

栽培过程中出现种质退化、易遭病虫害、产质量下降的问题,为选育高产优质板蓝根品种,评价飞船搭载板蓝根发生的变异,经栽培及相关试验,结果显示搭载板蓝根的根比对照粗,主根直立较长,侧根较细,根部病害轻,根鲜重比对照增加15%~20%,折干率比对照增加15%以上;种子千粒重比对照增加9.34%,种子大小差异不明显,但种子饱满;搭载的板蓝根的根浸出物比对照增加17%以上,达到44.8%。这些结果显示了搭载板蓝根向有利方向发展的变异,是继续深入选育高产优质板蓝根品种的前提。

酯酶参与生物体内的酯代谢,并与一些酶类的修饰、激活和钝化有关^[7]。酯酶同工酶与其他形态指标相比,具有相对稳定性,重复性好。可能是由于调控酯酶同工酶的基因发生了改变,引起它们不表达或表达的时空顺序发生了改变。本试验结果显示搭载的板蓝根酯酶同工酶酶带数变少,根据酶带越多,适应力越强的观点^[8],搭载板蓝根的适应力则有待验证。过氧化物酶与多种代谢活动有关,参与细胞分化,影响一系列生理活性分子的合成与降解,还能消除活性氧和超氧阴离子自由基对细胞造成的伤害^[9]。试验表明,搭载板蓝根与对照酯酶同工酶的酶谱变化较大,而过氧化物酶同工酶酶谱差异较

少,说明利用一种同工酶酶谱的相似度来判断物种有没有发生变异是不可靠的。太空板蓝根的育种选育还有必要开展进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [2] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术. 北京: 高等教育出版社, 1997.
- [3] 何忠孝, 张树政. 电泳. 北京: 科学出版社, 1999.
- [4] 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术. 北京: 科学出版社, 1999.
- [5] 刘兰英. 中国微重力科学与空间实验首届学术讨论会论文集. 北京: 中国科学技术出版社, 1987.
- [6] 刘录祥. 空间技术育种现状与展望. 国际太空, 2001, 7: 8-11.
- [7] Devlcel Dumas C. Another development In Zeamays: Changes in Protein, Peroxidase and Esterase Patterns. J Plant Physiol, 1988, 132: 210.
- [8] CC 赖德, CB 泰勒(范培吕译). 生物学研究概说——同工酶. 北京: 科学出版社, 1987.
- [9] 夏炳乐, 彭敦耕, 刘清亮. 过氧化物酶的反应机理和应用的研究进展. 化学, 2003, 5(1): 1-3.

(2006-07-18 收稿)

2006-12-19 修回)

印尼莪术快速繁殖技术初步研究

吕平, 韦丽君, 庞新华, 俞奔驰, 苏文潘, 叶启腾

(广西亚热带作物研究所生物技术中心, 广西南宁 530001)

摘要 以印尼莪术根茎为外植体, 诱导不定芽、增殖至生根形成完整植株的试验。结果表明: 较好的不定芽诱导培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L, 芽的增殖培养基为 MS + 6-BA 1.2 mg/L + NAA 0.1 mg/L, 试管苗的生根培养基为 1/2MS + NAA 0.5 mg/L。

关键词 印尼莪术; 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(2007)04-0383-03

Primary Study on Rapid Propagation of *Curcuma xanthorrhiza*

LÜ Ping, WEI Li-jun, PANG Xin-hua, YU Ben-chi, SU Wen-pan, YE Qi-teng

(Biotechnology Center, Guangxi Institute of Subtropical Crops, Nanning 530001, China)

Abstract Using the rhizome of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. as explant to induce the adventitious bud, multiplication and radication. The results showed that the inducing and differentiating of bud was better on MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L, the multiplication of bud was on MS + 6-BA 1.2 mg/L + NAA 0.1 mg/L and the radication was on 1/2MS + NAA 0.5 mg/L.

Key words *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.; Tissue culture; Rapid propagation

印尼莪术 *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. 是常用的中药,具有行气破血、消食化积之功效,被称为血中之气药,其根、茎含姜黄类化合物、莪术酮和挥发油^[1]。姜黄素是姜黄类化合物中的主要活性物质,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗微生物、降脂及清除自由基等作用^[2]。此外,还能治疗胃病,作调味品、色素、香料、化妆品和杀虫剂。

常规栽培主要用块根、根茎,繁殖系数低,耗种量大,且病害严重,品质不断下降。本研究以印尼莪术根茎为材料,以不同种类、浓度的植物生长调节物质探讨诱导分化、增殖和生根的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 印尼莪术根茎,材料采自广西亚热带作物研究所种质资源圃。

1.2 方法

1.2.1 培养基及培养条件:以 MS 或 1/2MS 为基本培养基,添加 3% 蔗糖,0.6% 琼脂,根据不同培养阶段需要,附加不同浓度细胞分裂素(6-BA)与生长素类(NAA)物质,pH 值调到 5.6~5.8。于光照培养箱里培养,白天温度控制在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$,晚上温度控制在 $19 \pm 1^\circ\text{C}$,光照时间 12 h/d,光照强度 1500~2000 lx。

1.2.2 无菌外植体的获得:选取健康、强壮印尼莪术根茎,自来水冲净表面泥土,饱和中性肥皂水浸泡 5~10 min,流水冲洗 2~3 h,移到超净工作台上用 75% 酒精消毒 30~50 s,无菌水冲洗 1~2 次,再用 0.1% 升汞消毒 12~15 min(滴加 2~3 滴吐温-80),然后用无菌水冲洗 4~5 次,每次冲洗时间 2~3 min,无菌滤纸吸干水分,作诱导分化接种材料用。

1.2.3 不定芽诱导分化培养基选择:将无菌外植体根茎切成 $0.8 \times 0.8 \text{ cm}^2$ 的小块,接种到附加不同种类、浓度植物生长调节物质的 MS 培养基上培养,每处理接 20 瓶,每瓶接种 1 块。30 d 统计芽的诱导情况。

1.2.4 不定芽增殖培养基选择:经初代培养分化出丛生芽后,切割成单芽,转入以 MS 为基本培养基,附加不同种类、浓度植物生长调节剂。每处理接

20 瓶,每瓶接种 1 个,30 d 统计芽的增殖情况。

1.2.5 试管苗生根培养基选择:丛生芽经继代增殖培养后,将长势一致、健壮的无根苗(苗高 2.0~3.0 cm),分割,转接到以 MS 或 1/2MS 为基本培养基,附加不同浓度的 NAA,生根培养基上。每处理接 20 瓶,每瓶接种 1 个,30 d 统计生根情况。

1.2.6 试管苗移栽:试管苗生根后,当苗长到 3.0~4.0 cm 高时,先在室温下,驯化 7 d,后打开瓶盖,于自然光炼苗 3~4 d。用自来水洗净根部的培养基,移栽到消毒过的河沙基质中。

2 结果与分析

2.1 不定芽诱导 试用了 4 种培养基(L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4),培养 7 d 时, L_3 培养基中的外植体开始萌动,15 d 形成健壮不定芽多至 4~5 个,几乎外植体在恢复生长过程所产生的芽点都能分化; L_2 培养基 10 d 也开始萌动; L_4 培养基培养 9 d 后于外植体切口处愈伤化,第 15 d 开始有 1~3 个部位向外突出,形成黄白色或绿色芽点; L_1 培养基虽能萌动,但所需时间较长,约 20 d,可分化出 2~3 芽,但部分芽的叶片不完全展开,待长至 1~2 cm 即停止生长,若不及时更换培养基就会慢慢枯死。

30 d 统计数据(表 1)显示:4 种培养基均能诱导出不定芽,其中以 L_3 培养基(MS + 6-BA1.0 + NAA0.5)诱导率达 80%,且不定芽较多、粗壮,生长也较快,是最适合印尼莪术不定芽的诱导、分化。其余三种培养基诱导出的不定芽长势稍差。从表 1 还可看出细胞分裂素 6-BA 对芽诱导、分化起着关键作用。

2.2 不定芽继代增殖 继代增殖试验,设计了 13 种培养基除 L_{17} 培养基外,其它所有的培养基都能增殖、分化出新丛生芽。从表 2 可以看出:①6-BA 在继代增殖中是必须的,且以 1.2 mg/L 分化出的丛生芽数量多,随着 6-BA 浓度的增大,分化出的不定芽反而降低或产生抑制作用;②6-BA 与 NAA 配合使用,分化出的芽数量多、粗壮、生长好,以 NAA 浓度为 0.1 mg/L 较适宜;③13 种培养基中,以 L_6 培养基(MS + 6-BA1.2 + NAA0.1)最佳,分化出的芽达

表 1 植物生长调节物质与印尼莪术不定芽诱导(30 d)

| 培养基号 | 基本培养基 | 植物生长物质(mg/L) | | 接种外植体数(块) | 产生不定芽外植体数(块) | 不定芽诱导率(%) | 芽生长状况 |
|-------|-------|--------------|-----|-----------|--------------|-----------|-------------|
| | | 6-BA | NAA | | | | |
| L_1 | MS | 0.8 | 0.1 | 20 | 9 | 45 | 生长缓慢 |
| L_2 | MS | 1.0 | 0.1 | 20 | 13 | 65 | 生长一般 |
| L_3 | MS | 1.0 | 0.5 | 20 | 16 | 80 | 生长良好,可产生丛生芽 |
| L_4 | MS | 2.0 | 0 | 20 | 14 | 70 | 芽生长慢 |

表2 不同植物生长调节物质对印尼莪术不定芽继代增殖的影响(30 d)

| 培养基号 | 基本培养基 | 植物生长物质(mg/L) | | 接种芽数(个) | 增殖不定芽总数(个) | 平均增殖系数 | 增殖芽生长状况 |
|-----------------|-------|--------------|-----|---------|------------|--------|-------------|
| | | 6-BA | NAA | | | | |
| L ₅ | MS | 1.0 | 0.1 | 20 | 85 | 4.25 | 一般,生长良好 |
| L ₆ | MS | 1.2 | 0.1 | 20 | 122 | 6.10 | 粗壮,生长快 |
| L ₇ | MS | 1.5 | 0.1 | 20 | 83 | 4.15 | 一般,生长良好 |
| L ₈ | MS | 2.0 | 0.1 | 20 | 70 | 3.50 | 瘦弱,生长缓慢 |
| L ₉ | MS | 1.0 | 0.2 | 20 | 82 | 4.10 | 一般,生长良好 |
| L ₁₀ | MS | 1.2 | 0.2 | 20 | 105 | 5.25 | 较粗壮,生长较快 |
| L ₁₁ | MS | 1.5 | 0.2 | 20 | 80 | 4.00 | 一般,生长正常 |
| L ₁₂ | MS | 2.0 | 0.2 | 20 | 65 | 3.25 | 瘦弱,生长缓慢 |
| L ₁₃ | MS | 1.0 | 0 | 20 | 77 | 3.85 | 比较弱,生长慢 |
| L ₁₄ | MS | 1.2 | 0 | 20 | 80 | 4.00 | 一般,生长良好 |
| L ₁₅ | MS | 1.5 | 0 | 20 | 75 | 3.75 | 比较瘦弱,生长慢 |
| L ₁₆ | MS | 2.0 | 0 | 20 | 50 | 2.50 | 瘦弱,生长缓慢,分化少 |
| L ₁₇ | MS | 0 | 0.1 | 20 | 20 | 1.0 | |

122个,且粗壮,增殖系数达6.10;L₁₀培养基(MS+6-BA1.2+NAA0.2)也较好,增殖系数达5.25。在这些培养基中,很少有愈伤组织形成。将形成的新芽用原增殖培养基继代培养,可进一步增殖,且增殖系数相似。

2.3 试管苗生根诱导与移栽 当试管苗长到2~3 cm高时,将从生芽从基部单个切割,转接于不同生根培养基上,7 d后有的开始生根,20 d后长出粗壮根系。30 d统计生根情况见表3,不同培养基组合均能诱导生根,除L₁₈培养基外,30 d后其它培养基诱导率均达100%,但对根启动时间、数量和粗细等有很大的差异。使用NAA可以较好地诱导生根,且随着NAA浓度升高,根系粗壮,发育良好。当NAA浓度相同时,1/2MS比全量效果好。本试验以1/2MS+NAA0.5为最佳的生根培养基。

表3 不同培养基对印尼莪术试管苗生根的影响(30 d)

| 培养基号 | 培养基 | 接种苗数(株) | 生根数(株) | 生根率(%) | 平均根(条) | 试管苗根长势 |
|-----------------|--------------|---------|--------|--------|--------|--------|
| L ₁₈ | MS | 20 | 2 | 10 | 0.2 | 细弱 |
| L ₁₉ | MS+NAA0.1 | 20 | 20 | 100 | 2.9 | 细长 |
| L ₂₀ | MS+NAA0.2 | 20 | 20 | 100 | 3.1 | 细长 |
| L ₂₁ | MS+NAA0.5 | 20 | 20 | 100 | 4.29 | 丛根,粗壮 |
| L ₂₂ | 1/2MS+NAA0.1 | 20 | 20 | 100 | 3.22 | 细长 |
| L ₂₃ | 1/2MS+NAA0.2 | 20 | 20 | 100 | 3.75 | 粗壮 |
| L ₂₄ | 1/2MS+NAA0.5 | 20 | 20 | 100 | 6.21 | 丛根,粗壮 |

试管苗生根后,当苗长到3.0~4.0 cm高时,先在室温下培养、驯化7 d,后打开瓶盖,于自然光炼苗

3~4 d,取出试管苗,用自来水洗净根部的培养基,移栽到消过毒的河沙基质,并覆盖好塑料薄膜,控制好温湿度,约10 d后揭去薄膜。在移植苗中,以L₂₄培养基培育出的苗,成活率达90%以上,L₂₃也达80%以上。

3 讨论

印尼莪术离体快繁,以MS为基本培养基,添加适量外源激素6-BA和NAA,很少有愈伤组织形成,且较易形成根。在各个过程中,须及时更换培养基,否则也会形成少量根。

印尼莪术快速繁殖较适宜的外植体根茎,用诱导分化培养基MS+6-BA1.0+NAA0.5;适宜芽增殖培养基为MS+6-BA1.2+NAA0.1;适宜试管苗生根培养基为1/2MS+NAA0.5。

利用组织培养技术这一有效途径,不仅操作简单,繁殖速度快,生产成本低,还可培育大量优质种苗。

参 考 文 献

- [1] 李校坤,姚崇瞬,黄亚东,等. 现代技术在莪术研究中的应用. 药物生物技术,2005,12(2):134-137.
- [2] 王翠珍,魏丕纪,李芹. 莪术药理作用及质量分析. 山东医药工业,1999,18(3):29.

(2006-06-01 收稿)