

丽江山慈姑的组织培养及育种技术研究

马玉芳, 许继宏*

(云南大学 生物系, 云南 昆明 650091)

摘要:目的 建立药用植物丽江山慈姑的组织培养和快速繁殖体系。方法 对丽江山慈姑的球茎、地上茎、叶片及根尖等不同部位进行丛生芽及原球茎的诱导, 筛选适合生根的培养基配方。结果 通过研究, 筛选出了丽江山慈姑原球茎的诱导、增殖及生根培养基配方, 建立了丽江山慈姑的快速繁殖体系, 实现了大规模的组培生产。结论 在 MS 培养基上, 丽江山慈姑球茎和地上茎诱导丛生芽效果较好, MSF 6-BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L 的激素配比既能使丽江山慈姑快速增殖, 又能诱导出原球茎, 适合大规模生产, 在 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 的培养基上, 丽江山慈姑原球茎生根效果较好。

关键词: 丽江山慈姑; 组织培养; 规模化生产

中图分类号: R282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)05-0463-03

Studies on tissue culture and rapid propagation technique of *Iphigenia indica*

MA Yu-fang, XU Ji-hong

(Department of Biology, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: **Object** To establish a tissue culture and rapid propagation system for the medicinal plant *Iphigenia indica* Kunth. **Methods** Clusters of seedlings and protocorms and induction were studied on MS media with different parts of the plant, such as corms, stems, leaves and root tips as explants. **Results** The proper media for protocorm inducing, propagation and rooting were found in this paper, rapid propagation system of *I. indica* was established and the plant could put in large scale production. **Conclusion** Sprout can be successfully induced from corm and stem on MS media MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L can induce both sprout and protocorm, and fit for large scale production. 1/2 MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L is good for rooting.

Key words: *Iphigenia indica* Kunth; tissue culture; large scale production

丽江山慈姑 *Iphigenia indica* Kunth, 别名光慈姑、草贝母、闹狗药等, 为百合科山慈姑属多年生草本植物。分布于云南西北部至中部、四川南部、贵州西部和西藏等省区。其球茎中含秋水仙碱 (colchicine) 和 β -光秋水仙碱 (β -lumicolchicine) 等 4~5 种生物碱。其中, 含秋水仙碱约 0.1%^[1]。在多种用作山慈姑的中药中, 丽江山慈姑中秋水仙碱的含量是最高的, 是提取秋水仙碱的主要原料^[2]。入药可治支气管炎、哮喘、痛风以及鼻咽癌等肿瘤^[3~5], 是一种重要的中药材。现已开发出治疗乳腺癌的山慈姑粉、争光 81 注射液、争光 81-甲片、争光 81-甲注射液^[1]。

自古迄今, 本品异物同名者甚多, 全国约有 10 来种不同植物作为山慈姑应用于临床。如兰科的杜鹃兰 (毛慈姑) *Cremastra appendiculata* (D. Don) Makino, 独蒜兰 *Pleione bulbocodoides* (Fr.) Rolfe 和百合科的老鸦瓣 (光慈姑) *Tulipa edulis* (Miq.)

Baker 以及防己科的金果榄 *Tinospora capilipes* Gagnep.、青牛胆 *T. sagittata* (Oliv.) Gagnep. 等^[1]。而且, 因其外形与川贝母相似, 在云南等地出现误用中毒者。目前, 丽江山慈姑的开发利用尚属野生, 对其如何进行大规模的工厂化组织培养, 开发该种重要的药用植物资源, 目前尚未见报道。该研究对开发和保护丽江山慈姑野生资源具有重要的意义。

1 材料和方法

1.1 植物材料: 本实验选取粒大、健康的球茎作为外植体, 球茎采自云南省丽江。

1.2 方法

1.2.1 选择直径为 1~1.5 cm 的健康球茎, 用洁净水洗干净后, 剥去褐色表皮, 流水冲洗约 30 min, 转入超净工作台内, 用 0.1% 升汞消毒 5 min, 无菌水冲洗 10~15 次, 用消毒滤纸吸干表面水分后接种到球茎发芽培养基 MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.2 mg/L

* 收稿日期: 2002-03-05

作者简介: 马玉芳 (1978-), 女, 青海人, 云南大学在读硕士, 主要从事药用植物组织和细胞培养方面的研究。

L 上进行培养。(培养基均加 3%蔗糖, 0.7%琼脂, pH 6.0)。培养温度(25±1)℃, 光照强度1 500 lx, 每天光照 14 h。

1.2.2 待接种的丽江山慈姑球茎芽长到 2~3 cm 时切下芽、根及叶片, 接种到 MS 诱导培养基上, 进行丽江山慈姑不同部位组织在两种不同培养基上丛生芽诱导力比较及不同激素配比对丛生芽及原球茎诱导频率的影响试验。培养温度 25℃, 光照强度 1 500 lx, 每天光照 14 h。

1.2.3 当芽增殖到一定数量时, 选择球茎直径约 0.5 cm 的苗转接到生根培养基上, 诱导生根。

2 结果

2.1 丽江山慈姑不同部位组织在两种不同培养基上丛生芽诱导力比较(表 1): 分别将丽江山慈姑的球茎、地上茎、叶、根尖接入 MS 培养基中, 激素配比如表 1 所示。培养 28 d 以后, 地上茎、球茎诱导出了丛生芽; 叶、根尖和基生叶在 40 d 后出现了愈伤组织, 但继续培养后, 尚未见丛生芽的分化。

表 1 不同组织在两种不同培养基上丛生芽及愈伤组织诱导能力比较

Table 1 Comparison of inducing ability of cluster seedlings and callus with different parts on two different media

激素配比 /(mg·L ⁻¹)	组织 部位	外植体数 /个	诱导时间 /d	脱分化外 植体数/个	诱导率 /%	平均诱导丛 生芽数/个
6-BA 2.0+NAA 1.0	球茎	20	20~28	20	100	3
6-BA 2.0+NAA 1.0	地上茎	20	20~28	18	90	5
6-BA 2.0+NAA 1.0	叶片	20	40~60	10	50	0
6-BA 2.0+NAA 1.0	根尖	20	40~60	12	60	0
6-BA 1.0+NAA 2.0	球茎	20	20~28	19	95	2
6-BA 1.0+NAA 2.0	地上茎	20	20~28	19	95	4.5
6-BA 1.0+NAA 2.0	叶片	20	40~60	14	70	0
6-BA 1.0+NAA 2.0	根尖	20	40~60	12	60	0

试验结果表明: 以地上茎诱导丛生芽的效果为最好; 球茎诱导分化能力较弱, 叶和根诱导愈伤组织周期长, 而且分化丛生芽能力很低。因此, 选择地上茎和球茎共同进行丛生芽的诱导, 进行大规模的工厂化生产, 能节约时间, 增加繁殖速度, 效益最好。

2.2 激素配比对丛生芽及原球茎诱导频率的影响

表 2 不同的激素配比对丛生芽及原球茎诱导频率的影响

Table 2 Influence of different 6-BA/NAA proportion on inducing frequency of cluster seedlings and protocorms

编号	培养基/(mg·L ⁻¹)	芽的平均个数/个	原球茎生长情况	结果
A	6BA 1.0+NAA 0.5	2	无原球茎形成	差
B	6BA 1.0+NAA 1.0	2	无原球茎形成	差
C	6BA 2.0+NAA 0.5	5	增殖率高, 且有原球茎形成	适合大规模生产
D	6BA 2.0+NAA 1.0	5	增殖率高, 但原球茎形成很少	较好
E	6BA 3.0+NAA 0.5	3	无原球茎形成	一般
F	6BA 3.0+NAA 1.0	4	有较少的原球茎形成	一般

(表 2); 以 MS 为基本培养基, 筛选不同 6-BA 与 NAA 配比对丛生芽增殖及原球茎形成的影响, 30 d 后进行统计。结果表明: 在 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L 的激素配比下, 既能形成原球茎, 又能获得较高的增殖率, 在本试验所研究的几种激素配比中是较适合大规模繁殖的激素配比。

2.3 丛生芽的增殖: 当芽长到约 2.5 cm 左右时, 带小球切下, 仍转入 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L 的增殖培养基中培养, 培养一个月左右, 即可分化出带小球茎的芽来。丛生芽的分化能力随着继代次数的增加显著增强。当芽增殖到一定数量, 即可选择球茎直径约 0.5 cm 的苗进行生根培养, 小苗仍接种到增殖培养基上, 进行增殖培养。

2.4 不同的生长素配比对根分化的影响: 选择球茎直径约 0.5 cm 的苗, 以 1/2MS 培养基为基本培养

基, 接入不同生长激素配比的生根培养基中, 20 d 后统计结果, 见表 3。

培养苗接入生根培养基 20 d 后, 在几种培养基上均有根的分化, 但以 IBA 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L 生根效果最好。球茎的基部分化出多条辐射状小根, 生根率达 100%, 苗的长势也较好。待根长到 1~2 cm 时, 苗也已长到 3 cm 以上, 此时便可开始炼苗, 移栽。

2.5 移栽: 待根长 1~2 cm, 苗高 3 cm 左右时, 打

表3 不同的 IBA 和 NAA 浓度对根形成的影响

Table 3 Influence of IBA and NAA in different concentration on root forming

编号	植物激素配比/(mg·L ⁻¹)	根的数量/条	生长情况
A	IBA 0.5+NAA 0	3~4	根生长较弱
B	IBA 0.5+NAA 0.2	5~6	根和苗生长均较好
C	IBA 0.5+NAA 0.5	5~6	根生长较粗
D	IBA 0.5+NAA 1	3~5	根较粗短,且有少量芽生成
E	IBA 0+NAA 0.5	1~2	有少量根生成
F	IBA 0.2+NAA 0.5	2~3	根生长较弱,苗生长良好
G	IBA 1+NAA 0.5	3~4	根较粗壮,有少量芽产生

开瓶盖,在自然散射光下练苗 1~2 d,即可移栽。移栽时,用镊子轻轻取出小苗,洗去根部培养基,栽于腐殖土中,注意遮阴保湿,小苗的成活率可达 95% 以上。

3 讨论

在研究中,丽江山慈姑的增殖方式有丛生芽(无原球茎形成)增殖及原球茎的增殖两种,而且,在试验中还发现,在丽江山慈姑的增殖过程中,如不及时转移,在原球茎的基部还有根的分化。在大规模的生产中,原球茎的增殖,有利于节约生产时间,提高移栽成活率,是比较可行的方法。

References:

- [1] Luo T H, Lai Y Q. *Forest Medicinal Resources* (森林药物资源学) [M]. Beijing: International Cultural Publishing Company, 1995.
- [2] Ren R A. *Identification of Chinese Traditional Medicine* (中药鉴定学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1986.
- [3] *Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 14. Beijing: Science Press, 1980.
- [4] Jiangxi Traditional Chinese Medical University. *Medicinal Plants* (药用植物学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1979.
- [5] National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products & Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences. *An Identification Handbook for the Chinese Traditional Medicine* (中药鉴别手册) [M]. Vol 1. Beijing: Science Press, 1972.

绞股蓝与乌菟莓药用部分的显微鉴别

王太霞^{1,2}, 李金亭², 李景原¹, 胡正海^{1*}

(1. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069; 2. 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453002)

摘要:目的 比较绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* 与乌菟莓 *Cayratia japonica* 茎、叶在解剖结构上的区别。方法 用石蜡切片法分别观察绞股蓝与乌菟莓茎、叶的解剖结构。结果 绞股蓝幼茎有 10 个双韧维管束, 而乌菟莓幼茎有 12~15 个外韧维管束; 在老茎中, 绞股蓝的皮层厚壁组织位于维管束的外侧, 皮层厚壁组织和维管束之间有薄壁组织相隔。乌菟莓的皮层厚壁组织位于维管束的外侧, 但皮层厚壁组织和维管束之间没有薄壁组织相隔, 皮层厚壁组织紧邻维管束; 在绞股蓝的维管束中, 后生木质部的导管沿切向线排列, 在乌菟莓的维管束中后生木质部的导管沿径向线排列; 两者叶的区别主要表现在中脉的结构不同, 绞股蓝只有 1 个维管束, 乌菟莓叶中脉有 4~5 个维管束。结论 研究结果可供采集、收购绞股蓝及识别伪品时参考。

关键词: 绞股蓝; 乌菟莓; 茎; 叶; 结构

中图分类号: R282.710.3

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)05-0465-03

Microscope identification of medicinal parts between *Gynostemma pentaphyllum* and *Cayratia japonica*

WANG Tai-xia^{1,2}, LI Jin-ting², LI Jing-yuan¹, HU Zheng-hai¹

(1. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453002, China)

* 收稿日期: 2002-09-09

作者简介: 王太霞(1964-), 女, 河南新乡人, 西北大学在读博士生, 主要从事药用植物研究。

通讯作者