

桔梗种质资源间组织培养特性的差异性研究

李美善, 吴京姬, 吴基日

(延边大学 农学院农学系, 吉林 龙井 133400)

摘要: 研究用 $N_6 + NAA 0.5 \text{ mg/L} + 6-BA 1.0 \text{ mg/L}$ 培养基, 接来自中国各地、朝鲜、韩国、日本等地的 25 份桔梗种质资源的无菌苗的叶片, 比较桔梗种质资源间组织培养特性的差异。结果表明: 从接种的叶片中分化出小苗的百分率变化范围在 42%~90%, 多数分布在 61%~90%, 培养物的鲜重、干重及干重/鲜重比也一定程度上反映种质资源间的差异。

关键词: 桔梗; 组织培养特性; 种质资源间差异

中图分类号: S 567.23⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)03-0192-03

桔梗(*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC)为桔梗科桔梗属植物, 别名铃铛花, 包袱花, 道拉基(朝鲜语), 和尚帽等。其根为著名的中药材, 具有宣肺、祛痰、散寒、镇咳、消肿、排脓等功效^[1]。桔梗根还可以制成美味的菜肴, 在中国东北地区及日本、韩国、朝鲜等东亚国家是常用蔬菜之一。此外, 日本学者还将桔梗的提取物用于化妆品和浴液中^[2]。

近年来, 一些学者对桔梗的组织培养作了大量研究^[3-7], 但组织培养效率的报道有所不同。作者认为, 桔梗组织培养效率的这些差异除了所用的培养基、激素种

类和水平、所接的外置体、培养条件等差异外, 还有可能与所用材料的不同有关。研究采用中国各地、朝鲜、韩国、日本等地收集到的 25 份不同来源的桔梗种质资源为试材, 探讨桔梗种质资源间组织培养特性的差异, 旨在为桔梗组织培养提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

来自中国各地、朝鲜、韩国、日本的 25 份桔梗种质资源(详见表 1)。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基 试验用桔梗组织培养中经胚状体的诱导直接分化成小苗的培养基^[8-9], 其具体配方为: $N_6 + NAA 0.5 \text{ mg/L} + 6-BA 1.0 \text{ mg/L}$ 。培养基配制后加琼脂粉 9.0 g/L、蔗糖 50.0 g/L, pH 调为 5.8。培养基注入 50 mL 三角瓶, 每瓶注入 20 mL, 瓶口用锡箔纸封盖, 在 121℃条件下灭菌 15 min 备用。

第一作者简介: 李美善(1964), 女, 实验师, 主要研究方向为中草药遗传育种。

通讯作者: 吴基日。E-mail: wujiri@yahoo.com.cn.

基金项目: 吉林省科技厅资助项目(20040553), 延边大学重点课题资助项目[延大科合字(03)第 07 号]。

收稿日期: 2008-01-08

Comparative Study of Methods in Isolation Total DNA From *Foeniculum vulgare* Mill.

LI Hai-bo

(Yingdong College of Bioengineering, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005)

Abstract: The total DNA was isolated from *Foeniculum vulgare* Mill. with methods of low pH medium with high salt method, urea method, CTAB method, SDS method, PVP method, and CTAB-SDS method etc. The results showed that the method of SDS was best method of extracting DNA.

Key words: *Foeniculum vulgare* Mill.; Total DNA; Isolating methods; Comparative study

1.2.2 外植体的接种 取日龄 30 d 的无菌苗的叶片切成大小为 0.5 cm×0.5 cm, 接在培养基上, 每三角瓶接 5

片, 每一份种源接 25 瓶, 共接 125 片。接种后在 25 ℃、光照为 12 ~ 14 h/d、光强约为 1 600 lx 的条件下培养。



图1 叶片中分化出的小苗

表 1 桔梗组织培养特性的种质资源间差异

种子来源	接种数	分化率	鲜重	干重	干重/鲜	鲜重/	干重/
	/片	/ %	/g	/g	重/ %	片(mg)	片(mg)
1. 金科一号(安徽)	100	90	15.0	1.45	9.7	167	16
2. 太桔一号(安徽)	100	74	14.7	1.32	9.0	199	18
3. 临甸(山东)	100	77	13.2	1.16	8.8	171	15
4. 内蒙 1	100	68	9.6	0.94	9.8	141	14
5. 内蒙 2	100	74	7.3	0.86	11.8	98.6	12
6. 内蒙 3	100	69	10.1	1.02	10.1	147	15
7. 新宾(辽宁)	100	68	10.9	1.10	10.1	160	16
8. 海林(黑龙江)	100	81	12.5	1.55	12.4	154	19
9. 宁安(黑龙江)	100	77	13.0	1.24	9.5	168	16
10. 美里紫(日本)	100	61	11.3	1.24	11.0	184	20
11. さみだれ(日本)	100	86	14.9	2.70	18.1	173	31
12. 韩国白花	100	90	15.6	1.56	10.0	173	17
13. 韩国紫花	100	63	10.6	1.07	10.1	169	17
14. 朝鲜白花 1	100	74	12.1	0.96	7.9	163	13
15. 朝鲜白花 2	100	69	13.3	2.13	16.0	193	31
16. 勇新(吉林)	100	78	19.0	1.78	9.4	244	23
17. 省科委(吉林)	100	83	19.6	1.76	9.0	236	21
18. 通化 1(吉林)	100	59	9.5	1.16	12.2	162	20
19. 通化 2(吉林)	100	70	8.5	0.85	10.0	121	12
20. 敦化 1(吉林)	100	84	11.9	1.18	9.9	142	14
21. 敦化 2(吉林)	100	70	13.1	1.29	9.8	188	18
22. 安图 1(吉林)	100	48	9.5	0.98	10.3	198	20
23. 安图 2(吉林)	100	42	8.4	0.89	10.6	200	21
24. 佐家(吉林)	100	78	16.3	1.46	9.0	209	19
25. 吉林农大	100	80	15.0	1.53	10.2	189	19

1.2.3 调查内容及方法 培养过程中去掉污染的三角瓶, 调查时随机取不污染的 20 个三角瓶的 100 个外植体。接种 30 d 后调查每一种质资源的分化苗数并求分化率。调查结束后立即把每一种质资源的培养物从三角瓶中取出来, 以每一种源为一个测定单位, 用电子天平称鲜重, 在 90 ℃条件下烘干 4 h 后称干重。相关系数的计算用 SPSS 程序。

2 结果与分析

接种 7 d 后, 叶片周围伤口处的细胞增殖并逐渐变

黄, 并直接分化出小苗, 15 d 后已分化出的小苗周围继续分化出小苗, 30 d 后逐渐变成丛生苗, 每一个小苗丛中的小苗数不等, 少则几棵, 多则十几棵(图 1)。

接种 30 d 后 25 份种质资源分化率调查结果见表 1。25 份种源中分化率最高的是 1 号“金科一号”和 12 号“韩国白花”都达到了 90%, 其次是 11 号日本引进的“さみだれ”为 86%, 分化率最低的是 23 号“安图 2”为 42%, 但分化率主要集中在 61%~90%之间(图 2)。

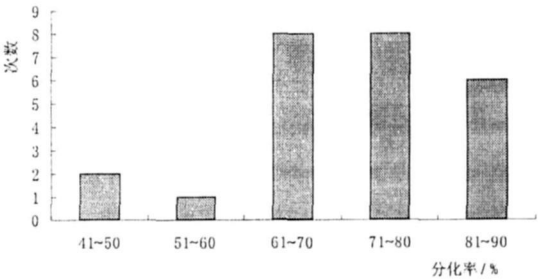


图 2 分化率的次数分布图

表 2 桔梗组织培养物各性状间的相关系数(n=25)

培养物	分化率	鲜重	干重	鲜重/片	干重/片
鲜重	0.628 **				
干重	0.482 *	0.792 **			
鲜重/片	-0.023	0.761 **	0.624 **		
干重/片	-0.178	0.419	0.773 **	0.696 **	
干重/鲜重	-0.195	-0.286	0.347	-0.198	0.558 **

注: *, **: 分别为 0.05、0.01 水平上有差异。

为了探讨培养物生长量的种质资源间差异, 测定的培养物鲜重最高的是 17 号“省科委”为 19.6 g, 其次是 16 号“勇新”为 19 g, 最低的是 5 号“内蒙 2”, 为 7.3 g; 培养物干重最高是 11 号日本引进的“さみだれ”为 2.70 g, 其次是 16 号“勇新”为 1.78 g, 最低的是 19 号“通化 2”为 0.85 g。分化率与鲜重、干重之间的相关系数依次为 $r=0.628$ 和 $r=0.482$ (表 2)。这是因为, 分化率高表明分化

出的叶片数多, 培养物的鲜重和干重也会增高所致。

为了进一步准确地分析培养物生长量的种质资源间的差异, 求每块叶片中长出来的培养物的鲜重和干重(表 1 中的鲜重/片、干重/片), 每块叶片中长出来的培养物的鲜重最高的是“勇新”为 244 mg, 其次是“省科委”为 236 mg, 最低的是“内蒙 2”为 98.6 mg; 每块叶片中长出来的培养物的干重最高的是“さみだれ”和“朝鲜白花 2”为 31 mg, 其次是 16 号“省科委”为 23 mg, 最低的是“内蒙 2”和“通化 2”为 12 mg。分化率和鲜重/片、干重/片之间有微弱的负相关, 相关系数依次为 $r = -0.023$ 和 $r = -0.178$, 说明分化率越高, 因培养物的密度大, 所以每块叶片中分化出来的培养物的鲜、干重有所下降。虽然分化率和鲜重/片、干重/片之间有微弱的负相关但都没有达到显著水平, 说明培养物鲜重/片、干重/片之间的差异主要来之种质资源之间的差异。

培养物的干重/鲜重比最高的是 11 号“さみだれ”为 18.1%, 其次是宁安为 12.4%, 最低的是 14 号“朝鲜白花 1”为 7.9%。培养物的鲜重和干重之间的相关系数 $r = 0.792^{**}$, 虽然有极显著的相关性, 但相关系数小于 1, 说明培养物的干重/鲜比也和和田间生长植株的干重/鲜重比一样, 有一定程度的种质资源之间差异。干重/鲜重比与分化率之间有微弱的负相关关系, 其相关系数为 -0.195 (表 2), 没有达到显著水平。

3 讨论

关于组织培养中供体植株的生长条件和生理状态影响愈伤组织的诱导和分化方面的报道较多^[8]。试验

供试的 25 份桔梗种质资源的生长条件和生理状态不能肯定处于最佳状态, 但相同条件下反映出的组织培养特性的种质资源之间的差异是真实存在的。它对今后桔梗的组织培养有一定的参考价值。

桔梗体细胞组织培养中分化率、培养物的生长量等特性有种质资源之间的差异, 这些差异和在田间表现的各性状之间有无相关性是今后继续探讨的问题。

预备试验中遇到过市场上流通的桔梗种子质量影响培养出来的无菌苗的生长状态, 影响试验结果, 今后在桔梗无菌苗的培养中应注意保证供试种子的质量。

参考文献

- [1] 刘德军, 马维希. 桔梗 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2001: 1-5.
- [2] 舒雯, 搞山林. 桔梗研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(2): 4-6.
- [3] 李晶, 李世承, 李金祥. 桔梗叶片、茎段的离体培养和植株再生 [J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(2): 107.
- [4] 李玉芬, 弼晓菊. 桔梗愈伤组织诱导及植株再生研究 [J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1998, 14(1): 81-83.
- [5] 舒雯, 搞山林. 桔梗的组织培养 [J]. 植物资源与环境学报, 2001, 10(3): 63-64.
- [6] 向邓云. 桔梗愈伤组织诱导及不定芽形成研究 [J]. 重庆师范学院学报(自然科学版), 2001, 18(2): 92-94.
- [7] 杨耀文, 钱子刚, 李保军, 等. 药用植物桔梗的组织培养初步研究 [J]. 云南中医学院学报, 2002, 25(4): 9-10.
- [8] 吴京姬, 吴基日, 严一字, 等. 培养基组成对桔梗组织培养的影响 [J]. 延边大学农学学报, 2006, 28(1): 18-23.
- [9] 吴京姬, 吴基日, 严一字, 等. 提高桔梗组织培养效率的研究 [J]. 安徽农业科学, 2007(12): 3565, 3572.
- [10] 胡含, 陈瑛. 植物体细胞遗传与作物改良 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1988: 27-35.

Differences on Culture Characteristics of Germ Plasm Resources of *Platycodon Grandiflorum*

LI Mei-shan, WU Jing-jie, WU Ji-ni

(Agricultural College of Yanbian University, Longjing, Jilin 133400, China)

Abstract: Leaves of Aseptic seedlings from 25 germ plasm resources of *Platycodon grandiflorum*, which were collected in China, North Korea, South Korea and Japan, were inoculated in $N_6 + NAA 0.5 \text{ mg/L} + 6-BA 1.0 \text{ mg/L}$ culture medium and differences on culture characteristics of germ plasm resources of *Platycodon grandiflorum* were compared. The results showed that the rate of seedling differentiated from leaves of different germ plasm resources was in the range of 42% ~ 90%, mostly in 61% ~ 90%, and fresh weight, dry weight and fresh weight/dry weight of seedlings reflected the differences of germ plasm resources.

Key words: *Platycodon grandiflorum*; Culture characteristics; Differences of germ plasm resource