增殖培养基M_1、M_2、M_3、M_4、M_5、M_6和生根培养基M_7、M_8、M_9、M_{10}、M_{11}、M_{12}（表1）。所有培养基在灭菌前调pH值为5.8。

表1 培养基的成分

培养基	培养基成分(mg/L)	培养基	培养基成分(mg/L)
M_1	MS+6-BA 0.2+NAA 0.1	M_7	MS
M_2	MS+6-BA 0.4+NAA 0.1	M_8	MS+IBA 0.1+NAA 0.1
M_3	MS+6-BA 0.5+NAA 0.2	M_9	MS+IBA 0.2+NAA 0.1
M_4	MS+6-BA 0.6+NAA 0.2	M_{10}	MS+IBA 0.4+NAA 0.2
M_5	MS+6-BA 0.8+NAA 0.3	M_{11}	MS+IBA 0.6+NAA 0.3
M_6	MS+6-BA 1.0+NAA 0.3	M_{12}	MS+IBA 0.8+NAA 0.4

1.2.2 种子处理 取适量颠茄种子用浓硫酸浸渍1 min后[3]，用自来水冲洗干净并吸干水分，在无菌条件下用0.1%升汞水溶液浸泡15 min，然后用无菌水浸洗3次，每次5 min左右，最后接种于MS培养基上，置于室温为25 ℃的组培室内进行黑暗培养至种子发芽。

1.2.3 丛生芽诱导培养 切取种子处理得到的无菌芽接种到增殖培养基上，每个处理接种10个幼苗，在室温25 ℃、光照强度1 000～1 500 lx(9～10 h/d)条件下培养10 d、20 d和30 d后，分别统计出芽的增殖倍数（增殖后的丛生芽数/原有芽数）。

1.2.4 生根培养 不定芽长至2～3 cm时自基部切下，转接到生根培养基上，每个处理接种20个芽，培养条件同上。培养7 d、14 d、21 d后，分别统计出生根率和平均生根数。

1.2.5 炼苗移栽 当颠茄的幼根在生根培养基M_8上长到2～3 cm时，在室温下炼苗2 d后，除去玻璃瓶的封口膜继续炼苗3～5 d，然后取出组培苗，用自来水冲洗去根部的培养基，转入含水量为70%左右的无菌营养土（腐殖质：珍珠岩=3：2）中，盖塑料薄膜保湿5～7 d，保持温度25 ℃左右、湿度80%～90%，14 d后移栽到大田[3,4]。

2 结果与分析

2.1 外植体的萌动与生长

将100粒颠茄种子接种于MS培养基上进行培

收稿日期：2005-06-27

作者简介：聂振朋(1976—)，男，河南南阳人，硕士，主要从事细胞生物学研究。E-mail：niezp168@126.com。通讯作者：梁国鲁。

维普资讯 http://www.cqvip.com

养,5 d 后种子开始萌动,8 d 时有部分种子发芽,15 d后总发芽种子为98 粒,另外2 粒种子最终没有发芽,发芽率为98%。

2.2 增殖培养

由表2可知,在M_1、M_2、M_3、M_4、M_5、M_6这6种增殖培养基中,M_3效果最佳,芽的增殖系数最高,达5.1倍。培养10 d芽开始增殖,芽的增殖系数随着培养时间的延长而提高,生长素对苗增殖的影响表现为:在6-BA浓度为0.2~0.5 mg/L范围内,芽的增殖系数随着生长素浓度的增高而提高;在6-BA浓度为0.5~1.0 mg/L范围内,芽的增殖系数随着生长素浓度的增高而降低,而且随着激素的增高有畸形芽形成。由试验结果可知,适宜的培养基为:MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂6 g/L;增殖周期以10 d较佳。

表2　培养基和培养时间对颠茄丛生芽增殖的影响

培养基	培养时间(d)	增殖芽数(个)	平均增殖系数
M_1	10	3	0.3
	20	7	0.7
	30	9	0.9
M_2	10	5	0.5
	20	11	1.1
	30	14	1.4
M_3	10	35	3.5
	20	46	4.6
	30	51	5.1
M_4	10	17	1.7
	20	31	3.1
	30	40	4.0
M_5	10	9	0.9
	20	21	2.1
	30	26	2.6
M_6	10	4	0.4
	20	9	0.9
	30	12	1.2

2.3 生根培养

试验结果(表3)表明,M_8、M_9和M_{10}适宜于生根培养,生根率达100%,其中以M_9培养基生根效果最佳。第7 d在M_9培养基上有9个幼苗长出根,根长2~3 cm,且基本无愈伤组织产生;随着时间推移,M_9培养基上的幼苗健壮、叶绿且根粗壮,须根多。M_7、M_{11}和M_{12}培养基上的幼苗生根较慢,尤其是M_{12}培养基上的幼苗,生根数少且苗多淡黄色,并伴随有大量愈伤组织产生。

2.4 炼苗移栽

在本试验进行的移栽过程中,成活率达到98%以上。

表3　培养基和培养时间对颠茄组培苗生根的影响

培养基	培养时间(d)	生根苗数(个)	平均生根率(%)
M_7	7	4	20
	14	11	55
	21	15	75
M_8	7	6	30
	14	16	80
	21	20	100
M_9	7	9	45
	14	19	95
	21	20	100
M_{10}	7	7	35
	14	16	18
	21	20	100
M_{11}	7	5	25
	14	11	55
	21	13	65
M_{12}	7	1	5
	14	7	35
	21	9	45

3 讨论

在植物组培快繁中,增殖系数和增殖周期一直是人们关心的问题,只有增殖速度快,在生产实践中才有应用价值。本试验表明,通过合适的细胞分裂素和生长素的浓度组合,颠茄组培可以取得理想的增殖效果。在增殖试验中,较佳的6-BA浓度为0.5 mg/L,此时颠茄组培苗的增殖系数最高。当6-BA浓度高于0.5 mg/L时,增殖系数反而降低,并且有畸形苗出现。由此可见,在颠茄组织培养中,细胞分裂素的浓度并不是越高越好,过高的激素浓度反而会使细胞的分化不均一,导致畸形植株的出现。

在颠茄组培苗的生根培养过程中,IBA浓度为0.2 mg/L时效果最佳,不仅生根快,而且基本无愈伤组织产生。从表3也可以看出,在不同的IBA浓度条件下,组培苗的生根高峰期均出现在7~14 d之间,这表明生根处理时间以7~14 d为佳,此时是炼苗移栽的适宜时期。

在颠茄的组织培养中,从外植体的处理到再生苗移栽到大田整个过程仅需50~60 d,可快速、高效地解决人工栽培所需的种苗问题。

参考文献:

[1]唐　了. 颠茄的东征西扩[J]. 沿海环境,2002,(3):27.

[2]汪开治. 有毒药用植物颠茄[J]. 植物杂志,2003,(2):26~27.

[3]庄庆文. 药用植物育种学[M]. 北京:农业出版社,1993.

[4]卢其能. 龙牙百合的组织培养和快速繁殖研究[J]. 江西农业学报,2002,14(4):43~46.