

号培养基与 2 号, 5 号与 4 号相比, 这种结果与  $GA_3$  本身无关, 如在 6 号培养基中, 脱毒苗高而根多。这说明 BA 与  $GA_3$  合用有拮抗作用。Shoyama 等也曾观察到相似的结果<sup>[12]</sup>。其作用机制有待进一步研究。

3.2 适宜“85-5”快速繁殖的培养条件: 温度和光照是影响试管苗生长和发育的两大关键因素, 同时也是生产成本的主要构成成分。本研究通过设置不同的温度和光照, 发现苗重随光照强度的增加而增加, 苗高则有相反的趋势, 如图 14、II。高强度光照在抑制脱毒苗长高的同时, 却使叶片增大, 这是苗重随光强增加的主要原因。叶片数在不同光照条件下虽有区别, 但差异不显著, 而不同温度处理, 叶片数差异显著, 如图 14II。

脱毒苗高可使操作方便, 叶片多则提高繁殖效率, 而叶片增大无生产意义。因此, 在地黄脱毒苗快速繁殖时, 可采取温度  $28^{\circ}\text{C}$  左右, 光照以  $1\,000\sim 2\,000\text{ lx}$  为好。生产中可根据具体情况适当调节。

另外, 本研究为了方便观察, 接种时将叶片去掉, 在日常培养中, 相同条件下, 具叶片的茎段生长速度明显快于去叶片者。对于无茎尖苗, 由于无顶芽的抑制作用, 常形成丛生芽, 接种时插入培养基的长度对其发育影响较大, 插入深者, 接触培养基的芽生长迅速, 插入浅者则相反。因此对本实验结果有一定影响。

3.3 小地黄形成的启示: 本研究结果表明, 在培养

基  $MS+BA\,0.5+NAA\,0.02$  上,  $23^{\circ}\text{C}$  时, 不定根膨大成小地黄状, 而  $28^{\circ}\text{C}$  时膨大不明显。这与我们在生产中观察到的结果相似, 即晚秋时节, 地黄的膨大速度最快。此外, 在  $MS+BA\,0.5$  中, 不定根多数不膨大, 这说明在块根形成的过程中, 可能有生长素类物质的参与。

参考文献:

- [1] 温学森, 李允尧, 陈沪宁. 地黄栽培研究进展 [J]. 中药材, 2000, 23 (7): 427-429.
- [2] 温学森, 李先恩, 杨世林. 地黄病毒及其亟待解决的问题 [J]. 中草药, 2001, 32 (7): 662-664.
- [3] 吴美芬, 陈伟东. 怀地黄块根、茎的组织培养及植株再生 [J]. 植物学通讯, 1986, (2): 41.
- [4] 杨丽军, 许智宏. 不同来源的怀地黄叶外植体在培养中植株再生的差异 [J]. 植物生理学通讯, 1985, (4): 38.
- [5] 李明军, 张嘉宝, 刘萍. 怀地黄离体培养再生植株及其生长调控 [J]. 河南师范大学学报 (自然科学版), 1996, 24 (4): 60-63.
- [6] Matsumoto M, Shoyama Y, Nishioka I, *et al.* Constituents of regenerated shoot and cultured root tissue of *Rehmannia glutinosa* [J]. Phytochemistry, 1989, 28 (9): 2331-2332.
- [7] 蒋立昶, 毛文岳, 余椿生, 等. 怀地黄愈伤组织的培养和植株再生 [J]. 中草药, 1979, (10): 48-64.
- [8] 毛文岳, 蒋立昶, 李效刚, 等. 怀地黄组织培养及其在育种和栽培中的应用 [A]. 中国药学会庆祝建会 80 周年学术讨论会论文集 [C]. 中国药学会, 1987, 015-A-2.
- [9] 毛文岳, 余椿生, 刘清琪, 等. 怀地黄茎尖培养的研究 [J]. 植物学通报, 1983, (1): 44-46.
- [10] 薛建平, 张爱岳, 李明军, 等. 怀地黄茎尖培养和植株再生技术的研究 [J]. 新乡医学院学报, 2000, 17 (1): 18-20.
- [11] Hatano M, Nakai R, Kawanishi F, *et al.* Genetic diagnosis of *Rehmannia* species micropropagated by tip tissue culture and an F1 hybrid by RAPD analysis [J]. Plant Breeding, 1997, 116: 589-591.
- [12] Shoyama Y, Nagano M, Nishioka I. Clonal multiplication of *Rehmannia glutinosa* [J]. Planta Med, 1983, 48: 124-128.

## 桔梗不同种质的比较研究

### ——桔梗的杂交及花色、种色的新类型与分离

魏建和, 杨世林, 李先恩, 徐昭玺, 程惠珍\*

(中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094)

**摘要:** 目的 探索桔梗种质遗传基础, 培育桔梗新品种。方法 不同桔梗种质杂交后观察。结果 桔梗人工授粉的合适时期为花开放、柱头裂开, 去雄后 5~6 d。发现了桔梗新的花色类型—粉花型。在紫花 ( $\sigma$ )  $\times$  白花 ( $\delta$ ) 和白花 ( $\sigma$ )  $\times$  粉花 ( $\delta$ ) 两个杂交组合的当代种子 ( $F_0$ ) 发现新颜色类型种子—黄绿色、灰绿色种子及杂色种子 (颜色嵌合), 而且在同一杂交果实内有不同颜色种子。结论 桔梗花色和种色存在新的变异与分离, 花色和种色有一定的相关性。种子颜色分离没有规律性比例关系, 其分离与遗传不符合种皮由珠被形成的一般规律, 较复杂。其自身遗传机制及和花色遗传的相互关系, 以及不同花色类型之间的遗传关系尚需进一步的研究。

**关键词:** 桔梗; 杂交; 花色; 种色; 新类型

\* 收稿日期: 2001-08-24

基金项目: 科技部基础性工作项目 (1999-2004); 国家中药材生产扶持资金 (1997-1999)

作者简介: 魏建和 (1970-), 男, 福建建阳人, 助研, 在读硕士, 主要从事药材野变家、种质资源、新品种选育、种子标准化和药材市场的研究, 目前主持北京市自然科学基金、中药材生产扶持资金项目 3 项, 参加国家自然科学基金重点项目和北京市科技项目等的研究。

中图分类号: R282. 21

文献标识码: A

文章编号: 0253- 2670( 2002) 05- 0455- 04

## Comparative studies on different germplasms of *Platycodon grandiflorum*

### — their intercross and new types and differentiation of flower and seed color

WEI Jian-he, YANG Shi-lin, LI Xian-en, XU Zhao-xi, CHEN G Hui-zhen

( Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences &amp; Peking Union Medical College, Beijing 100094, China)

**Abstract** **Object** To find out the genetic base of germplasms of *Platycodon grandiflorum* ( Jacq. ) A. DC. , and to breed new variety. **Methods** Observation after intercrossing the different genus of *P. grandiflorum*. **Results** The time of artificial pollination with higher fecundity was five to six days later emasculated during the bloom and top style split. A new type of *P. grandiflorum* with pale red flowers was found in the field. Kelly, celadon, and mottled seeds, which were new types and progenies from intercross, were also found in the combinations ( F<sub>0</sub> ): purple flower ( ♂ ) × white ( ♀ ) and white flower ( ♂ ) × pale red flower ( ♀ ), even in the same fruit of crossbreeding there were different color seeds. **Conclusion** The seed and flower color of *P. grandiflorum* had new types and differentiation. There were certain correlation between the colors of flower and seed, and no regular proportion between the number of seeds with different colors. For the heredity of the color of seeds was not up to the common regulation that the seed capsule derives from ovule surface, and complicated, more studies should be done to unclothe the genetic mechanism of the colors of seed and flower.

**Key words** *Platycodon grandiflorum* ( Jacq. ) A. DC. ; intercross; flower color; seed color; new type

桔梗 *Platycodon grandiflorum* ( Jacq. ) A. DC. 为桔梗科多年生草本植物。文献报道桔梗有紫花、白花和黄花类型<sup>[1,2]</sup>,目前种植的主要是紫花类型。近年还发现新变种重瓣桔梗 *P. grandiflorum* ( Jacq. ) A. DC. cv. Plenus X. S. Wen<sup>[3]</sup>。整齐一致的优良品种是实现中药材生产质量管理规范 ( GAP ) 的基础,为了考察不同地区桔梗的差异,筛选优良种质,培育新品种,我们收集了全国各地桔梗的种质,集中种植进行比较和筛选。在田间发现了一种新的花色变异类型。为了制订正确的选择方法,考察不同花色的控制基因及其相互关系,我们开展了不同花色型桔梗的杂交,在 F<sub>0</sub>发现新的种皮颜色类型,以及同一果实内种色的分离现象。

#### 1 材料与方法

实验材料为从全国各桔梗产地收集的种质,于1998年4月播种本所中药材原种场内。1999年2年生和2000年3年生时对种质进行观察调查,并做不同花色基因型的杂交试验,方法是:选择植株中上部未开放花朵小心去除雄蕊后套袋,于合适的时间授予其它植株花粉,授粉后继续套袋,果实膨大(约15d)后摘除,秋季果实成熟时按单果收获,调查结实情况及种子颜色 ( F<sub>0</sub>代种子 )

#### 2 结果与分析

2.1 粉花型桔梗的发现:桔梗种质基本以花冠颜色为紫色类型的植株为主。但紫花株中,有少量植株开

白花,该类型已有研究报道<sup>[1,2]</sup>。在田间我们还发现了一种花冠颜色为粉色的新类型,相对于白花型,这种粉花型桔梗植株很少,在近1亩的种质田中仅有7株,而白花型有28株。从形态性状看,粉花型较紫花和白花两种基因型出苗时间略晚,茎秆较细弱,植株矮小,其它性状基本没有区别。从花色分析,粉色介于紫色和白色之间,因此粉花型可能是来源于白花和紫花两种类型的杂交。

2.2 桔梗授粉的适宜时期:桔梗为异花授粉植物<sup>[1]</sup>,我们的试验结果表明白花和紫花桔梗均以异花授粉为主,也能部分自交(自交率15%~20%)。为考察桔梗花朵柱头发育情况及不同授粉时间对结实率的影响,选择未开放,呈绿白色,横向最宽处的直径约0.6~0.8cm的花朵去雄,此后每天授粉直至柱头萎蔫。结果表明桔梗从柱头未开裂、绒毛多的第2天至柱头萎蔫的第7天均可以接受外来花粉,但前期结实率低(6.7%~33.3%);去雄后的第5、6天柱头5裂,花粉投入裂口内的结实率较高(分别为80%和60%),为授粉适宜时期。

#### 2.3 F<sub>0</sub>代新的种色类型与分离

2.3.1 种子颜色的新类型及不同交配组合果实内种子的分离情况:文献记载桔梗种子颜色为黑色至棕色<sup>[1,4]</sup>。在进行不同花色基因型植株杂交后收获的F<sub>0</sub>种子中,我们发现颜色显著不同于黑色或棕色的黄绿色和灰绿色桔梗种子(整个种子的颜色只有一

种);以及杂色种子,即种子的两端为黄绿至灰绿色,中部有或小或大的黑色至棕色斑点或斑块,表现为颜色嵌合现象。

桔梗的一个果实内有种子数枚(几枚至上百枚),同一果实内一般只有一种颜色的种子(纯黑褐色或黄、灰绿色),但在部分杂交的果实内我们还发现一个果实内有上述各种不同颜色的种子(杂合果实)。具体情况见表1

表1 桔梗天然、杂交或自交组合果实内种子颜色及分离情况

处 理	授粉时间	结 果 实 数	种子颜色不同的果实数				备 注
			纯黑褐色	纯黄、灰绿色	杂合		
$\text{P}(\text{♀}) \times \text{W}(\text{♂})$	07-27	3	3	0	0		纯黑色
$\text{W}(\text{♀}) \times \text{W}(\text{♂})$	07-27	4	4	0	0		纯褐色
$\text{P}(\text{♀}) \times \text{W}(\text{♂})$	07-29	2	2	0	0		纯黑色
	07-31	5	5	0	0		纯黑色
	08-02	8	8	0	0		纯黑色
	08-04	5	5	0	0		纯黑色
	08-18	19	13	0	6		新颜色种子
	08-24	1	0	0	0		纯黑色
	08-25	5	2	1	2		新颜色种子
	08-26	12	4	3	5		新颜色种子
	08-27	9	5	0	4		新颜色种子
$\text{P}(\text{♀}) \times \text{M}(\text{♂})$	08-18	18	9	2	7		新颜色种子
$\text{W}(\text{♀}) \times \text{M}(\text{♂})$	08-18	9					纯棕色
p药植所天然种子	7-10月		500粒种子中黑褐色种子约480粒,黄绿灰绿色种子约20粒				
p亳州天然种子	7-10月		全部为黑褐色种子				
p山东天然种子	7-10月		全部为黑褐色种子				
W天然种子	7-10月		全部为棕色种子		种子来自 $\text{W}(\text{♀}) \times \text{P}(\text{♂})$		
M天然种子	7-10月		全部为褐色种子		种子来自 $\text{M}(\text{♀}) \times \text{M}(\text{♂})$		

注: P紫花, W白花, M粉花, ♀ 母本, ♂ 父本 × 杂交 ⊗ 自交

表1结果表明山东和药植所内试验地自然授粉的桔梗种子以黑褐色为主,有少量黄、灰绿种子,没有杂色种子;亳州自然授粉种子均为黑褐色。紫花自交( $\text{P} \times \text{P}$ )、白花自交( $\text{W} \times \text{W}$ )、白花和粉花杂交 [ $\text{W}(\text{♀}) \times \text{M}(\text{♂})$ ] 收获的种子为纯黑色、纯褐色和纯棕色,没有其它颜色,果实内也没有分离。8月18日前所做的紫花和白花杂交 [ $\text{P}(\text{♀}) \times \text{W}(\text{♂})$ ] 各个果实内的种子颜色也为纯黑褐色(有深浅差异)。组合  $\text{P}(\text{♀}) \times \text{W}(\text{♂})$  (8月18日后) 及组合  $\text{W}(\text{♀}) \times \text{M}(\text{♂})$  果实内出现了新颜色种子,有的果实内种子颜色还各不相同。3种种子颜色情况不同的果实数目见表1,没有发现规律性比例。

2.3.2 花色与种子颜色: 从表1数据看,种子颜色和花色有某种一致性,在自然授粉条件下花色越深,

种子颜色越深: 紫花、粉色花和白花植株的种子颜色分别为黑色、褐色和棕色。自交和杂交的试验结果基本也是这种趋势,但有些有例外。如白花自交种子颜色较天然白花株种子颜色深(由于试验田间紫花植株占绝大多数,自然授粉时白花株接受的为紫花花粉,即杂交组合为白花♀×紫花♂,其种子色应比白花自交深)。

2.3.3 杂合果实不同颜色种子的比例: 对24个杂合果实内不同颜色种子数进行了统计分析,结果表明杂交组合  $\text{P}(\text{♀}) \times \text{W}(\text{♂})$  对17个杂合果实共收获种子1502枚,黑褐色、黄、灰绿色和杂色种子的比例为1.8:1.5:1,每个果实不同颜色种子的比例各不相同。杂交组合  $\text{P}(\text{♀}) \times \text{W}(\text{♂})$  7个杂合果实共收获种子682枚,3种颜色种子比例为1.7:0.9:1,不同于组合  $\text{P}(\text{♀}) \times \text{W}(\text{♂})$ ,每个果实不同颜色种子数比例也各不相同。这些分离没有发现规律性比例关系。

### 3 讨论

3.1 桔梗的花色变异: 包括本文的研究,国内已发现4种花色基因型桔梗,即紫花型、黄花型、白花型和粉花型。郑毅男等<sup>[5]</sup>比较了白花型和紫花型桔梗的化学成分,发现二者的总皂苷薄层色谱结果一致。有的文献将白花桔梗作为紫花桔梗的1变种,命名为 *P. grandiflorum* (Jacq.) A. DC. var. *album* Hort<sup>[2]</sup>。对各种花色类型进行深入比较,特别是经济性状(如产量、药材性状、有效成分含量、药理作用等)的工作尚未开展,因此还无法表明黄花型、白花型和粉花型是否比紫花型更具有生产潜力。各种基因型的相互关系也没有研究。我们的杂交试验表明紫花型、白花型和粉花型之间不存在生殖障碍,至于粉花型是否来源于白花型和紫花型的杂交及其利用价值,尚需通过F1、F2代的研究结果及品系比较试验确定。

韩国1992年报道<sup>[6]</sup>从人工自花授粉的野生紫花桔梗后代中,获得1种淡红色用于观赏的新品系 *P. grandiflorum* (Jacq.) f. *Duplex*,该品系其它性状和亲代相似。该新品系和本文发现的粉色型桔梗似乎一致,但来源不同。另外 Cho-JT还研究了日本1种淡红色漏斗状花冠桔梗。

3.2 花色和种子颜色的相关: 桔梗种子颜色和花色存在某种对应关系表明,种子颜色的遗传和花色遗传存在连锁关系,即控制这两者的基因可能属于同一组的基因(但种子颜色的过渡类型多,变异丰富),或者有较紧密的连锁关系。

3.3 桔梗种子颜色变异与分离的解释: 初步解剖发现不同颜色的桔梗种子的胚及胚乳均为白色, 和文献记载相似<sup>[4]</sup>。桔梗种子颜色是种皮表现出的颜色。桔梗的花器在发育过程中, 5个突起的心皮原基迅速生长愈合, 上部合生成 1柱头, 下部形成 5室的子房, 子房内形成胚珠<sup>[7]</sup>。胚珠的珠被形成种皮, 种皮不是受精的产物, 应和母本的基因型一致, 即人工授粉果实内的种子应该和该株其它天然授粉果实所结种子的颜色一致, 即为黑色或棕褐色。那么对于新颜色的种子及同一果实内存在不同颜色种子该如何解释呢?

一种解释是: 黑色、褐色、黄绿色、灰绿色、杂色(嵌合)及各种过渡类型的种皮色均为相同的基因型控制, 造成不同颜色差异只是基因表达过程中的差异造成的(如受环境条件等的影响, 或不同心室内的种子发育情况不同); 但由于灰绿色种子和黑褐色种子颜色截然不同, 受同一种基因型控制的可能

性较小。另一种解释是: 果实直感, 即这些存在种子颜色分离的果实其种皮在发育过程中, 由于花粉的影响而表现出了一定父本的性状。由于桔梗为异花授粉植物, 同一植株的基因型是杂合的, 产生了各种不同基因型的花粉, 受不同基因型花粉的影响出现了新颜色的种子及分离现象。我们将通过更多的杂交试验及 F<sub>1</sub>代和 F<sub>2</sub>代的表现来确定何种原因。

参考文献:

- [1] 中国医学科学院药用植物研究所. 中国药用植物栽培学 [M]. 北京: 农业出版社, 1991.
- [2] 谢宗万. 中药材品种论述 [M]. 北京: 人民出版社, 1963.
- [3] 温学森. 桔梗一新栽培变种 [J]. 植物研究, 1996, 16 (3): 298.
- [4] 陈 璞. 实用中药材种子技术手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999.
- [5] 郑毅男, 李向高, 李树殿. 白花桔梗活性成分的研究—远志酸与桔梗皂甙元的分离与鉴定 [J]. 中成药研究, 1986, 6: 38-39.
- [6] Cho J T. Studies on the flower breeding of Chinese bellflower. Research Reports of the rural development administration [J]. Horticulture, 1992, 34 (1): 72-75.
- [7] 杨美全, 曾维群, 罗 建, 等. 桔梗花芽分化观察 [J]. 西南农业大学学报, 1994, 16 (2): 153-155.

## 浓蜜贝母的组织培养条件及不同时期生物碱积累的研究

李玉峰, 颜 钊, 唐 琳, 徐 莺, 陈 放\*

(四川大学生命科学学院, 四川 成都 610064)

摘 要: 目的 对浓蜜贝母 *Fritillaria mellea* 原种鳞茎进行组织培养, 比较浓蜜贝母愈伤组织生长过程中不同时期的总生物碱含量。方法 采用不同激素、温度、光照等方法, 探索浓蜜贝母愈伤组织的最佳诱导率条件, 并对其总生物碱含量进行测定。结果 浓蜜贝母的最佳诱导条件为激素及浓度: NAA 1 mg/L+ 6BA 6 mg/L; 温度 (22± 1) °C; 散射光照; 愈伤组织形成后 20 d 左右时的总生物碱含量最高。结论 浓蜜贝母愈伤组织的总生物碱含量高于原种鳞茎。

关键词: 浓蜜贝母; 组织培养; 愈伤; 诱导; 生物碱

中图分类号: R282.13

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)05-0458-02

### Studies on conditions of tissue culture and accumulation of alkaloids at different period in *Fritillaria mellea*

LI Yu-feng, YAN Fang, TANG Lin, XU Ying, CHEN Fang

(College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu Sichuan 610064, China)

**Abstract** Object To compare the contents of alkaloids of callus at different period with tissue culture of fresh bulbs of *Fritillaria mellea* S. Y. Tang et S. C. Yueh. **Methods** To study the best condition of induction frequency of callus about some phytohormones, temperature and light, and then to determine the contents of alkaloids of callus in *F. mellea*. **Results** The best condition of induction frequency of callus above was NAA 1 mg/L+ 6BA 3 mg/L; temperature at (22± 1) °C and scattered light; the contents of alkaloids were kept highest in about 20th day after the callus appeared. **Conclusion** The contents of alkaloids of callus are kept higher level than fresh bulbs of *F. mellea*.

**Key words** *Fritillaria mellea* S. Y. Tang et S. C. Yueh; tissue culture; callus; induction; alkaloid