

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^[4]。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^[7]。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F1代和F2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

收稿日期: 2001-08-28

作者简介: 李玉峰, 男, 36岁, 四川大学生命科学学院植物学九届博士生, 高级工程师。

浓蜜贝母 *Fritillaria mellea* S. Y. Tang et S. C. Yueh 主要分布在四川西北部海拔 2 900~ 3 400 m 的陡坡、岩阶的灌丛或灌林下,为著名的川产道地药材的“冲松贝”的主要来源之一,素有“小山货”之美誉^[1],为川贝类商品药材的主流品种。植物组织培养近些年发展较快,在药用植物开发研究和生产中具有特殊的意义和应用潜力。贝母的组织培养已在川贝母^[2]、暗紫贝母^[3]、浙贝母^[4]、伊贝母^[5]、平贝母^[6]等中获得成功,但有关浓蜜贝母组织培养的文章未见报道。我们以浓蜜贝母药用部位鳞茎作组织培养,取得了成功,并就组织培养过程中不同时期的生物碱含量进行测定,为进一步开展贝母次生代谢产物含量的研究提供一些必要的基础资料。

1 材料和方法

1.1 培养材料的采集与鉴定:浓蜜贝母采自四川茂县松平沟,并经本校生命科学学院鉴定。

1.2 无菌材料的准备:将浓蜜贝母鳞茎洗去泥土,用自来水冲洗后,再用蒸馏水冲洗,滤纸吸干后,用 70% 的酒精处理 1 min,然后用滤纸吸干,再用 0.2% HgCl₂消毒 10 min,最后用无菌水冲洗 4~5 次,切成 0.1 cm 左右的切片,接种^[3]。

1.3 愈伤组织的诱导

1.3.1 不同激素、温度、光照条件的筛选:采用 MS 固体培养基^[7],外源激素分别为 NAA 2,4-D KT 6BA,浓度为 1~3 mg/L,分别在 (2±1) °C, (22±1) °C, (25±1) °C 避光和散射光等 5 种不同条件下培养。其中,光照强度为 1 000~1 500 lx,时间为 10~12 h。

1.3.2 不同浓度激素组合的筛选:依据 1.3.1 的结果,采用 NAA+6BA 的不同浓度组合,NAA 为 0.5~1 mg/L,6BA 为 1~3 mg/L。

1.4 原种鳞茎、不同时期愈伤组织生物碱含量测定

1.4.1 贝母甲素由中国药品生物制品检定所提供,UV-754 紫外分光光度计为上海第三分析仪器厂生产,所用试剂均为分析纯。材料为贝母愈伤组织出现后 10、20 及 50 d 的组培物。

1.4.2 对材料称重、折干后,参照李萍^[8]和宋福坤^[9]的贝母总生物碱测定方法,略作改进后,测定其总生物碱含量。最大吸收波长为 410 nm, $r=0.9978$ ($n=5$)。

2 结果和讨论

2.1 在培养 25 d 后,鳞茎开始长出许多小芽,再经 1~2 周培养,形成愈伤组织。结果表明 NAA, 6BA, (22±1) °C, 散射光照对浓蜜贝母愈伤组织的诱导

效果最佳。以 NAA+6BA 的组合对其鳞茎诱导,结果见表 1。

表 1 不同激素组合对浓蜜贝母愈伤组织的诱导率 (%)

NAA (mg/L)	6BA (mg/L)		
	1.0	2.0	3.0
1.0	49.2	50.1	66.8
1.5	40.0	41.6	48.7
2.0	37.6	35.2	41.3
3.0	22.4	31.7	29.5

表 1 的结果表明 NAA 1.0 mg/L+6BA 3.0 mg/L 的诱导率最高, NAA 3.0 mg/L+6BA 1.0 mg/L 的诱导率最低。

2.2 浓蜜贝母新鲜鳞茎及愈伤组织出现后 10、20、50 d 总生物碱含量的测定,结果见表 2。

表 2 原种鳞茎及不同时期愈伤组织的总生物碱含量

材料	重量 (g)	折干率 (%)	生物碱含量 (%)
原种鳞茎	5	20.7	0.18
10 d 愈伤	5	13.7	0.28
20 d 愈伤	5	14.5	0.33
50 d 愈伤	5	12.4	0.22

从折干率看,愈伤组织出现后 20 d 左右时的折干率最高,50 d 后最低,说明 20 d 以前是组培干物质积累的最佳时期,到 50 d 后,培养基营养物质已消耗殆尽,生长逐渐减弱。从浓蜜贝母愈伤组织生物碱的积累过程看,其愈伤组织出现后 20 d 左右的生物碱含量高,结果显示愈伤组织的生物碱含量普遍比原种鳞茎高,最高的可达 1.8 倍。

2.3 我们对浓蜜贝母愈伤组织的诱导以及对其不同时期的生物碱含量的测定,表明应用组织培养技术对浓蜜贝母进行无性繁殖是完全可行的,且其总生物碱含量不低于原种鳞茎,这就为进一步开展贝母次生代谢的研究和开发提供一些必要的基础资料。

参考文献:

[1] 许介眉. 四川植物志 [M]. 第七卷. 成都: 四川民族出版社, 1991.
 [2] 陈敏, 陈和荣, 钟凤林, 等. 川贝母组织培养的研究 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20 (8): 461-462.
 [3] 李隆云, 周裕书, 代敏, 等. 暗紫贝母鳞茎再生组织培养技术研究 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20 (2): 78-80.
 [4] 苏新, 赵岚. 浙贝母鳞茎的定向组培 (简报) [J]. 植物生理学报, 1990, 26 (5): 19-21.
 [5] 樊平, 朱四易, 李宝璋. GA 对伊贝母休眠外植体诱导愈伤组织的作用 [J]. 中药材, 1992, 15 (4): 6-7.
 [6] 杜令阁, 侯艳华, 常维春, 等. 平贝母花粉植株的诱导及无性系的建立 [J]. 遗传学报, 1986, 13 (4): 262-266.
 [7] 蔡朝晖, 李萍, 高山林. 中药贝母的组织培养研究概况 [J]. 中草药, 1998, 29 (4): 274-276.
 [8] 李萍, 徐国钧, 金蓉鸾, 等. 中药贝母类的研究 XV. 21 种贝母总生物碱含量的测定 [J]. 中国药科大学学报, 1990, 21 (5): 319-320.
 [9] 宋福坤, 赵勤. 湖北贝母与川贝母生物碱含量的比较 [J]. 药学进展, 1998, 22 (1): 49-50.