

The ecoenvironment, soil nature, soil-forming parent material, its cross sectional profile and physico-chemical characteristics for the growth of *Angelica dahurica* (fisch) Benth. et Hook var. *formosana* (Boiss) Shan et Yuan were studied by investigating the ecological conditions and soil nature of its genuine producing district.

高寒藏药——川西獐牙菜组织培养研究

I. 愈伤组织的诱导及初步培养

青海师范大学生物系(西宁 810008) 向凤宁* 李建民 马继雄 吴学明

摘 要 从川西獐牙菜的胚轴、未成熟种子及幼叶诱导出愈伤组织;试验选用 MS、B₅ 和 N₆ 3 种培养基,其中以加有 2,4-D 3mg/L+KT0.6mg/L 的 MS 培养基诱导率最高。结果表明,不同培养基及不同激素组合对愈伤组织诱导率有较明显的影响。初步证明了用植物组织培养的方法进行川西獐牙菜的无性快速繁殖是有可能的。

关键词 川西獐牙菜 组织培养 愈伤组织 继代培养

藏药植物——川西獐牙菜 *Swertia musotii* Franch.、藏名蒂达,系龙胆科 (*Gentianaceae*) 植物。在青海产于海拔 3600~3800m 的高寒地区,一年生草本,全草入药,有清热解毒、舒肝利胆之功效,专治黄疸性肝炎和病毒性肝炎。目前,其野生资源远不能满足医药生产和外贸出口的需求。采用人工种植的方法,因受环境条件制约,难以从高海拔地区引入低海拔地区进行种植。据此,我们对其进行了组织培养的研究,以期从这个角度探索其无性快速繁殖的方法。川西獐牙菜的组织培养国内外尚无报道,现将取得的一些初步结果报道如下。

1 材料和方法

供试材料为野生品种川西獐牙菜,采自青海省玉树州。外植体为未成熟种子(未形成种皮、1mm 左右、淡黄色)、幼叶和胚轴。接种时,将未成熟种子浸入 0.1% 升汞溶液中消毒 5~6min,无菌水冲洗 3~4 次,用吸管分

别吸入备好的愈伤组织的诱导培养基中和无激素 MS 培养基上萌发出苗,待种子出苗后,截取 4~5mm 小段的胚轴和 0.5cm² 小块的幼叶于诱导培养基上。

培养基以 MS 为基本培养基,还试用了 B₅、N₆ 两种培养基,附加不同浓度的 2,4-D (2,4-二氯苯氧乙酸)、NAA(萘乙酸)、KT(激动素),其浓度组合见下文。蔗糖 3%,琼脂 0.6%,pH 调至 5.8,在 137.3kPa 压力下灭菌 20min。在温度 25±2℃,光强 1000~1200lx,每日光照 10h 下培养。

2 结果

2.1 愈伤组织的诱导:培养 1 周后,胚轴两端切口处肿胀;2 周左右,未成熟种子整体膨胀或先出苗再从幼叶和胚轴处整体肿胀(图 1),4 周左右,幼叶从叶脉周围处肿胀(图 2),开始形成愈伤组织。

2.1.1 不同外植体对愈伤组织发生的影响:在 MS+KT0.6mg/L+2,4-D3mg/L 的同

* Address: Xiang Fengning, Department of Biology, Qinghai Teachers' University, Xining

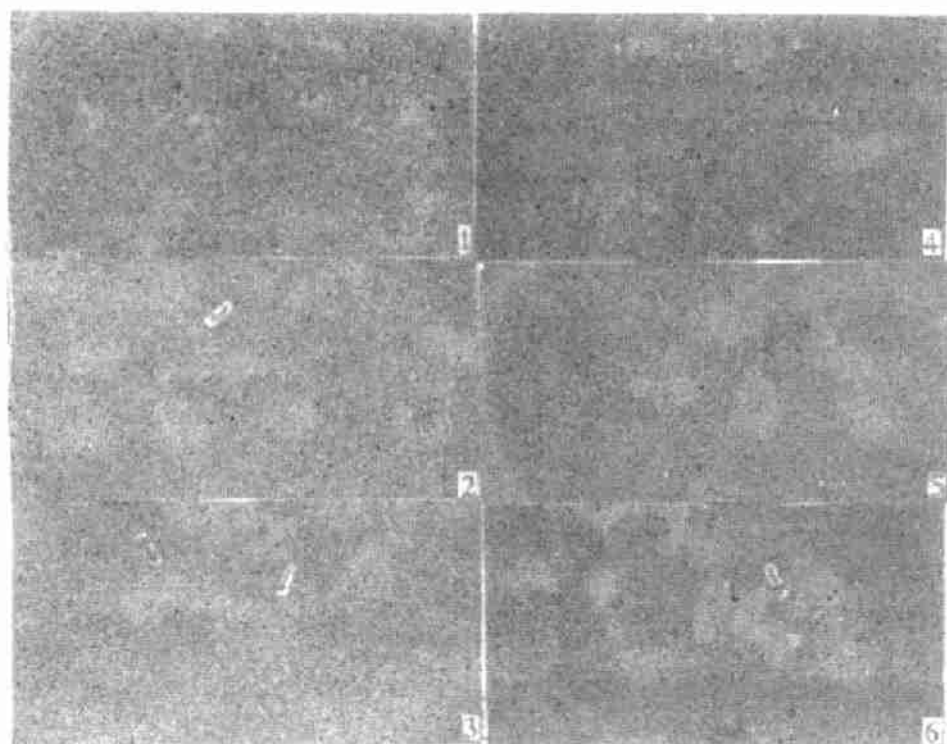


图 川西算牙菜愈伤组织

1-胚轴和幼叶芽体在诱导下正在愈伤化

2-幼叶叶脉处在诱导下正在愈伤化(↓);白色愈伤组织表面的颗粒状愈伤组织(↓)

3-白色愈伤组织(↓);增生的颗粒状愈伤组织(↓) 4-黄色愈伤组织 5-继代培养后颗粒状愈伤组织(↓)

6-不定根(↓)

一种培养基上,胚轴愈伤组织诱导率达100%,愈伤组织生长旺盛;未成熟种子愈伤组织诱导率亦达96.3%,且质地好、生长快;

幼叶愈伤组织诱导率只有26%,生长势较弱(表1)。结果表明,胚轴最易诱导,其次是未成熟种子,叶片最难诱导。

表1 不同外植体愈伤组织的诱导率

外植体	培养基(mg/L)	接种数	成愈数	诱导率(%)	愈伤组织生长情况
胚轴	MS+KT 0.6+2,4-D 3	42	42	100	长势旺盛,浅黄色,松散
幼叶	MS+KT 0.6+2,4-D 3	50	13	26	长势较弱,皱缩、致密、易衰老
未熟种	MS+KT 0.6+2,4-D 3	80	77	96.3	长势旺盛,黄色,较紧密

2.1.2 不同培养基对愈伤组织发生的影响:在同样附加KT0.3mg/L+2,4-D 2mg/L的MS、B₅、N₆ 3种培养基上,未成熟种子愈伤组织诱导率以MS培养基最高,达95.2%,B₅次之,N₆培养基较差(51.4%);胚轴愈伤组织诱导率在MS和B₅培养基均达100%;幼叶愈伤组织诱导以MS上最高(24%),在N₆上最低(仅5.9%)(表2)。比较MS、B₅、N₆ 3种培养基,以MS培养基的效果更好一些。表明不同培养基对不同外植体愈伤组织有明显

影响

表2 不同培养基愈伤组织的诱导率

项目	MS			B ₅			N ₆		
	胚轴	未熟种	幼叶	胚轴	未熟种	幼叶	胚轴	未熟种	幼叶
接种数	32	62	25	20	57	21	31	35	17
愈伤数	32	59	6	20	52	4	22	18	1
诱导率	100	95.2	24	100	91.1	19.1	71.0	51.4	5.9

2.1.3 不同激素组合对愈伤组织发生的影响:试验结果表明,以MS基本培养基添加不同激素组合,胚轴、未成熟种子和幼叶都诱导出了愈伤组织。单加生长素(2,4-D)的培养

基 I 形成愈伤组织数少,兼用生长素(2,4-D)和激动素(KT)的培养基 I、II、IV、V,不但愈伤组织诱导率高,生长也较快,其中以添加 2,4-D 和 KT 的培养基 IV,对胚轴、未成熟

种子、幼叶的诱导率最高,分别为 10%、96.3%、26%。同时,添加 NAA 和 KT 的培养基 V 的愈伤组织诱导率也很高,但愈伤组织易长出不定根(图、6、表 3)。

表 3 不同激素组合对愈伤组织诱导率

代号	培养基 附加激素 (mg/L)	培养材料							
		胚轴				幼叶			
		接种数	成愈数	诱导率(%)	接种数	成愈数	诱导率(%)	接种数	成愈数
I	2,4-D 2.0	24	14	58.3	1	0	0	41	15
II	2,4-D 1.0+KT 0.9	35	32	91.4	42	6	14.3	65	57
III	2,4-D 2.0+KT 0.3	32	32	100	25	5	24.0	62	58
IV	2,4-D 3.0+KT 0.6	45	45	100	50	13	26.0	80	77
V	NAA 0.4+KT 1.0	30	30	100	23	7	17.4	45	43

2.2 愈伤组织培养:川西獐牙菜愈伤组织继代培养所用培养基沿用诱导培养基,选择其中的添加 2,4-D 3mg/L+KT 0.6mg/L 的 MS 培养基和添加 NAA 0.4mg/L+KT 1.0mg/L 的 B₅ 培养基。继代培养结果表明,在 B₅ 培养基上诱导的愈伤组织颜色主要是淡黄色,其次是白色,松散状,生长旺盛(图 2,3),培养一段时间后,颜色逐渐加深,质地变硬,表面粗糙,颗粒状(图 4)。在 MS 培养基上,愈伤组织颜色主要为黄色,长势不及 B₅ 快,质地较紧密,表面粗糙(图 4,5),培养一段时间后,白色或黄色愈伤组织表面几层细胞中的某些细胞开始分裂,并出现一些分生细胞团,尔后愈伤组织增殖加快,逐渐形成质地较紧密的颗粒状结构的胚性愈伤组织(图、2、3、5)。此外,培养一段时间后,有一小部分愈伤组织易变为黄褐色,将黄褐色愈伤组织再次转移,其生活力下降。因此,必须剔除黄褐色愈伤组织进行再次转移。还发现,在继代培养中,添加 NAA 0.4mg/L+KT 1mg/L 的培养基上部分愈伤组织分化出不定根(图、6)。

3 讨论

高寒藏药川西獐牙菜生长在雪线附近,难以引入低海拔地区进行种植。本实验将其引入低海拔、25±2℃下进行离体培养,诱导出了胚性愈伤组织,这使得利用组织培养技术,快速繁殖川西獐牙菜成为可能。这种新方

法的应用对于弥补其野生资源匮乏有重大的实践意义。

将川西獐牙菜的胚轴、幼叶、未成熟种子接种在同一培养基或者不同培养基上,对愈伤组织的诱导存在明显差异。总的情况是,容易产生愈伤组织的部位,无论在哪一种培养基上诱导率都较高,如胚轴,诱导率最高达 100%。相反,不容易产生愈伤组织的部位,无论在何种培养基上,诱导率都较低,如幼叶。观察发现幼叶在 MS、B₅、N₆ 3 种培养基上都容易卷曲,皱缩,虽然能诱导愈伤组织,但愈伤组织所需的时间长(一般需一个月),所以愈伤组织诱导困难。因此,川西獐牙菜的幼叶不适于作外植体诱导愈伤组织。

对 MS、B₅、N₆ 3 种培养基进行比较试验,结果 MS、B₅ 均好,以 MS 附加 2,4-D 3mg/L+KT 0.6mg/L 的激素组合的诱导效果最好。表明,诱导愈伤组织对培养基的选择是必要的。

此外,愈伤组织的诱导需要较高水平的生长素^[1,2],其中 2,4-D 是最普遍使用而有效的生长素^[3]。本实验结果表明,诱导川西獐牙菜愈伤组织,培养基内添加生长素是必要的,而且以 2,4-D 浓度较高诱导效果更好。关于细胞分裂素对愈伤组织诱导的作用研究很多,6-BA 或 KT 明显抑制愈伤组织的形成^[4,5]。细胞分裂素能提高愈伤组织诱导频率及促进细胞胚胎发生^[6,7]。本实验观察到 KT

不仅对愈伤组织诱导有明显促进作用,而且可改善愈伤组织的质量,有利于致密愈伤组织的诱导。因此,兼用生长素和KT增效作用更明显,可大大提高诱导率。比较KT加2,4-D和KT加NAA的效果后,2,4-D浓度较高,有利于愈伤组织诱导,而NAA的浓度低效果明显。看来,能否有效地脱分化而产生愈伤组织,除了与培养基、外植体有关外,更重要的是受培养基中所加入的生长调节物质种类及其浓度的影响。

参 考 文 献

- 1 Recinert J. Applied and Fundametal aspects of plant cell, Tissue and Organ culture. 1977. 144
- 2 刘贤旺,等. 中药材, 1989, 12(6): 8
- 3 Lu Chin-yi, et al. Somatic Plant Phgsiol, 1984, 115: 237
- 4 Dudit D G, et al. Can J Bot, 1975, 53(10): 957
- 5 陈惠民,等. 植物学报, 1980, 22(2): 112
- 6 Flick C E. Organogenesis In: Handbook of plant Cell culture. Macmillan Co, New York, 1983. 13
- 7 衷维纲,等. 中草药, 1984, 15(11): 31
- 8 李月明,等. 中草药, 1987, 18(8): 31

(1995-12-18 收稿)

Tissue Culture of Chuanxizhangycai (*Swertia mussotii*)

I. Induction and Maintenance of the Callus

Xiang Fengning, Li Jianmin, Ma Jixiong, et al

Calli were induced from young leaves, immature seeds and hypocotyl of *Swertia mussotii* Franch. Three kinds of media, MS, B₅ and N₆ were set up in the experiment. Calli were established with the highest frequency on to MS medium cantaining 3mg/L 2,4-D and 0.6mg/L KT. The induction and maintenance of the calli were affected markedly by the basic media and compound 2,4-D and KT in the media which proved that asexual reproduction of *S. mussotii* is possible by tissue culture.

昆崙山中药资源利用度的考查

山东省中医药研究所(济南 250014) 彭广芳* 钟方晓 张素芹 林慧彬 李英霞

摘 要 昆崙山中草药共有 1370 种、变种和变型。已收购药用的仅 194 种,占总数的 14.16%。本文着重对植物类中草药的利用率进行了考查,共有 1240 种,总利用率仅 10%,并根据资源量大小,分别考查了它们的利用率。

关键词 中药资源 利用度 昆崙山

昆崙山为山东胶东半岛第一大山,第二高山,高 922.8m。由于地形复杂,土壤肥沃,形成许多小地形、小气候。适宜多种暖温带植物生长,森林覆盖率较高(70.4%),草本植物种类繁多,经调查统计,植物类中草药 1240 种、变种及变形;药用动物 118 种;矿物药 8 种;加工品 8 种。总计 1370 种,其中已收购的中药材仅 194 种,占资源总数的

14.16%,其中植物类中药材 124 种。下面根据各种植物药资源蕴藏量的大小及其利用率分述如下(表)。

1 蕴藏量最多的(+++)中药资源

共 57 种;主要有茵陈、仙鹤草、葛根、野菊花、唐松草、地榆、艾、委陵菜(翻白草)、菝葜、酸枣、南

* Address: Peng Guangfang, Shandong Provincial Institute of Traditional Chinese Medical and Materia Medica, Jinan