



1-实生苗 2-嫁接苗 3-公园种植 4-国内制剂^[4] 5-国外制剂^[7] 6-国外提取物^[5]

注:实生苗及嫁接苗均采用 06-14采集的数据,公园种植采用 08-15采集的数据。

图 3 不同类型银杏叶及不同来源制剂黄酮苷元 Q:K:I 比值的比较

酚、异鼠李素含量之比 1:(0.98±0.16):(0.38±0.07)^[4]和 1:(1.06±0.23):(0.29±0.02)^[5],国内学者认为二者比值与质量有一定关系。瑞士学者 Hasler 和 Sticher 早已注意到此,银杏叶黄酮苷元比值为 1:2:0.75,银杏提取物为 1:(0.94±0.32):(0.24±0.03)^[6],3个不同生产厂家银杏叶制剂 1:(1.2±0.10):(0.43±0.02)^[7],与我国学者及我们^[2]以前分析结果较一致。本次实验结果实

生苗 I 值低于文献 3 倍,嫁接苗 K 值低 1 倍,是否与栽培期过短,还是与类型有关,尚待探讨。

3.3 综上所述,良种银杏幼苗叶总黄酮含量与生长季节、树龄、培育方式、生态环境和产地条件等诸因素有关。8月份银杏生长量似乎与含量有一定关联。

参考文献:

[1] Sticher O. Quality of *Ginkgo* preparations [J]. *Planta Med* 1993, 59: 2-11.
 [2] 杨义芳,王 晖,夏野鹰,等.银杏叶质量标准研究 [J]. *安徽中医学院学报*, 1997, 16(5): 46-47.
 [3] 仲 英,唐文照,丁杏苞,等.不同树龄的银杏叶在不同生长季节中银杏总黄酮和总内酯的含量变化 [J]. *中草药*, 1993, 30(12): 909-910.
 [4] 陶巧凤.不同厂家的银杏叶片黄酮含量的比较与分析 [J]. *中国现代应用药学杂志*, 1999, 16(1): 47-48.
 [5] 王新宏,王智华,范广平,等. HPLC法测定银杏制剂成分 [J]. *中成药*, 1996, 18(9): 36-37.
 [6] Hasler A, Ticher O, Meier B. High-performance liquid chromatographic determination of five widespread flavonoid aglycones [J]. *J Chromatogr*, 1990, 508(1): 236-240.
 [7] Hasler A, Ticher O, Meier B. Identification and determination of the flavonoids from *Ginkgo biloba* by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1992, 605(1): 41-48.

天师栗茎芽组织培养研究

郑小江,刘金龙

(湖北民族学院资源与环境科学系,湖北 恩施 445000)

摘要:目的 研究其组培技术,为工厂化育苗提供依据。方法 采用不同浓度的 MS无机盐,不同浓度的 MS有机成分,对其进行生根和生茎芽、叶的效果研究。结果 1/2改良 MS无机盐+肌醇 100 mg/L+烟酸 0.5 mg/L+盐酸吡哆醇 0.5 mg/L+盐酸硫胺素 0.1 mg/L+6-BA 1 mg/L+甘氨酸 2 mg/L+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 2%+琼脂 0.8%+VC 0.1 mg/L对愈伤组织形成及茎芽分化生长效果显著;1/8改良 MS无机盐+肌醇 100 mg/L+烟酸 0.5 mg/L+盐酸吡哆醇 0.5 mg/L+盐酸硫胺素 0.1 mg/L+甘氨酸 2 mg/L+蔗糖 1%+琼脂 0.7%+活性炭 600 mg/L+IBA 0.5 mg/L+VC 0.1 mg/L+6-BA 0.2 mg/L对生根效果显著。结论 以上结果分别为天师栗茎芽组培中愈伤组织形成与茎芽生长和生根的适宜培养基配方;愈伤组织形成与茎芽生长和生根的生长素浓度与细胞分裂素浓度比为 0.5:1 mg/L和 0.5:0.2 mg/L较合适;高无机盐浓度抑制生根,1/8 MS改良无机盐浓度生根最佳;VC可消除组培中因茎芽分泌的酚类氧化物在培养基中过量积累,而对茎芽和根生长的不良影响;茎芽和根的分化在微酸至中性培养基中效果较好。

关键词: 开师栗;茎芽;组织培养

中图分类号: R282.13 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)11-1035-04

Studies on tissue culture for bud of stem in *Aesculus wilsonii*

ZHENG Xiao-jiang, LIU Jin-long

(Department of Resource and Environment Science, Hubei Institute for Nationalities, Enshi Hubei 445000, China)

Key words *Aesculus wilsonii* Rehd.; bud of stem; tissue culture

天师栗 *Aesculus wilsonii* Rehd. 落叶乔木,湖北省保护树种^[1]。湖北恩施州木林子、星斗山保护区有

收稿日期: 2001-04-25

作者简介: 郑小江(1958-),男,山东淄博人,湖北民族学院资源与环境科学系(原林学系)副教授,中国林学会高级会员,硕士生导师。研究方向:野生植物资源开发利用。地址:湖北省恩施市三孔桥路 29号。Tel: 0718-8430564

极少量的原始母树,其木材黄褐色带红色,轻软木质,果实药用可理气、解郁、安神、杀虫、止痛、治气郁、胃闷、疝气、腹痛、痢疾、烧伤水肿、肝炎、肝硬化、腹水。种子含油量 20%,供制优质肥皂,是多用途经济林和绿化树种。有性繁殖差,用其茎芽进行组织培养是快繁的有效方法,但无报道,为此进行了研究

1 材料与方法

1.1 天师栗茎芽为恩施州星斗山自然保护区生长的原始母树茎芽

1.2 培养条件:天师栗茎芽处理:从母树上取带幼

芽的茎节,用 70% 医用酒精浸泡 5 min,取出置 0.1% 升汞水中浸泡 5 min 后在无菌超净工作台上用无菌蒸馏水浸泡 5 次,每次 5 min,消毒后的茎芽在无菌条件下接入灭菌的三角瓶内的培养基上→盖上半透膜→组织室培养。温度 25℃,光照 1 500 lx,每日光照 14 h 将其在茎叶分化的培养基上长出新的茎芽叶剥离母体转接在生根培养基上培养。

1.3 培养基配方研究设计

1.3.1 愈伤组织、茎芽分化配方研究设计,促愈伤组织和促使茎芽分化生长的培养基配方,见表 1

表 1 形成梭罗果愈伤组织、茎芽分化生长培养基配方

改良培养基类	IBA 型 (mg/L)	IAA (mg/L)	NAA (mg/L)	VC (mg/L)	肌醇 (mg/L)	盐酸硫胺素 (mg/L)	硫酸腺嘌呤 (mg/L)	琼脂 (mg/L)	蔗糖 (%)	6-BA (mg/L)	烟酸 (mg/L)	盐酸吡哆醇 (mg/L)	甘氨酸 (mg/L)
MS	0.5	-	-	-	33.3	0.133	26.66	0.7	3	1	-	-	-
	-	0.5	-	-	33.3	0.133	26.66	0.7	3	1	-	-	-
	-	-	0.5	-	33.3	0.133	26.66	0.7	3	1	-	-	-
	0.2	-	-	-	33.3	0.133	26.66	0.7	3	1	-	-	-
	-	0.2	-	-	33.3	0.133	26.66	0.7	3	1	-	-	-
	-	-	0.2	-	33.3	0.133	26.66	0.7	3	1	-	-	-
	0.8	-	-	-	33.3	0.133	26.66	0.7	3	1	-	-	-
	-	0.8	-	-	33.3	0.133	26.66	0.7	3	1	-	-	-
1/2 MS	-	-	0.8	-	33.3	0.133	26.66	0.7	3	1	-	-	-
	0.5	-	-	0.1	100	0.1	-	0.8	2	1	0.5	0.5	2
	-	0.5	-	0.1	100	0.1	-	0.8	2	1	0.5	0.5	2
	-	-	0.5	0.1	100	0.1	-	0.8	2	1	0.5	0.5	2
	0.2	-	-	0.1	100	0.1	-	0.8	2	1	0.5	0.5	2
	-	0.2	-	0.1	100	0.1	-	0.8	2	1	0.5	0.5	2
	-	-	0.2	0.1	100	0.1	-	0.8	2	1	0.5	0.5	2
	0.8	-	-	0.1	100	0.1	-	0.8	2	1	0.5	0.5	2
1/3 MS	-	0.8	-	0.1	100	0.1	-	0.8	2	1	0.5	0.5	2
	-	-	0.8	0.1	100	0.1	80	0.8	2	1	0.5	0.5	2
	0.5	-	-	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2
	-	0.5	-	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2
	-	-	0.5	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2
	0.2	-	-	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2
	-	0.2	-	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2
	-	-	0.2	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2
	0.8	-	-	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2
	-	0.8	-	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2
	-	-	0.8	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2
	-	-	0.8	0.1	100	0.1	80	0.8	2	0.5	0.5	0.5	2

1.3.2 生根培养基配方研究设计(见表 2)

2 结果

2.1 其带幼芽的茎节经过 16 d 组培,插入培养基的茎节截面韧皮部处形成愈伤组织,以后逐渐向木质部形成愈伤组织,35 d 后,叶片展开并在叶腋处生长出茎芽,50 d 后,小茎芽展叶,茎长 0.3 cm

2.2 1/2 改良 MS 无机盐+肌醇 100 mg/L+ 烟酸 0.5 mg/L+ 盐酸吡哆醇 0.5 mg/L+ 盐酸硫胺素 0.1 mg/L+ 甘氨酸 2 mg/L+ VC 0.1 mg/L+ IBA 0.5 mg/L+ 6-BA 1 mg/L+ 琼脂 0.8%+ 蔗糖 2% 培养基对梭罗果快速形成愈伤组织和茎芽分化生长

效果显著(见表 3) 它在组培中对 N P K 需求较高;对烟酸、肌醇、盐酸吡哆醇、甘氨酸的量有一定要求;浓度过高抑制愈伤组织形成和茎芽分化生长;生长素与细胞分裂浓度之比为 0.5: 1;VC 对分泌的酚类氧化物有拮抗作用加速其愈伤组织形成和茎芽分化生长;硫酸腺嘌呤对地上部的分化无影响。

2.3 转接在生根培养基上的幼嫩茎节,组培 15 d 后插入培养基的茎节截面韧皮部处,出现愈伤组织,以后扩大整个茎节截面,组培 35 d 从茎节韧皮部与木质部交接面处分化出肉眼明显看见的突出的白细幼根生长点

表 2 梭罗果生根培养基配方

改良培养基种类	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	蔗糖 (%)	VC (mg/L)	活性炭 (mg/L)	甘氨酸 (mg/L)	改良培养基种类	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	蔗糖 (%)	VC (mg/L)	活性炭 (mg/L)	甘氨酸 (mg/L)
1/2 MS	0.2	-	1	0.1	600	2	1/4 MS	-	0.2	1	0.1	600	2
	0.5	-	1	0.1	600	2		-	0.5	1	0.1	600	2
	0.8	-	1	0.1	600	2		-	0.8	1	0.1	600	2
1/3 MS	-	0.2	1	0.1	600	2	1/8 MS	0.2	-	1	0.1	600	2
	-	0.5	1	0.1	600	2		0.5	-	1	0.1	600	2
	-	0.8	1	0.1	600	2		0.8	-	1	0.1	600	2
1/4 MS	0.2	-	1	0.1	600	2	1/12 MS	0.2	-	1	0.1	600	2
	0.5	-	1	0.1	600	2		0.5	-	1	0.1	600	2
	0.8	-	1	0.1	600	2		0.8	-	1	0.1	600	2

表 3 梭罗果茎芽愈伤组织形成及茎芽分化生长

培养基配方效果 %

改良培养基类型	愈伤组织发生率	茎芽分化发生率	改良培养基基类型	愈伤组织发生率	茎芽分化发生率
MS	31	-	1/2 MS	15	-
	26	-		11	-
	22	-		9	-
	28	-		31	-
	25	-	1/3 MS	56	40
	23	-		50	32
	100	85		48	29
	80	78		70	51
1/2 MS	76	51		65	45
	38	-		62	39
	32	-		59	32
	35	-		31	-
	65	46		62	37
	56	41			

表 4 梭罗果生根培养基配方效果 %

改良培养基类型	愈伤组织发生率	茎芽分化发生率	改良培养基基类型	愈伤组织发生率	茎芽分化发生率
1/2 MS	52	-	1/4 MS	50	21
	69	-		69	30
	65	-		70	32
	50	-	1/8 MS	61	41
	61	-		100	100
	60	-		100	52
1/3 MS	59	-		62	35
	76	-		100	61
	70	-		100	58
1/12 MS	54	-		25	-
	71	-		31	-
	65	-		26	-
1/4 MS	55	20		21	-
	82	39		28	-
	78	30		29	-

2.4 1/8 MS改良无机盐+ 肌醇 100 mg/L+ 烟酸 0.5 mg/L+ 盐酸吡哆醇 0.5 mg/L+ 盐酸硫酸素 0.1 mg/L+ 甘氨酸 2 mg/L+ 蔗糖 1%+ 琼脂 0.7%+ 活性炭 600 mg/L+ IBA 0.5 mg/L+ VC 0.1 mg/L+ 6-BA 0.2 mg/L生根培养基生根效果显著,见表 4,影响梭罗果茎芽生根的主要因素:培养基无机盐的浓度,1/8 MS改良无机盐浓度最佳;生长素 IBA 0.5 mg/L;细胞分裂素 0.2 mg/L诱导生根效果显著;蔗糖含量以 1%为宜;硫酸腺嘌呤对其生根不显著。

3 结论与讨论

3.1 不同浓度的 IAA NAA对梭罗果茎芽的分化生长和生根效果较差,而 IBA生根显著,其原因与 IAA NAA的分子结构耐温稳定性较差有关。

3.2 培养基无机盐减少到 1/4时开始生根,减少到 1/8时其生根率最高,说明无机盐浓度是明显抑制其生根原因之一。

3.3 促其茎芽分化生长较适宜的生长素浓度比为 0.5: 0.2 mg/L;生根需要的生长素与细胞分裂素浓度比为 0.5: 0.2 mg/L。

3.4 生根时应加强光照强度,但强光抑制根的生长,向培养基中加入活性炭可有效协调矛盾。

3.5 在本实验中,硫酸腺嘌呤对其的茎芽分化生长和根的生长作用不显著,其原因有待研究。

3.6 梭罗果在组培中分泌酚类氧化物较多影响茎芽、根的生长,向培养基中适量加入 VC则可防止氧化物在培养基中的过量积累,用升汞消毒对梭罗果组织杀伤严重,影响组培效果,有待改进,防止培养基灭菌后变酸,在组培中梭罗果的茎芽、根的分化在弱酸至中性培养基中效果较好。

参考文献:

[1] 颜昌敬. 植物组织培养手册 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1999.
[2] 李浚明. 植物组织培养教程 [M]. 北京: 北京农业出版社, 1992.