中药资源

南川百合组织培养研究

刘燕琴*, 胡开治, 肖波, 谢贤明, 刘杰
(重庆市药物种植研究所, 重庆 408435)

[摘要] 目的: 应用组培知识, 研究南川百合组培诱导小鳞茎技术。方法: 在MS培养基上添加不同的激素配比, 采用鳞片的不同部位为外植体。结果: 筛选出外植体诱导产生小鳞茎的最佳培养基MS+6-BA $2.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +GA $2.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 鳞片的下部小块分化率最高, 为90.0%。结论: 采用组织培养方式可进行南川百合的快速繁殖, 可以为人工种植发展提供大量优质的种源。

[关键词] 南川百合; 组织培养

南川百合 *Lilium rosthornii* Diels 为百合科百合属多年生草本植物, 原产地为重庆南川市金佛山周围, 海拔350~1100m的山沟, 溪边, 林下, 6~9月为开花期。其药用部分是干燥的肉质鳞片, 具有养阴润肺, 清心安神的功效。开花期长, 花色呈红黄色、黄色, 花型呈卷丹样, 花被有紫色斑点, 质感平滑, 观赏价值极高。近年来, 大量的野生资源被采挖, 破坏, 现存的资源已十分有限, 急需进行人工保护和发展, 否则将面临着灭绝的境地。但是, 南川百合种子大量败育, 而鳞茎的繁殖数量非常有限, 这就大大阻碍了南川百合的繁殖发展。所以, 运用组培方法研究南川百合的小鳞茎繁殖技术就显得十分必要。

1 材料

采摘于金佛山周围的林下, 山沟的新鲜的材料。

2 方法

2.1 鳞茎诱导小鳞茎的试验

取采下的新鲜鳞茎, 去泥沙和腐烂的部位, 在自来水下冲洗净, 洗衣粉浸泡2h, 流水冲洗1h, 用75%的酒精浸泡30s, 0.1%的升汞处理10min, 再无菌水冲洗4次, 最后用无菌纸吸干, 以备用(以下的消毒方法相同)。

在超净工作台上, 将鳞茎片切成 $0.5\sim 1.0\text{cm}^2$ 的小块, 然后随机接种到培养瓶中, 每组20瓶, 每瓶一块。置于培养室内培养, 培养条件: 温度 $(25\pm 2)^\circ\text{C}$, 光照强度3000 lx, 光周期为 $12\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ (下同)。

本试验以MS为基本培养基, 通过附加不同浓度的NAA、6-BA、GA, 设计了6组培养基。其编号、成分见表1。

表1 由鳞片诱导小鳞茎的培养基及诱导结果

编号	NAA/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	6-BA/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	GA/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	污染数	诱导数	诱导率/%	分化在鳞片上的平均鳞茎数
1	0	0	0	4	3	18.7	1.3
2	0.5	0	0	3	5	29.4	1.6
3	0.5	0.5	0.5	2	6	33.3	2.1
4	0.5	1.5	1.0	5	8	53.3	3.2
5	0.5	2.0	2.0	3	11	64.7	3.5
6	0.5	2.5	3.0	4	9	56.3	3.0

注: 接种数为20

[通讯作者] *刘燕琴, E-mail: sasa1976@tom.com。

2.2 鳞片的不同部位诱导小鳞茎能力的试验

本试验按培养材料来源不同,设计了3个处理,将百合鳞片依照上述方法消毒后,将同一鳞片按上、中、下,3个部位切割,分别接种,每一处理50瓶,每一瓶接种3片。统一采用MS + NAA0.5mg·L⁻¹ + GA2.0mg·L⁻¹ + 6-BA2.0mg·L⁻¹培养基培养,培养条件同上。

3 结果

3.1 NAA, GA, 6-BA 不同浓度对比对鳞片诱导小鳞茎的影响

培养8d后,从外植体近轴面基部出现启动迹象,形成一些淡绿色的小突起,随培养时间的延长,小突起为鳞茎样,进一步膨大成小鳞茎,为绿色带褐斑、簇生、形状规则。每块产生小鳞茎数目不一,少的1到2个,多的5到6个。培养60d进行统计,见表1。

由表1可知,无激素的MS培养基诱导作用最小,诱导率仅为18.7%,产生的小鳞茎数少。当培养基中存在NAA、6-BA、GA时,诱导作用明显增强,小鳞茎数也相应增加。当NAA固定为0.5mg·L⁻¹,6-BA、GA浓度逐渐提高时,诱导率和小鳞茎数也逐渐上升。当6-BA、GA都为2.0mg·L⁻¹时,诱导率达最高。在一定范围内,高浓度的激素促进鳞茎片的分化,但浓度过高时,促进作用减弱,甚至出现玻璃化现象。所以,选择出最适合小鳞茎诱导的培养基是MS + NAA0.5 mg·L⁻¹ + 6-BA2.0mg·L⁻¹ + GA2.0 mg·L⁻¹。

3.2 鳞片不同部位对小鳞茎诱导的影响

接种培养60d时统计,结果见表2。

表2 鳞茎不同部位的诱导率

部位	污染数	诱导数	诱导率/%
上	10	2	5.0
中	12	6	15.8
下	10	36	90.0

注:接种数为50

从表2可知,同样在最佳培养基上培养,鳞片不同部位的诱导率差异极大,其中鳞片的下部诱导率最高,为92.5%;中部次之,为15.8%;上部最小,仅为5.0%。这和鳞片扦插时小鳞茎发生都集中在鳞片近轴面基部是一致的。分析原因,可能跟鳞片的内源激素的分布有关,也可能与不同部位的细胞生化特性有关。**TCM**

参考文献

- [1] 吴国芳,冯志坚,马炜梁,等.植物学[M].北京:高等教育出版社,1994.
 - [2] 陈小兰,胡琼华,王红霞,等.金百合的离体快速繁殖[J].植物生理学通讯,2000,36(4):334.
 - [3] 王家福,陈振兴.百合快速繁殖条件的优化[J].福建农业大学学报,1999,28(2):152-156.
 - [4] 罗丽萍,杨柏云,章敏华,等.百合的组织培养[J].中草药,2001,32(7):640-642.
 - [5] 吕玉虎,李彬青,吴淑平,等.百合的离体组织培养及快速繁殖[J].信阳农业大学学报,2002,31(3):254-257.
- (收稿日期 2006-06-23)

(上接第31页)制工艺[J].中国中药杂志,2001,26(7):460-462.

[12] 江俊,余子川,文莉.正交法优选鳖甲水煎工艺技术参数[J].中成药,1999,21(12):632-633.

[13] 陆兔林,毛春芹,叶定江.正交法优选醋炙三棱最佳炮制工艺[J].中草药,2000,31(9):665-667.

[14] 吴剑峰,杨安平,李海燕,等.正交法筛选酒炙丹参的最佳炮制条件[J].中成药,1999,21(11):573-574.

[15] 吴皓,叶定江,刁和芳,等.正交法优选姜半夏的最佳炮制工艺[J].中国中药杂志,1996,21(11):660-663.

[16] 韦英杰,杨中林,杜慧,等.正交设计优选东北南星炮制

工艺[J].中成药,2002,24(11):846-848.

[17] 张莹,王桂娥,朱天琪.桔矾炮制工艺的优选[J].中药材,2001,24(4):262-263.

[18] 闫静,贾桂芝,沙延生.磁石最佳炮制条件的实验研究及其微量元素的测定[J].中国中药杂志,1999,24(2):86-87.

[19] 张贞丽,谢鸿霞,吕海平,等.煅淬紫石英炮制工艺的实验研究[J].中成药,1997,19(2):21-23.

[20] 吕秀莲,施丛蓉,陈妍妍.磁石煅烧方法的最佳选择[J].中国中医药信息杂志,1998,5(2):31.

[21] 王萍,陈青莲,吴新云.正交法研究磁石炮制最佳工艺[J].中成药,1998,20(12):17-18.

(收稿日期 2006-05-22)