

GA 对平贝母休眠鳞茎分化的影响

许 矛¹, 李建友², 王 义³

(1. 吉林大学 农学部植物科学学院, 吉林 长春 130062; 2. 吉林省长白山宏瑞平贝母科技发展有限公司, 吉林 靖宇 135200;

3. 吉林农业大学 生物技术学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:以平贝母休眠鳞茎为外植体,以 MS 为基本培养基,在添加 IBA、6-BA、2,4-D、KT 4 种外源激素的 2 种培养基上,比较了 GA 不同浓度、不同处理时间对诱导平贝母不定芽以及不同浓度 GA 处理相同时间对诱导平贝母愈伤的影响。结果表明:GA 500 mg/L 处理 60 h 对打破平贝母鳞茎休眠效果最好,出芽率最高达 45%,愈伤组织诱导率达 33.3%。

关键词:平贝母;GA;休眠鳞茎

中图分类号:S 567.23⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)17-0198-03

贝母为百合科贝母属植物,是常用中草药之一。主要有止咳,祛痰等功效。它具有两季生长、两季休眠及生长繁殖慢等生物学特性。按原产地不同将生药划分为浙贝、川贝、平贝、伊贝 4 种,其中浙贝,川贝是主要入药资源^[1]。平贝母(*Fritillaria ussuriensis* Maxim)已成为生药的主要品种,但其品种退化严重,染病率高,品质日益下降。通过细胞工程手段生产平贝母将是一种可行途径。平贝母休眠期长,打破休眠则是提高产量的有效方法。因此,该试验以平贝母鳞茎为外植体,探讨了 GA 对打破鳞茎休眠的影响,为大规模生产贝母,扩大贝母药用资源奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为吉林省长白山宏瑞平贝母科技发展有限公司提供的 2 a 生平贝母鳞茎。

1.2 试验方法

1.2.1 消毒 取 2 a 生平贝母鳞茎,将材料用清水冲洗干净后,用不同浓度的 GA 溶液浸泡,置于 4℃ 恒温冰箱。接种前用 70% 酒精迅速清洗 5 s,无菌水冲洗 3~5 次,再用 0.1% 的升汞表面消毒 8~12 min,并且消毒时要不断振荡,最后用无菌水冲洗 4~5 次,待用^[1-2]。

1.2.2 接种 将平贝母鳞茎切成 0.5 cm×0.5 cm 的小块,均匀接于培养基中,每瓶 4 块^[2]。

1.2.3 培养基 以 MS^[3-6] 为基本培养基,附加 IBA、6-BA、2,4-D、KT 4 种激素,配制 2 种培养基:Ⅰ. MS+IBA 1.0 mg/L+BA 1.0 mg/L,Ⅱ. MS+2,4-D 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L。

1.2.4 GA 处理方法 Ⅰ号基质培养物用 100、200、300、400、500 mg/L 的 GA 分别处理 24、36、48、60 h。Ⅱ号基质培养物用 100、200、300、500 mg/L 的 GA 处理 36 h。

1.2.5 培养条件 Ⅰ号基质培养物置于温度 22~24℃,光强 1 500 lx,光照 8 h 条件下培养;Ⅱ号基质培养物在 22~24℃ 下暗培养^[7-8]。每隔 30 d 继代 1 次。

2 结果与分析

2.1 不定芽诱导试验

不同浓度的 GA 对休眠期平贝母破除休眠,促进分化的作用显著。在 100~500 mg/L 浓度内随 GA 浓度升高,对芽的诱导率也升高,见表 1~4。并且,处理时间越长,打破休眠效果也越好,见图 1。

表 1 不同浓度的 GA 处理 24 h 对平贝母切块不定芽诱导的影响

GA 浓度/mg·L ⁻¹	接种数/块	出芽数/块	出芽率/%
100	36	1	2.7
200	36	2	5.5
300	40	3	7.5
400	36	4	11.1
500	16	2	12.5

表 2 不同浓度的 GA 处理 36 h 对平贝母切块不定芽诱导的影响

GA 浓度/mg·L ⁻¹	接种数/块	出芽数/块	出芽率/%
100	40	2	5.0
200	40	3	7.5
300	16	2	12.5
400	40	9	22.5
500	20	4	20.0

第一作者简介:许矛(1981-),女,吉林松原人,硕士,助理实验师,现主要从事药用植物细胞工程研究工作。E-mail:zwxyoffice@126.com。

责任作者:王义(1964-),男,吉林德惠人,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事药用植物生物技术与长白山资源开发研究工作。

基金项目:吉林大学农学部青年科研基金资助项目(4305050102D8);吉林省科技发展计划资助项目(20105068)。

收稿日期:2011-05-28

表 3 不同浓度的 GA 处理 48 h 对平贝母切块不定芽诱导的影响

GA 浓度/mg · L ⁻¹	接种数/块	出芽数/块	出芽率/%
100	32	2	6.25
200	20	2	10.0
300	40	3	15.0
400	16	4	25.0
500	16	5	31.3

表 4 不同浓度的 GA 处理 60 h 对平贝母切块不定芽诱导的影响

GA 浓度/mg · L ⁻¹	接种数/块	出芽数/块	出芽率/%
100	32	5	15.6
200	20	3	15.0
300	40	7	17.5
400	16	5	31.3
500	20	9	45.0

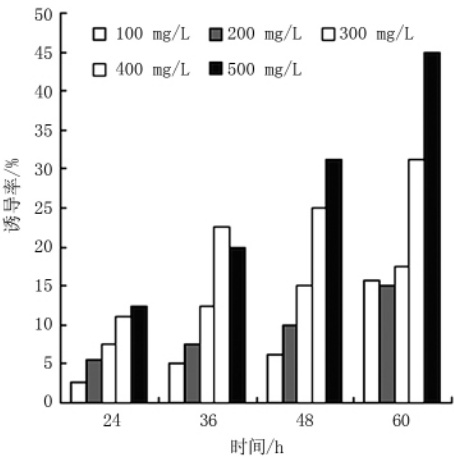


图 1 不同浓度 GA 随时间变化的诱导率

试验中观察到在接种的第 10 天起,便有小突起形成,培养约 30 d 已可见明显的芽状物(个别芽的基部形成愈伤组织)。芽为白色,尖端微绿。若不用 GA 预处理只添加其它激素,则在 30 d 内未见有芽形成,约 50 d 出现零星突起。若只用 GA 处理不加入其它激素,平贝鳞茎切块只是膨大,不见有分化。在不定芽培养中许多芽簇生,继代 1 次后芽长平均 0.7 cm,最长 1.5 cm。未经 GA 处理的芽长不超过 0.2 cm,说明 GA 对生长有促进作用。

2.2 愈伤诱导试验

在诱导愈伤组织的过程中,GA 也起着重要作用。在 100~500 mg/L 浓度内,愈伤诱导率呈上升趋势,见

表 5。由试验中看到,用 GA 处理的外植体在接种 10 d 左右开始形成愈伤,颜色淡黄微白,较松散。与不用 GA 的相比,愈伤诱导率略有提高。并且单独使用 GA 不能使其形成愈伤组织,只见外植体膨大,没有进一步脱分化。GA 的生理作用之一,是能有效解除植物休眠,显著促进发芽并形成愈伤。该试验表明,在组培中,GA 作为一种外源激素与其它激素配合使用对于诱导休眠外植体形成芽、愈伤及促进生长有显著效果。

表 5 GA 对平贝母休眠鳞茎切块愈伤组织诱导情况

GA 浓度/mg · L ⁻¹	接种数/块	形成愈伤组织数/块	诱导数/%	30 d 增殖/倍
100	40	12	30.4	2.9
200	32	10	31.2	3.1
300	38	12	31.6	3.2
500	36	12	33.3	3.4
0	40	—	—	—
不加	36	—	—	—

3 讨论

关于 GA 处理外植体的方法,该试验采用接种前预处理,原因是在有限的试验条件下为了减少 GA 在各项操作中的药效损失,因而并未采用樊君^[9]的方法。

关于用 GA 处理 60 h 的切块长出的芽在继代 1 次后生长缓慢的原因,分析可能是在用 GA 处理时由于时间过长,一些生长抑制物质或其它有害物质在溶液中随外植体的胞间连丝进入细胞内,从而抑制了生长。

在培养过程中,有些外植体长出连体芽,呈绿色扇行状,怀疑是一种变态行为,至于是否与 GA 处理有关,则有待进一步研究。

参考文献

[1] 肖冰梅. 贝母[M]. 北京:中国中医药出版社,2001.
[2] 唐巍,吴锦云. 药用植物平贝母组织培养的研究 I[J]. 东北农学院学报,1992,23(2):394-401.
[3] 苏新,赵岚. 浙贝母组织培养中一些因素的研究[J]. 植物生理学通讯,1990(5):19-21.
[4] 郝玉蓉,李明世,齐兰兰. 伊贝母体细胞无性系的建立及其胚状体的发生[J]. 西北植物学报,1989,9(4):233-239.
[5] 郝玉蓉,李明世,吴跃武. 伊贝母愈伤组织的诱导和植物再生的研究[J]. 西北植物学报,1982,2(1):38-43.
[6] David A E. handbook of plant cell culture. Techniques for propagation and breeding[M]. Vol 1. Macmillan P. Co, U S A, 1983.
[7] 徐元红. 我国贝母组织培养研究概况[J]. 延安大学学报(自然科学版),1996,15(1):62-65.
[8] 张寿文,刘贤旺. 贝母属植物的组织培养研究进展[J]. 江西农业大学学报,2003,25(2):187-190.
[9] 樊君,朱四易. GA 对伊贝母休眠外植体诱导愈伤组织的作用[J]. 中草药,1992,15(4):6-7.

Effect of Differentiation on the Dormancy Bulb of *Fritillaria ussuriensis* Maxim by GA

XU Mao¹, LI Jian-you², WANG Yi³

(1. College of Plant Science, Jilin University, Changchun, Jilin 130062; 2. Jilin Changbaishan Hongrui *Fritillaria Ussuriensis* Maxim Technology Development Limited Company, Jingyu, Jilin 135200; 3. College of Biotechnology, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

宁夏龙胆科药用植物物种多样性初步研究

李世平¹, 龚淑萍², 朱 强³, 王 俊⁴

(1. 宁夏隆德县人民医院, 宁夏 隆德 756300; 2. 宁夏隆德县中药材产业办, 宁夏 隆德 756300;

3. 种苗生物工程国家重点实验室, 宁夏林业研究所, 宁夏 银川 750004; 4. 宁夏大学, 宁夏 银川 750021)

摘 要:通过对宁夏境内所产的龙胆科药用植物进行调查, 初次整理报道了宁夏分布的龙胆科药用植物 9 属 17 种 2 变种, 并对其种类、分布、药用价值及资源利用状况做了简要描述, 以期龙胆科药用植物在宁夏的开发利用提供一定的理论依据。

关键词:药用植物资源; 多样性; 龙胆科; 宁夏

中图分类号:Q 949.95 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)17-0200-03

龙胆科(Gentianaceae)植物全世界约有 80 属 700 种, 广布世界各洲, 我国有 22 属约 427 种, 绝大多数分布于西南山岳地区^[1]。龙胆科是一种重要的药用植物类群, 许多物种属重要的中药、蒙药和藏药基原植物, 据宋万志^[2]报道, 该科中有 12 属 70 余种可作为药材使用。作为重要的中药类群, 龙胆科多数物种含有环烯醚萜、裂环烯醚萜、黄酮及三萜类化合物, 这些物种大多具有泻肝胆实火、清湿热、镇咳健胃及祛风湿、褪虚热、舒筋止痛等作用, 对治疗肝炎、胆囊炎、关节炎及消化系统疾病有良好的效果^[3]。当前, 基于龙胆科诸多药材的重要价值, 我国甘肃、内蒙、江西、东北地区等省区先后开展了关于龙胆科药用植物资源的调查研究工作^[4-10]。这些研究工作对发展龙胆科中药材产业、深度开发利用龙胆科中药材提供了极其有价值的资料。

在宁夏, 龙胆科植物种类相对其它省分较为贫乏。据《宁夏植物志》^[11]和《宁夏中药志》^[12]记载宁夏共有龙胆科植物有 10 属 22 种 3 变种。尽管龙胆科植物种类在宁夏相对贫乏, 但其中大部分均可作为药材使用, 而有关这方面的资料却一直未见整理报道。因此, 通

过近几年对宁夏龙胆科植物资源的野外实地调查, 以及对标本的采集、鉴定, 系统整理了宁夏龙胆科 9 属 17 种 2 变种可作为药材使用的植物。通过调查和分析以期龙胆科药用植物在今后的开发利用和深入研究提供参考。

1 宁夏龙胆科药用植物种类、分布及药用价值

1.1 百金花属(*Centaurium* Hill)

该属约 40~50 种, 主要分布于旧大陆, 少数分布于美洲。我国有 2 种 1 变种, 分布于北方地区和台湾省, 宁夏仅产 1 种。百金花(*Gentaurium meyeri* (Bunge) Druce) 别名东北埃蕾、麦氏埃蕾, 分布于宁夏贺兰山, 生长于山坡、草甸。以带花全草入药, 称“地格达”, 具有清热解毒、退黄的功效, 主治肝炎、胆囊炎、头痛、发烧及扁桃体炎等病症。

1.2 龙胆属(*Gentiana* L.)

该属约 400 种, 主要分布于温带及热带高山, 我国约有 230 种, 全国各地均有分布。宁夏分布有 7 种 1 变种, 其中 6 种 1 变种入药。

1.2.1 达乌里秦艽(*Gentiana dahurica* Fisch.) 别名达乌里龙胆、达弗里亚龙胆、小叶秦艽、小秦艽、蓟芥, 分布于宁夏六盘山、贺兰山、大罗山、南华山及原州区、海原、同心、盐池、西吉等县, 生长于海拔 2 100~2 700 m 的山坡草地。以根入药, 具有祛风湿、退虚热、止痛等功效。

1.2.2 秦艽(*Gentiana macrophylla* Pall.) 别名大叶

第一作者简介: 李世平(1963-), 男, 宁夏隆德人, 中药师, 现主要从事中医药方面的研究工作。

责任作者: 王俊(1957-), 男, 教授, 现主要从事中药材资源开发等研究工作。

基金项目: 宁夏科技攻关资助项目(KGX-07-09-01)。

收稿日期: 2011-06-02

Abstract: Using dormant bulb of *Fritillaria ussuriensis* Maxim as explant, MS with different growth regulator as basic medium, the effect of different concentration and different time of GA on inducing indefinite bud and different concentration deal with the same time of GA on inducing callus of *Fritillaria ussuriensis* Maxim were studied. The results showed that use GA dealing with 60 h was the best for removing dormancy of *Fritillaria ussuriensis* Maxim's bulb. The bud ratio reached to 50% and the callus ratio reached to 33.3%.

Key words: *Fritillaria ussuriensis* Maxim; GA; dormancy bulb