

产活动影响较大,栽培的植物较多,野生和人工栽培的药用植物主要有桑(*Morus alba* L.)、木芙蓉(*Hibiscus mutabilis* L.)等。

4 动物、真菌类和矿物类药物:动物类药物有野生的金环蛇(*Bungarus fasciatus* (schneider)),银环蛇(*Bungarus Multicinctus* Blyth.),豪猪(*Hystrix hodgsoni* Gray.),穿山甲(*Manis pentadactyla* L.)等;家养的有梅花鹿(*Cervus mippou* Temminck.)等。药用真菌有:灵芝(*G. japonicum* (Fr.) Logd.),红菇(*Russula rubra* (Krombh.) Bres.)等。矿物类药物基本没有。

5 中药资源产量:我市中药资源产量的估算方法是按省普办要求,分不同植物、动物种类各取正常产量估算。

野生资源蕴藏量:产量10000 kg以上的植物药有葛根(*Pueraria lobata* (willd.) Ohwi.),狗脊。动物药有瓦楞子(*A. inflata* Reeve.)和牡蛎。

产量4000~10000 kg之间的有:植物药13种:虎杖(*P. cuspidatum* Sieb. et Zucc.),鱼腥草(*H. Cordata* Thunb.),艾叶(*Artemisia argy* Levt. et Vant.),仙鹤草(*Agrimonia pilosa* Ledeb. var. *japonica* (Miq.) Nakai.),毕澄茄(*Piper Cubeba* L.),香菇(*G. tenuifolia* Cass.),大蓟(*Cirsium japonicum* De.),小蓟(*Cephalanoplos Segetum* (Bge.) Kitam.),紫苏草(*Lumnophila aromatica* (Lam.) Merr.),龙葵(*Solanum nigrum* L.),盐肤木(*Rhus chinensis* Mill.),茅根(*Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv. var. *major* (Nees.) C. E. Hubb.)和南沙参(*Adenophora tetraphylla* (Thunb.) Fisch.)。

产量1000~4000 kg之间的植物药有42种,如金银花(*L. japonica* Thunb.),射干(*Belamcanda chinensis* (L.) DC.),丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)等。

产量1000 kg以下的植物药有37种,如棕桐子(*Trachycarpus wagnerianus* Becc.),半夏(*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.),卷柏(*Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring.),松花粉(*Pinus massoniana* Lamb.)等,动物药有16种,如蚕沙(*Bombyx mori* L.),夜明砂(*Vespertilio superans* Thomas.),蜂房(*Polistes mandarinus* Saussure.)等。

野生资源蕴藏量分布不平衡,大于10000 kg的数量不多,只有4种,在1000~4000 kg之间的品种较多。

我市的中药资源以植物类药为多,分布范围广,蕴藏量也较丰富;动物类药较少,菌类稀少;矿物类药基本没有。鉴于,植物药资源较为丰富,且大多尚未综合利用,因此,加强我市植物类药的研究应引起我们的重视。

(致谢:本文普查资料和编写中得到了李良官、吴耀间老师的指导。)

(收稿日期:1999-05-18)

39-40

221

露水草愈伤组织培养的研究

福建医药学校(350002) 蔡如辉 刘美龙

中国科学院昆明植物研究所(650204)

彭丽萍 赵沛基 甘烦远

2002-11

露水草(*Cyanotis arachnoides*)为鸭跖草科兰耳草属多年生的传统草药,其体内富含 β -蜕皮激素(β -ecdysone)^[1], β -蜕皮激素能提高蚕茧产量和蚕丝质量,是养蚕业不可缺少的蚕儿催熟激素,对露水草进行组织培养的研究对解决其资源不足,保护其生长生态环境等都有一定的意义,并且可利用组织培养方法工业化大量生产露水草中的有效成分。在这方面,目前国内开展的研究工作不是很多^[2,3]。本文通过对露水草愈伤组织的诱导和培养,建立了一些不同生长及生理状态的愈伤组织培养无性系,为更深入地开展露水草细胞培养的研究工作提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料:露水草种子系中国科学院昆明植物研究所提供,由陈宗莲研究员鉴定。基本培养基为MS培养基。

1.2 方法

1.2.1 愈伤组织诱导及培养:露水草种子经消毒后诱导出无菌苗,将无菌苗的胚根及叶梢等剪成0.5~1.0 cm长的切段,然后放入MS+0.5 mg/L 2,4-D+1.0 mg/L NAA+0.5 mg/L BA(I)及其它激素组合的固体培养基上(见表1)诱导愈伤组织。诱导出愈伤组织与母体分离后,经选择转接到继代培养基上,继代培养基为MS+1.0 mg/L IBA-5%CM(椰子汁)。每30 ml三角瓶分装25 ml固体培养基,每三角瓶接种愈伤组织量约为0.02 g(干重)。愈伤组织诱导及培养均于26±1℃下暗中进行,培养基的pH为5.8。

1.2.2 愈伤组织生长速率的测定:收获的愈伤组织经真空冰冻干燥(-20℃)至恒重,称重后按每d每L培养基增加的愈伤组织平均干重g数表示愈伤组织的生长速率(g/L·d)。每处理至少重复3次,结果见表2。

1.2.3 愈伤组织中 β -蜕皮激素的分析:定量称取冰冻干燥至恒重的愈伤组织,以工业乙醇(60℃)回流提取3次,每次4h,合并回流液,减压蒸干,然后定量用无水乙醇溶解,进行TLC分析,硅胶G板,展开剂:氯仿:乙醇=4:1,5%硫酸-香兰素显色。同时与原植物提取物进行对比,用标准的 β -蜕皮激素作对照。

2 结果与讨论

2.1 愈伤组织的诱导:胚根及叶鞘两种外植体于MS培养基上30d左右,即可从切段两端长出灰白色的愈伤组织,愈伤组织表面结构粘稠,浆糊状,有丝状体与母体相连接,因此分离困难。在MS培养基上不同激素组合对愈伤组织诱导有很大的影响,结果见表1。

表1 不同激素组合对露水草愈伤组织诱导的影响

MS+不同激素组合(mg/L)	外植体	愈伤组织诱导率(%)
2,4-D 0.5+NAA 1.0+BA 0.5	胚根	50.9
	叶鞘	58.7
2,4-D 2.0+KT 0.1	胚根	41.9
	叶鞘	30.3
IBA 2.0+BA 0.5	胚根	30.6
	叶鞘	25.0

由表1可见,在添加0.5 mg/L 2,4-D+1.0 mg/L NAA+0.5 mg/L BA的MS培养基中,胚根及叶鞘的愈伤组织诱导率分别为50.9%和58.7%,均高于其它激素组合的效果,MS培养基较适合于露水草愈伤组织的诱导。

2.2 愈伤组织无性系的驯化及培养:将诱导出的愈伤组织分离并培养于培养基(1)上进行继代培养时,愈伤组织生长缓慢,培养20d以后,愈伤组织底部变黑,新长出的愈伤组织有的颗粒状长成小堆,绝大多数仍为粘稠的浆糊状,灰白色。胚根的愈伤组织长得更慢,但颜色稍偏黄。在MS培养基中,不同激素组合对愈伤组织生长具有明显的影响,结果见表2。

从表2可以看出,不同浓度的IBA和BA配比较适合愈伤组织的生长,而KT、2,4-D或NAA等配比则对愈伤组织生长不利。培养在MS添加不同浓度IBA(1.0~2.0 mg/L)及BA(0.1~0.5 mg/L)上的愈伤组织,经3次以上继代后,愈伤组织生长逐渐加快,分散较好,较疏松,但水份含量仍然很大。胚根愈伤组织逐渐形成淡黄色并在继代过程中保持不变;叶鞘愈伤组织为灰白色,其生长比胚根愈伤组织快。在添加其他激素种类及配比的培养基上继代培养的愈伤组织,仍保持粘稠状不成团,生长缓慢,且愈伤组织底部绝大部分会变黑死亡。经过近1a的逐步选择及驯化,筛选出了一种比较合适两种愈伤组织生长的继代培养基即

MS+IBA 2.0 mg/L,在这种培养基上生长的愈伤组织,生长迅速,分散并且很疏松,IBA浓度偏低时,愈伤组织有少量不定根分化,但并不影响愈伤组织的生长。

表2 不同激素组合对露水草愈伤组织生长的影响

MS+不同激素组合(mg/L)	胚根愈伤组织 生长速率(g/L·d)	叶鞘愈伤组织 生长速率(g/L·d)
2,4-D 0.5+NAA 1.0+BA 0.5	0.18	0.16
2,4-D 1.0+BA 0.5	0.15	1.15
2,4-D 2.0+KT 0.1	0.10	0.12
2,4-D 1.0+NAA 1.0+KT 0.5	0.12	0.10
2,4-D 1.0+BA 0.5	0.18	0.20
2,4-D 1.0+IBA 1.0+BA 0.5	0.20	0.28
IBA 2.0+BA 0.5	0.23	0.36
IBA 1.0+BA 0.1	0.22	0.32

2.3 愈伤组织中 β -蜕皮激素的分析:4种愈伤组织无性系的乙醇提取物经TLC分析表明,只有LCR(只分花根的愈伤组织)的TLC斑点与原植物相似,含有与标准品 β -蜕皮激素相对应的点,在相同的处理条件下,LCR的 β -蜕皮激素斑点比原植物的小得多,表明LCR无性系中 β -蜕皮激素的含量要比原植物中的低。其他3种无性系除了无与 β -蜕皮激素相对应的点之外,其他斑点组成与原植物的相似。

在愈伤组织培养物中亦往往测定不到某些在原植物中存在的特定成分,或者即使偶尔在愈伤组织中测到代谢物,其浓度通常也是远低于植株中的,这方面也有不少例证^[4]。我们对露水草进行的愈伤组织培养的研究就属于这一类。脱分化的愈伤组织不能合成 β -蜕皮激素的具体原因,有待进一步的探讨。

参考文献

- 1 聂麒麟,许详普,何敏,等.露水草植物中蜕皮激素的分离和鉴定.化学学报,1978,36:136~141
- 2 汪石民.露水草愈伤组织分化成苗.中药材,1991,14:9
- 3 尚和艳,忻晓君,顾慧芬,等.珍珠露水草的组织培养.植物生理学通讯,1986(6):54~55
- 4 甘颂远,周立刚,郑光值.三七愈伤组织分化的研究.云南植物研究,1993,15:61~65

(收稿日期:1999-05-20)