

获得最佳的分子鉴定程序。

参考文献:

- [1] 连文琰,肖培根. 雪莲原植物的调查整理 [J]. 中药材, 1985, 6: 19.
- [2] 杨永昌. 藏药志 [M]. 西宁: 青海人民出版社, 1992.
- [3] 李观海,刘 法,赵荣春. 雪莲对大鼠实验性关节炎急性炎症的作用 [J]. 药理学学报, 1980, 15(6): 368-370.
- [4] 王义权,徐珞珊,徐国钧,等. DNA分子遗传标记鉴别在生药鉴定中的作用前景 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(10): 583-586.
- [5] Yuan Y M, Kupfer P. Molecular phylogenetics of the subtribe Gentianinae inferred from the sequences of internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA [J]. P1 Syst Evol, 1995, 196: 207-226.
- [6] Shaw P C, But P H. Authentication of *Panax* species and their adulterants by random-primer polymerase chain reaction [J]. Planta Med, 1995, 61: 466-469.
- [7] Cai Z H, Li P, Dong T T X, *et al*. Molecular diversity of 5S-rRNA spacer domain in *Fritillaria* species revealed by PCR analysis [J]. Planta Med, 1999, 65: 360-364.

天麻的组织培养及快速繁殖

蔡永萍¹, 于力文¹, 张鹤英¹, 陈帮国^{2*}

(1. 安徽农业大学 生物工程系, 安徽 合肥 230036; 2. 安徽省金寨县科委, 安徽 金寨 237300)

摘要: 目的 利用组织培养方法快速繁殖成米麻作为种麻, 为寻找出一条简便可行的快繁天麻种麻的新途径提供理论依据。方法 天麻块茎或茎尖无菌离体培养, 米麻块茎诱导培养基为 1/2 MS+ 6-BA 1 mg/L+ NAA 0.5 mg/L+ 香蕉 50 mg/L; 箭麻茎尖诱导培养基为 1/2 MS+ 6-BA 2 mg/L+ NAA 0.2 mg/L。结果 小米麻经 50 d 无菌培养后开始生长出新米麻, 70 d 后原小米麻块茎上生长出多个分枝的新米麻; 箭麻茎尖超过 140 d 组织培养, 茎尖分化, 诱导形成原球茎, 超过 160 d 培养原球茎长大并开花。结论 天麻可以用组织培养方法快速繁殖成米麻作为种麻。

关键词: 天麻; 块茎; 茎尖; 组织培养; 原球茎

中图分类号: R567 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)05-0445-02

Tissue culture and clonal propagation of *Gastrodia elata*CAI Yong-ping¹, YU Li-wen¹, ZHANG He-ying¹, CHEN Bang-guo²

(1. Department of Biotechnology, Anhui Agricultural University, Hefei Anhui 230036, China; 2. Committee of Science and Technology of Jinzhai County in Anhui Province, Jinzhai Anhui 237300, China)

Abstract **Object** To develop a new method for the culturing of *Gastrodia* Bl. *in vitro*, which may provide the theoretical basis of clonal propagation for its rapid reproduction. **Methods** The small stem tubers and the stem buds were used as explants to culture *in vitro* under sterile conditions. In the 1/2 MS medium containing 6-BA 1 mg/L, NAA 0.5 mg/L and banana 50 mg/L, the small stem tuber was induced to form protocorm. In the 1/2 MS medium containing 6-BA 2 mg/L and NAA 0.2 mg/L, the stem bud was induced to form protocorm. **Results** Each stem tuber formed a new protocorm within 50 d, which can be separated again to form rosette protocorm within 70 d. The stem bud was cultured *in vitro* to form the protocorm within 140 d. The protocorm bloomed within 160 d. **Conclusion** The protocorm of *G. elata* may be induced from the stem tuber and stem bud. By subdividing these rosette protocorms a virtually indefinite clonal propagation can be achieved.

Key words *Gastrodia elata* Bl.; stem tuber; stem bud; tissue culture; protocorm

天麻 *Gastrodia elata* Blume 是兰科植物中比较特殊的植物, 为兰科真菌营养型多年生草本植物, 没有根和绿叶, 自然条件下不能独立生存, 主要靠消化外部侵入的蜜环菌 *Armillariella mellea* 菌丝体过异养生活, 俗称赤箭、定风草、仙人脚等。自古以来均被列为名贵中药材, 以地下茎的干燥体入药, 不仅可

治疗多种疾病, 而且还是极好的高级保健滋补食品。

近年来, 虽然天麻已由野生采挖发展成为人工栽培, 但随着药材部门需求量增多和出口量的增大, 加之人工栽培一直采用无性繁殖方法栽培, 所用的种麻已延用了十几代, 乃至几十代, 因长期多代繁殖, 带病毒植株逐年增多, 引起品种退化和产量下

* 收稿日期: 2000-07-18

作者简介: 蔡永萍 (1964-) 女, 安徽省太湖人, 副教授。1988年毕业于安徽师范大学生物系植物生理专业, 获农学硕士学位。同年分配到安徽农业大学生物工程系工作。主要从事植物生理生化、植物生物技术的研究工作。E-mail: cyphngc@mail.hf.ah.cn

降。目前解决的方法一般只能采用有性繁殖方法来获得优质天麻品种,以达到天麻高产稳产的目的,有性繁殖难度比较大,生产周期长,见效较慢,普及受到局限。如何解决天麻品种退化和产量下降是目前产麻区面临的一大难题。

周铨^[1]指出,天麻种子萌发时无需蜜环菌或其它菌类的参与,萌发所需的营养可由周围溶液的渗入与胚细胞中贮存的脂肪、多糖等物质提供。庄毅^[2]报道,天麻可以从土壤中吸收部分营养物质。这都显示天麻除以蜜环菌作为第一营养源外,还可以从土壤中渗透吸收第二营养源。本文采用离体培养法诱导米麻和箭麻茎尖快速繁殖成新米麻做为种麻,为天麻脱病毒种麻的生产、解决天麻品种退化和产量下降,研究出一条简便可行的快繁天麻种麻的新途径,提供理论依据。同时探讨天麻第二营养源,了解天麻营养生长。

1 材料与方法

1.1 实验材料:由安徽省金寨县麻种厂提供正在生长的米麻和优质箭麻,箭麻单重 150 g 以上。

1.2 试验方法

1.2.1 从田间取回正在生长的小米麻,长 0.5~1.5 cm,粗 0.1~0.5 cm,先用自来水冲洗,去除泥土。用 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 10 min,再用无菌水冲洗 6~7 次,在超净工作台上接种到下列培养基(2)中,置于 (25±2) °C 培养箱中暗培养。

1.2.2 箭麻先用自来水冲洗,去除泥土。用 70% 酒精棉球擦一遍,再用 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 15 min,最后用无菌水冲洗 6~7 次,在超净工作台上用解剖刀将茎尖切成长 0.5~1.0 cm 左右的小块,接种到下列培养基中,置于 (25±2) °C 培养箱中暗培养。

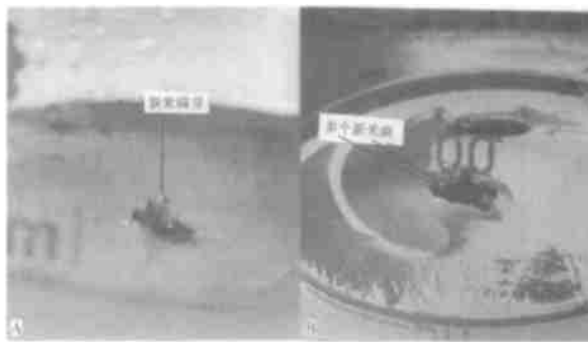
培养基: (1)诱导培养基: 1/2 MS+ 6-BA 2 mg/L+ NAA 0.2 mg/L (2)增殖培养基: 1/2 MS+ 6-BA 1 mg/L+ NAA 0.5 mg/L+ 香蕉 50 mg/L

以上培养基均含 3% 蔗糖, 0.8% 琼脂, pH 值为 5.5~6.0 培养基经过多次预备实验筛选。

2 结果与分析

2.1 小米麻培养成新米麻:将小米麻无菌接种到(2)号培养基中,50 d 后小米麻芽开始生长,芽呈黄白色,质嫩,长势旺盛,在原来米麻块茎上生长出新米麻(图 1-A); 70 d 后原小米麻块茎上生长出多个分枝的新米麻(图 1-B),和米麻在野外生长状态相似。

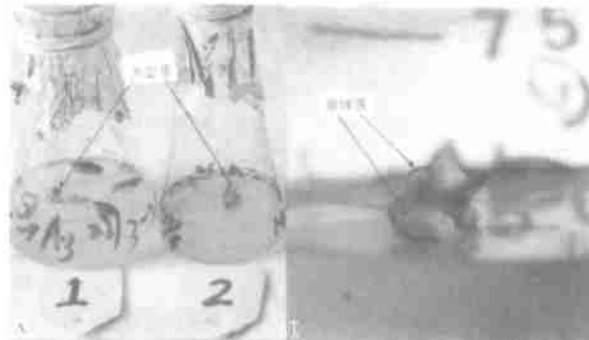
2.2 箭麻茎尖诱导成原球茎开花:箭麻茎尖接种到(1)号培养基上,20 d 左右,茎尖芽体启动、膨大,开始分化成不定芽(图 2-A);当芽长到 0.5~1.0 cm



A 形成的新米麻 B 形成的多个新米麻

图 1 小米麻培养成新米麻

时,将分化的不定芽转接到(2)号培养基中进行增殖生长,以待进一步分化。大约 60 d 后,不定芽间开始形成原球茎,90 d 后原球茎长大,能看到清楚的原球茎(图 2-B); 160 d 后,原球茎长大,并开花。明显看到天麻花为两性花,花瓣合生,顶部有 5 个不明显的花瓣合生沿,雄蕊和雌蕊合生成合蕊柱。



A 茎尖诱导成不定芽 B 芽形成原球茎

图 2 箭麻茎尖诱导成原球茎

天麻为兰科真菌营养型多年生草本植物,没有根和绿叶,自然条件下不能独立生存,主要靠消化外部侵入的蜜环菌菌丝体过异养生活。天麻的组织培养研究工作报道极少,用米麻诱导培养成小米麻的工作和刘能俊的报道一致^[3]。而箭麻茎尖诱导成原球茎并开花未见报道。箭麻茎尖诱导成原球茎并开花,进一步证明了天麻除以蜜环菌作为第一营养源外,还可以吸收第二营养源,这为天麻的无性繁殖和第二营养源的研究建立了基础,为天麻茎尖脱毒种麻的生产探索了方法。同时,采用组织培养方法将天麻块茎培养为种麻,为生产上快速繁殖天麻种麻提供了新途径。

参考文献:

- [1] 周 铨. 天麻形态学 [M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [2] 庄 毅. 天麻的第二营养来源研究 [J]. 云南植物研究, 1983, (5): 83-85.
- [3] 刘能俊. 天麻的离体培养 [J]. 植物生理学通讯, 1996, 32 (3): 189-191.