

产孢;菌丝干重以 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 和组氨酸最好,分别为 126.0 和 121.0 mg,其余处理之间差异不显著。缺 N 培养基上菌落生长优于某些 N 源培养基,而干重和产孢量几乎低于所有 N 源。以上表明氮的质和量对菌丝生长和产孢均有极显著的影响,亚硝酸钠和尿素对病菌有强烈的抑制作用(表 6)。

3 结论与讨论

3.1 关于龙胆科上的壳针孢属 *Septoria* 真菌,白金铠先生在《中国真菌》(第十七卷)中明确有 2 个种^[2],经鉴定,寄生在甘肃的秦艽 *Gentiana* spp. 上的壳针孢为 *Septoria gentianae*。

3.2 *S. gentianae* 的培养虽然生长缓慢,但在本测试的大多数培养基和条件下均能生长和产孢,反映了该病菌有较强的适应能力。

3.3 适合病菌菌落扩展的最佳条件:以木糖为 C 源的 PA 培养基, N 源为丙氨酸, pH 7, 在 20℃, 12 h 黑暗 + 12 h 荧光或 8 h 紫外光 + 16 h 荧光下培养。

适合菌丝生长的最佳条件为: pH 7, OA 培养液, 25℃ 全黑暗或 8 h 紫外光 + 16 h 黑暗, 碳源为棉子糖, 氮源 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 。适合产孢的最佳条件为: pH 7, PSA 培养基, 20℃, 4 h 紫外光 + 20 h 荧光, N 源为 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 。

参 考 文 献

- [1] 魏景超. 真菌鉴定手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [2] 白金铠. 中国真菌志(第十七卷). 北京: 科学出版社, 2003.
- [3] 方中达. 植物研究法. 北京: 农业出版社, 1979.
- [4] 俞大维. 植物病理学和真菌学技术汇编(卷二). 北京: 人民教育出版社, 1977.
- [5] 李金花, 柴兆祥, 董克勇, 等. 罂粟霜霉病原及其生物学特性. 中国中药杂志, 2002, 27(3): 176-179.

(2006-02-28 收稿)

平贝母快速繁殖研究

许 矛, 张美萍*

(吉林农业大学生物技术学院, 吉林长春 130118)

摘要 采用组织培养方法, 以平贝母鳞茎切块、幼茎切段诱导愈伤组织、球状小鳞茎、胚状体, 通过器官发生和胚状体两种途径可得到高产、高效的再生植株。所有培养物的总生物碱含量均接近或高于栽培的平贝母药材。

关键词 平贝母; 组织培养; 再生植株; 生物碱

中图分类号: R282.2 **文献标识码**: A **文章编号**: 1001-4454(2007)01-0006-03

很多高等植物离体培养技术的成功与否, 与获得再生植株有关。药用植物更离不开有用次生代谢物含量。百合科贝母为常用的中草药, 有止咳、祛痰等功效。按原产地可分为浙贝、平贝、川贝和伊贝四种。由于资源的日益匮乏, 平贝出现了供不应求。以往对药用植物平贝母 *Fritillaria assuriedsis* Maxim 的组织培养已取得了一些阶段性成果^[1-3]。本研究在原有基础上, 以平贝母不同部位为外植体, 通过二种途径得到低成本的再生植株, 并测定了平贝母组培物的总生物碱含量。

1 材料和方法

供试材料为吉林农业大学生物技术学院标本园种植的 2 年生平贝母的鳞茎和茎段。先以清水洗净, 休眠鳞茎再用 500 mg/L GA 浸泡。接种前用 75% 酒精过洗, 再用 0.1% 升汞表面消毒 12-14 min,

无菌水冲洗 5-6 次后, 切成 5.0 mm 小块, 每瓶用 25 ml MS 培养基。MS 培养基附加 NAA、BA、2,4-D 和 KT 四种激素, 培养温度 22℃, 光照 1500 Lux。超声波法提取、酸性染料比色法测定总生物碱含量^[4]。

2 结果与分析

2.1 培养基筛选预试验 选择了 MS、N6、B5、H 四种, 附加 IBA 1.0 mg/L 和 BA 1.0 mg/L。鳞茎和茎段接种 40 天后, 四种基质中以 MS 不定芽的诱导率最高, 并于第 38 天出现高峰, 形成芽丛、生长旺盛。同样, 诱导愈伤组织也以 MS 最佳, 第 23 天后趋于平稳。

2.2 不同外植体以器官发生途径形成再生植株

2.2.1 平贝母鳞茎: 将鳞茎切块接种在不同激素浓度的培养基, 7 天后开始启动, 23 天后开始形成淡黄色致密的愈伤组织或直接形成白色小球体, 在

* 通讯作者: 张美萍。

NAA、BA 组合中,随着 BA 浓度升高,愈伤组织和不定芽诱导率均提高;2,4-D 与 KT 组合的诱导效果不及 NAA 和 BA 组合,虽有愈伤组织但很少有不定芽直接发生,结果见图 1。

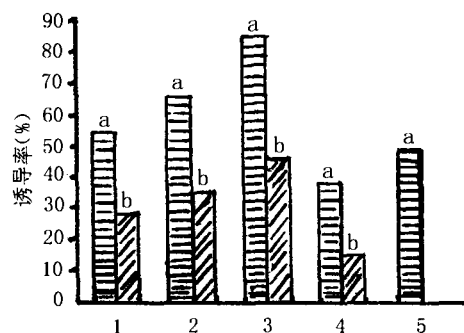


图1 不同培养基对鳞茎切块诱导愈伤和不定芽的影响

1. MS + NAA 0.5 mg/L + BA 0.2 mg/L
2. MS + NAA 0.5 mg/L + BA 0.5 mg/L
3. MS + NAA 0.5 mg/L + BA 1.0 mg/L
4. MS + 2,4-D 1.0 mg/L + KT 1.0 mg/L
5. MS + 2,4-D 1.5 mg/L + KT 1.0 mg/L
- a. 愈伤组织 b. 不定芽

2.2.2 平贝母茎段:茎段接种 7 天后开始膨大、弯曲、开裂,14 天左右开始长出黄色愈伤组织,25 天后形成不规则的愈伤组织,并生出许多小鳞茎(图 2-1),诱导率最高达 88.24%。外植体还可以直接从

叶节出分化出小鳞茎(图 2-2)。外植体越大产生愈伤组织也较早,3 mm 左右的茎段约 7 天开始萌动,1 mm 的茎段第 9 天才开始萌动。

2.2.3 平贝母愈伤组织诱导小鳞茎及再生植株:将诱导出的愈伤组织用 NAA 0.5 mg/L + BA 1.0 mg/L 的 MS 培养基继代,周期为 30 天。继代一次后可见愈伤组织上有白色的芽点出现,并随着继代培养而长大(图 2-3)。将外植体诱导的愈伤组织分化成的球状小鳞茎,于 17℃ 培养箱光培养,15 天左右有绿叶生长,1 个月后叶片伸长呈窄而且细长的披针形。一般每个小鳞茎着生一枚叶片,一周以后,在底部开始发生根系,形成再生植株(图 2-4)。

2.3 鳞茎通过胚胎发生途径形成再生植株 将由鳞茎产生的愈伤组织以①:NAA 0.5 mg/L + KT 0.5 mg/L + CH 500 mg/L;②:NAA 1.0 mg/L + BA 2.0 mg/L + CH 500 mg/L;③:NAA 1.0 mg/L + BA 1.0 mg/L + CH 500 mg/L 三种培养基继代。40 天后发现愈伤组织上生出淡黄色半透明的小点,易从愈伤表面剥离下来而不象不定芽那样与愈伤组织连接紧密。从稍大些的颗粒可以看出有两极性,通过石蜡切片还观察到了心形胚,将其转接至 MS 无激素基质中,22℃ 下光培养约 30 天就形成带有完整根系的针状苗(图 2-5)。

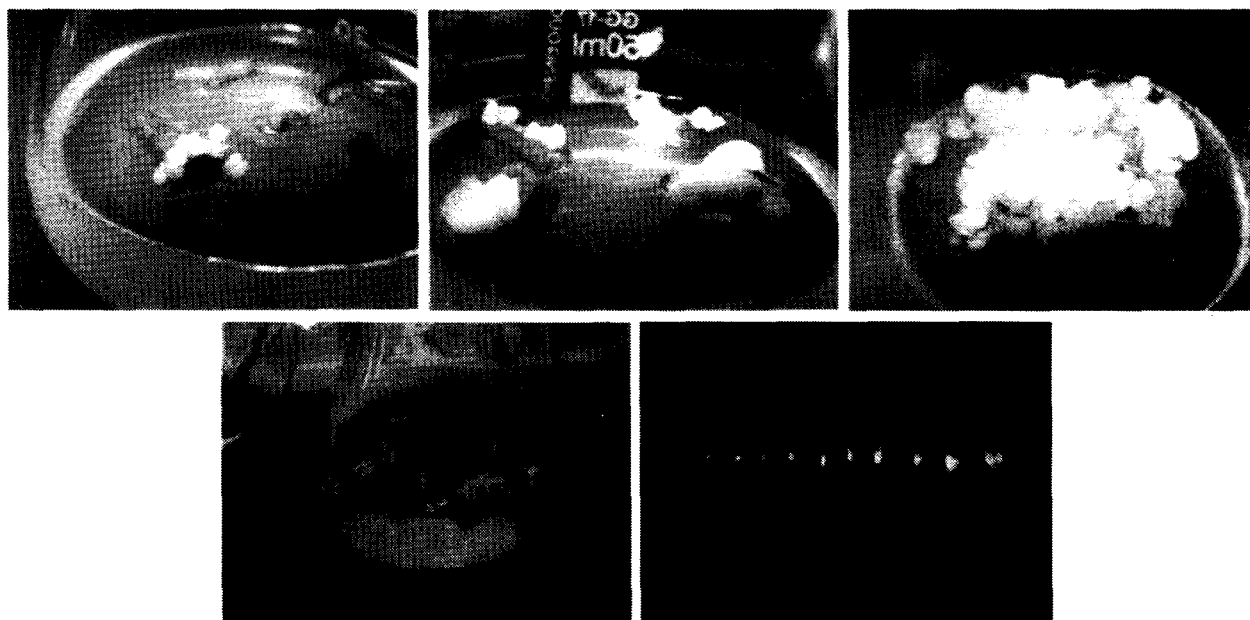


图2 平贝母外植体分化与再生

2.4 总生物碱含量测定 总生物碱的提取和测定按文献的方法^[4]。得到回归方程为: $C = 5.967A - 1.116$, $R = 0.999$ 。不定根的总碱含量是栽培鳞茎的 1.6 倍,愈伤组织的总碱含量是栽培鳞茎的 0.9 倍,所有的培养物的总碱含量均接近或高于栽培生

药。

3 讨论

3.1 平贝母的不同外植体在 MS、B5、N6、H 四种基质上诱导愈伤组织及分化物的实验结果表明 MS 的诱导效果最好,其次是 N6,与已往的研究结果一

致^[5]。

3.2 不同外植体、不同激素组合对诱导平贝母产生愈伤组织或直接分化不定芽的效果不同。茎段较易诱导愈伤组织,而鳞茎切块则易于直接分化产生不定芽。由鳞茎产生的愈伤组织色泽淡黄质地致密,有良好的分化能力,产生的小球体健壮,且分散在愈伤组织表面,是诱导再生小鳞茎的理想材料。

3.3 从愈伤组织获得胚状体后要及时更换无激素的培养基。本实验中 2,4-D 不能诱导平贝母产生不定芽,NAA 是平贝母产生胚状体的必要因子。

3.4 据报道,低温处理是贝母离体再生植株的必要条件^[6]。在自然状态下,平贝母地下鳞茎休眠期长达 4~5 个月,此时地温很低。实验以 500 mg/L 的 GA 预处理平贝母的休眠鳞茎,缩短了休眠期,仅 40 天就可获得再生植株,比文献报道的 60 天提早了 20 天^[7]。

3.5 平贝母组培物的总生物碱含量测定结果表明:以不定根含量最高,不定芽和愈伤组织的含量较低,但也高或接近栽培的生药。生物碱含量直接关系到药用价值。

3.6 每块外植体可以分化 30~40 个小鳞茎,进而

形成再生植株。假设每株再生植株可以卖 0.2 元,每瓶培养物的产值至少 6.0 元。大规模平贝母再生植株的培养可以带来可观的经济效益。

参 考 文 献

- [1] 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. 遗传学报,1986,13(4):262-265.
- [2] 李萍,曾令杰,李松林,等. 无紫外吸收的贝母总生物碱定量分析方法研究. 中国药理学杂志,2002,37(8):614-617.
- [3] 唐巍,杨映根,桂耀林,等. 培养条件对平贝母愈伤组织分化的影响. 生物技术,1996,6(4):11-14.
- [4] 王冲之,孙健,李萍,等. 贝母类药材生物碱含量测定方法学研究. 中国中药杂志,2003,38(6):415-418.
- [5] 吴绛云,唐巍. 药用植物平贝母组织培养的研究. 东北农学院学报,1992,23(2):188-195.
- [6] 王伦山,杨汉民,王亚馥,等. 伊贝母组织培养中体细胞胚的形成及细胞组织学观察. 西北植物学报,1989,9(2):76-78.
- [7] 李强,凌丽莉,傅华龙,等. 低温诱导对组培川贝母胚状体成苗的影响. 四川大学学报(自然科学版),2003,40(2):367-370.

(2006-03-29 收稿)

荆芥三项栽培措施对产量的影响

张志梅^{1,2},赵永华⁴,郭玉海^{1*},翟志席¹,邓素君³,卜彦英³,付秀敏³,赵志民³,杨春清⁴

(1. 中国农业大学农学与生物技术学院中药材研究中心,北京 100094; 2. 中国药材集团公司,北京 100055; 3. 河北省安国市农业局,河北安国 0712004; 4. 中国医学科学院药用植物研究所,北京 100094)

摘要 目的:探讨播期、密度、施肥等对荆芥产量的影响。方法:采用称重法测定荆芥干物质。结果:本试验条件下,4月15日为荆芥最佳播期;120万株/hm²为荆芥最佳密度;施磷肥及微肥 MnSO₄ 均能显著提高荆芥产量。结论:合理的播期及种植密度是荆芥高产的保证。

关键词 荆芥;播期;密度;施肥;产量

中图分类号:R282.2 **文献标识码**:B **文章编号**:1001-4454(2007)01-0008-02

唇形科荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* (Benth.) Briq. 为一年生草本,全草和穗加工后用于感冒、头痛、麻疹不透等。关于栽培措施对荆芥产量影响的报道较少,本研究采用播期、密度和施肥等不同处理,探讨了不同栽培措施对荆芥产量的影响。

1 材料和方法

试验地设在河北省安国市原种场。土壤为壤

土,有机质含量 0.85%,碱解氮含量 45.68 mg/kg,速效钾含量 119.99 mg/kg,速效磷含量 4.7 mg/kg。排灌方便,前茬作物为小麦,深耕 40~50 cm。播前施 450 kg/hm²,钾肥 300 kg/hm²。小区面积均 5 m × 6 m,三次重复。

荆芥于 2001 年 4 月种植。

试验处理如下:播期:分 3 月 25 日,4 月 15 日,

基金项目:国家“十五”科技攻关重大项目(2002BA517A02);国家重点科技项目(攻关)(99-929-01-21)

作者简介:张志梅(1977-),女,博士生,研究方向:药用植物栽培。

* 通讯作者:郭玉海,Tel:(010)62732556,E-mail:jzysh@cau.edu.cn。