

Cistanche Hoffm. et Link, Fl. Port. 1: 319. tab. 63. 1809.

本属约有 20 余种, 分布于欧、亚洲温暖的干燥地区, 自欧洲的伊比利亚半岛, 经非洲北部、亚洲的阿伯半岛、伊朗、阿富汗、巴基斯坦、印度北部, 到我国西北部、前苏联中亚地区和蒙古。我国有 5 种, 分布于内蒙古、宁夏、甘肃、青海以及新疆等地。

1 沙苻蓉

Cistanche sinensis Beck in Engler, Pflanzenr. IV. 261 (Heft 96): 38. 1930. Parasitic on *Ammopiptanthus mongolicus* (Maxim.) Cheng, *Caragana tibetica* Komar., *Potania mongolica* Maxim., *Salsola passerina* Bunge, *Tetraena mongolica* Maxim. and *Zygophyllum xanthoxylum* (Bunge) Maxim.

2 兰州肉苻蓉

Cistanche lanzhouensis Z. Y. Zhang, Bull. Bot. Res. 4 (4): 114. fig. 1-6. 1984. --- *Cistanche ningxiaensis* D. Z. Ma & J. A. Duan in Acta Bot. Bor.-Occid. Sin. 13 (1): 75. 1993.

Slopes; Gansu, S Nei Mongol, Ningxia (S and E Mongolia).

3 管花肉苻蓉

Cistanche mongolica Beck in Engler, Pflanzenr. IV. 261 (Heft 96): 34. 1930.

Sandy places; ca. 1200 m. S Xinjiang (Afghanistan, India, Kazakstan, Kyrgyzstan, Pakistan, Tajikistan, Turkmenistan, Uzbekistan; SW Asia).

4 肉苻蓉

Cistanche deserticola Ma, Acta Sci. Nat. Univ. Intramontgol. 1960(1): 63. fig. 1. 1960.

Sandy places; 200-1200 m. Gansu, Nei Mongol, Ningxia, Xinjiang (Mongolia).

5 沙苻蓉

Cistanche salsa (C. A. Mey) Beck in Engler & Prantl, Nat. Pflanzenfam. 4(3b): 129. 1895 Slopes; 700-2700 m. Gansu, Nei Mongol, Qinghai, Xinjiang (Kazakstan, Kyrgyzstan, Mongolia, Tajikistan, Turkmenistan, Uzbekistan); SW Asia.

Parasitic on species of the Chenopodiaceae.

收稿日期: 2000-08-28

菘蓝下胚轴组织培养研究

陈薇¹, 杜利云², 寸守铄¹, 赵丰萍¹ (1. 云南省农科院生物技术研究所, 昆明 650011; 2. 云南省药物检验所, 昆明 650011)

摘要: 以菘蓝下胚轴为实验材料, 分析比较了 5 种植物激素 2,4-D、NAA、6-BA、ZT、KT, 对其愈伤组织的诱导和分化的影响。经方差分析, 在这 5 种激素中, 生长素 2,4-D、NAA 对下胚轴愈伤组织的诱导和分化影响极大, 达到极显著水平, 并决定下胚轴脱分化及再分化的趋势, 而细胞分裂素 6-BA、ZT、KT 对其诱导和分化影响较小, 未达到显著水平, 生长素与细胞分裂素之间的互作也未达到显著水平。实验还确定了菘蓝下胚轴愈伤组织诱导与分化的最佳激素配比。

关键词: 菘蓝(板蓝根); 组织培养

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1006-0111(2000)04-0337-03

菘蓝(*Isatis indigotica*) 属十字花科菘蓝属二年生植物, 俗称板蓝根, 具有清热解毒、凉血、止血之功效, 对多种细菌性、病毒性疾病如流感、流脑、肺炎、肝炎有良好的预防和治疗效果, 是我国传统常用中药材之一。板蓝根含有多种氨基酸、谷甾醇、靛青、靛玉红等多种药用成分。菘蓝同时也是一种油料作物, 其种子含有油酸、亚油酸等多种脂肪酸, 而且其农艺性状好, 抗病力强, 在作物育种中有良好的应用前景。但目前国内外有关菘蓝组织培养的报道较少。本文以菘蓝下胚轴为实验材料, 对其愈伤组织的诱导和分化作了较为详细的研究, 为运用生物技术进一步开发和利用这一植物资源提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料及来源

菘蓝种子由中国农科院油料所提供。

1.2 培养基

以 MS 为基本培养基, 附加不同激素及 3% 蔗糖和 0.8% 琼脂粉, pH 5.8

1.3 愈伤组织诱导

菘蓝种子经常规表面灭菌后, 接入无激素 MS 培养基中, 培养 7 天后, 切取中上部下胚轴, 将其切成 3-5mm 的小段, 接入附加不同激素比例的培养基中。培养物置温度 26℃(+2℃), 连续散光照射的培养箱中, 培养 25 天后, 统计其愈伤组织的诱导率, 数据经转换后, 进行方差分析。

1.4 植株再生

诱导的愈伤组织转入分化培养基中, 诱导分化再生

植株。当再生的无根苗长至 3-4cm 时, 将其切下, 转移至附加 IAA 0.2 mg/L 的 1/2MS 生根培养基中, 诱导生根。具根的完整再生植株移栽到珍珠岩和沙土各半的栽培基

质中, 炼苗 2 周, 然后移栽到土壤中, 按常规方法管理。

2 结果和讨论

2.1 不同激素对菘蓝下胚轴愈伤组织诱导的影响

表 1 不同外源激素对菘蓝下胚轴愈伤组织诱导的影响

激素组合 Matching of hormone					接种总数 No. of explants	愈伤组织 Calli				
生长素(mg/L) Growth hormone		细胞分裂素(mg/L) Mitosis				诱导率(%) Inducing rate			生长量 Growth	分化率(%) Differenting rate
2.4-D	NAA	6-BA	ZT	KT		I	II	III		
0.5	-	1.0	-	-	99	96.2	96.2	91.5	+++	0.0
0.5	-	-	1.0	-	67	100.0	90.5	100.0	+++	0.0
0.5	-	-	-	1.0	74	96.4	91.7	100.0	++++	0.0
1.0	-	1.0	-	-	78	82.7	71.4	81.5	+++	0.0
1.0	-	-	1.0	-	70	66.7	87.0	78.3	++++	0.0
1.0	-	-	-	1.0	104	65.5	71.8	80.7	++++	0.0
-	0.5	1.0	-	-	87	89.7	96.6	72.4	++	75.6
-	0.5	-	1.0	-	76	87.5	100.0	92.7	+	67.3
-	0.5	-	-	1.0	84	100.0	95.8	100.0	++	77.8
-	1.0	1.0	-	-	73	75.0	100.0	100.0	+	60.5
-	1.0	-	1.0	-	70	100.0	87.8	81.1	+	74.8
-	1.0	-	-	1.0	89	86.5	88.4	73.0	++	63.5

注: + 表示愈伤组织生长量多少

表 2 方差分析表

变异来源 variance source	自由度 df	平方和 SS	均方 MS	F 值	F0.01
总变异 Total variance	35	4988.13			
生长素 Growth hormone	3	2012.57	670.86	7.4*	4.72
细胞分裂素 Mitosin	2	35.69	17.85	0.2	5.61
生长素×细胞分裂素 Growth hormone×mitosin	6	778.51	129.75	1.44	3.67
误差 Error	24	2161.36	90.06		

注: 表 2 中数据已经过转换

菘蓝下胚轴在接种 15 天后, 就能脱分化长出愈伤组织。首先在切口处长出愈伤组织, 并逐步向外植体中部扩展, 直至整个外植体表面均形成愈伤组织。经诱导产生的愈伤组织有三种类型: I 类愈伤组织黄色, 结构致密, 表面较为光滑, 质地较硬; II 类愈伤组织乳白色, 结构松软, 细腻, 这两类愈伤组织不同程度伴生有白色毛状物; III 类愈伤组织淡黄色, 结构疏松, 表面粗糙, 颗粒较大, 但愈伤组织类型与外该项目由云南省重点开放实验室基金资助源激素种类无明显相关性。

由表 1 中数据可以看出, 在含 2.4-D、NAA、6-BA、ZT、KT 等 5 种激素组合的培养基中, 菘蓝下胚轴出愈率均在 50% 以上, 平均为 92.3%, 最高为 100.0%, 这说明菘蓝下胚轴极易在人工合成的培养基上脱分化形成愈伤组织, 但不同的激素种类和浓度对下胚轴诱导作用有显著差异。方差分析结果表明(见表 2): 在生长素和细胞分裂素两大处理因素中, 生长素对下胚轴诱导作用最为显著, 已达到极显著水平, 而细胞分裂素以及生长素与细胞分裂素之间的交互效应对下胚轴诱导作用却不显著, 这说明, 在菘蓝下胚轴脱分化过程中, 生长素 2.4-D、

NAA 起着十分重要的作用, 但它们对愈伤组织诱导、生长和分化的影响却不相同: 首先 2.4-D 浓度对愈伤组织诱导率有显著影响, 经 T 值测验(见表 3), 高浓度 2.4-D 对下胚轴诱导率显著低于低浓度 2.4-D 的诱导率, 但 NAA 浓度高低对愈伤组织诱导率的影响却不显著; 其次在实验中, 能普遍观察到, 凡附加 2.4-D 的培养基中, 愈伤组织数量多, 生长快, 而附加 NAA 的培养基, 愈伤组织数量明显减少, 前者可为后者 4-5 倍, 甚至更多, 而且由 2.4-D 诱导出的愈伤组织即使有光线的刺激作用, 愈伤组织只能转为绿色, 但不能分化出再生植株, 而在 NAA 诱导作用下, 下胚轴脱分化后, 只长出少量愈伤组织, 便迅速分化出大量不定芽及再生植株, 这种现象即使在黑暗条件下也会发生。在同时含有 2.4-D、NAA 的培养基中, 下胚轴脱分化后, 均生长出大量愈伤组织, 但始终未能直接分化出不定芽和再生植株, 诱导出的愈伤组织需转移到分化培养基中才能分化出不定芽和再生植株。这充分说明 2.4-D 促进菘蓝下胚轴脱分化及愈伤组织生长, 抑制愈伤组织分化, 而 NAA 作用却相反, 促进愈伤组织分化。

由于菘蓝下胚轴对外源激素的反应不同,在实际应用时,应根据需要不同,选择不同的外源激素,若以诱导愈伤组织为目的,生长素 2,4-D 适宜浓度为 0.2-0.5 mg/L,细胞分裂素适宜浓度为 1.0 mg/L;若以获得再生

植株为目的,则生长素 NAA 适宜浓度为 0.5 mg/L,而细胞分裂素适宜浓度为 1.0 mg/L。由于三种细胞分裂素对下胚轴愈伤组织诱导和再生影响差别不大,可以任意选择一种,从经济角度讲,选择 6-BA 为宜。

表 3 两种生长素对菘蓝下胚轴愈伤组织诱导率的影响

激素组合 Hormone matching					愈伤组织平均诱导率 (%) mean of calli inductivity	差异显著性 Significance of difference
生长素(mg/L) Growth hormone		分裂素(mg/L) Miosin				
2,4-D	NAA	6-BA	ZT	KT		
-	0.5	-	-	1.0	99.6	a
0.5	-	-	1.0	-	99.0	a
0.5	-	-	-	1.0	97.4	a
-	1.0	1.0	-	-	97.0	a
-	0.5	-	1.0	-	95.6	a
0.5	-	1.0	-	-	94.8	a
-	1.0	-	1.0	-	92.9	a
-	0.5	1.0	-	-	88.0	a
-	1.0	-	-	1.0	84.5	a
1.0	-	1.0	-	-	72.7	b
1.0	-	-	1.0	-	70.9	b
1.0	-	-	-	1.0	68.4	b

注:愈伤组织诱导率为 4 次重复平均值

2.2 愈伤组织分化和植株再生途径

菘蓝下胚轴脱分化形成愈伤组织后,可以从两条途径形成再生植株。一条途径是愈伤组织经不定芽途径再生植株,实验中获得的再生植株绝大多数是通过这一途径得到的。由上面分析可以看出,下胚轴脱分化后再生植株有两种方式:一种方式是脱分化后无需转入分化培养基,直接获取再生植株;另一种方式是愈伤组织需转入分化培养基,间接获得再生植株,这两种方式与下胚轴脱分化时使用的生长素种类有密切的关系。

除不定芽途径外,胚状体发生途径是获取再生植株的另一有效途径。实验中,已观察到在附加 2,4-D 的诱导培养基中,有少量胚状体发生,目前有关菘蓝下胚轴胚状体发生途径以及影响因素,正在进一步研究中。

外源激素对外植体脱分化和再分化形态建成的影响,在许多论著中均有论述,尤其是 2,4-D 对外植体脱分化、再分化及胚状体发生影响极大,2,4-D 一般促进外植体脱分化,促进愈伤组织生长,抑制不定芽分化,本次实验结果也证实这一规律。 收稿日期:2000-08-28

《药学进展》杂志征订、征稿启事

《药学进展》杂志为综合性药学信息刊物,由中国药科大学主办,国内外公开发行。主要栏目有:

一、综述与专论 对药学某一研究领域的现状与发展趋势进行专题述评。

二、计算机与药学 介绍计算机技术在药学各领域的应用和发展及国外药学网上资料。

三、药事管理 介绍国内外有关药品管理的法规、措施、经验及实施状况。

四、药学研究 刊登研究论文、研究报告及总结等可涉及中、西新药的合成、纯化、分析、制剂、药理、毒理、临床验证、不良反应等各方面。

五、药物与临床 介绍临床上疗效显著的中、西药及其临床应用概况。

六、新药介绍 介绍国外新上市的药物及正在进行临床研究、有开发前景的新药。

七、药物不良反应 报道国内外新发现的药物不良反应或药物间相互作用。

八、国前与进口药物 主要面向临床医师。此栏目对来稿的要求是:就某一国产或进口新药的药理、药效、毒性及临床疗效、毒副作用作一综合介绍,以供临床医师了解和使用的。

九、药讯 介绍国外制药企业的新药开发、上市计划,国外公布禁止上市或撤销的药物,以及国外经药事活动。

本刊为大 16 开本,64 页,双月刊,每期定价 7.00 元,欢迎新老订户到当地邮局订阅,邮发代号 28-112。编辑部地址:南京童家巷 24 号中国药科大学内,邮编:210009,电话:(025)3271475 或 3271227。