文章编号: 1001- 4829(2010)03- 0981- 02

药用植物金铁锁无性系保存

虞 泓[1], 屈 燕[1], 程治英[2], 龙春林[2], 马晓青[2]

(1. 云南大学中草药生物资源研究所云百草实验室, 云南 昆明 650091; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204)

In vitro Preservation of Psammosilene tunicoides W. C. Wu et C. Y. Wu

YU Hong[1], QU Yan[1], CHEN Zhi2ying[2], LONG Chun2lin[2], MA Xiao2qing[2]

(1. Yunnan Herbal Laboratory, Institute of Herb Biotic Resources, Yunnan University, Yunnan Kunming 650091, China; 2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Yunnan Kunming 650204, China)

金铁锁 Psammosilene tunicoides W. C. Wu et C. Y. Wu 系石竹科 Caryophyllaceae 金铁锁属 Psammosilene 单种属植物[1], 是研究石竹科系统与进化非常重要的材料。金铁锁为中国西南地区所特有的民间草药, 500多年前就已广泛利用[2]。金铁锁在/云南白药0、/百宝丹0、/癖痛宁0等中成药中均用作主要原料。由于长期过度采集, 加上分布区窄不连续, 仅分布于云南、贵州、四川和西藏局部地区, 1991年作为稀有濒危物种被列入5中国植物红皮书6第一册[3]。

金铁锁野外自然居群开花个体数占总个体数的47%, 种子结实率在 50%以下, 仅每级顶花能正常结实, 且萌发率低, 在 42%以下[4]。研究发现, 利用培养皿进行金铁锁种子萌发试验, 发现种子潜在萌发力均较高, 萌发率在 85%~96%。在水分条件充足的温室栽培条件下, 幼苗存活率均在 85%以上。可见人工引种栽培金铁锁并不困难。金铁锁可以通过芦头作为无性繁殖材料, 利用植物的地上部分进行扦插繁殖[5]。欧阳志勤等通过组培苗进行金铁锁的离体培养和快速繁殖[6]。杨耀文等通过对金铁锁进行组培繁殖, 在诱导、增殖、生根等阶段和规模培养等得到适宜的培养基和培养条件[7]。

据调查统计, 金铁锁居群在形态表型、大小孢子发育、光合作用及水分利用率、繁殖适合度和生存适合度等方面表现出较大分化。根据直接扩增片段长度多态性(DALP)对 17个居群进行检测发现其居群间基因分化系数高达 79%。通过繁育试验对 4个不同金铁锁居群进行检测, 发现自交率在 40.3%~76.2%。又如一些有趣的居群间多型现象, 丽江居群种子萌发均有一个休眠期, 越冬后才能萌发; 而昆明团结乡居群的种子几乎无休眠期, 当年就可形成幼苗。因此, 对于居群间分化明显的金铁锁而言, 应该选取来自不同地理种源的金铁锁居群进行离体保存的研究, 以全面保护该物种的遗传多样性, 探讨其离体保存的可行性。

1 材料与方法

1.1.1 试验材料

从云南昆明长虫山和团结乡、白鱼口, 宣威和香格里拉各地野生植株上采集芽和带腋芽的茎段, 建成 5个居群、24个单组无性系。

1.1.2 培养条件

基本培养基为 MS, 附加 BA 0.2~0.5 mg/L+NAA 0~0.2 mg/L。筛选出最适培养基后分别添加生长抑制剂矮壮素(CCC)、多效唑(PP333)或脱落酸(ABA), 试验浓度为 0.5, 1, 2, 5, 10和 15 mg/L。糖浓度 3%, 琼脂固化, pH 值 5.8, 培养温度(26±2)℃, 光照时间 12 h/d, 光强 40 Lmol/m^2/s, 保存时间确定以试管材料坏死 20%为终止期。

收稿日期: 2009- 09- 24
基金项目: 国家自然科学基金项目(30370156); 科技部国家科技基础条件平台项目(2004DKA30430); 国家自然科技资源共享平台建设(2005DKA21006)
作者简介: 虞 泓(1962-), 男, 云南思茅人, 现为云南大学生命科学学院教授, 博士生导师, 主要从事植物学和中草药生物资源开发研究与教学工作, E2mail: hongyu@ynu.edu.cn; herbfish@163.com。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 结果与分析

211 植物生长激素及组合对金铁锁室温保存的影响

香格里拉 1个无性系和白鱼口的 2个无性系,在 MS+ BA 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L的培养基上可维持 75 d,而宣威 4个无性系、昆明团结乡 9个无性系和长虫山 8个无性系均培养 60 d必须继代。而在 MS+ BA 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L培养基上,所有无性系可延长继代时间为 90~ 105 d,因此我们筛选这种培养基作为生长抑制剂实验的基本培养基。BA和 NAA单独使用 (浓度为 0.2 mg/L),只能维持培养物生长 70~ 90 d。

212 生长抑制剂对金铁锁离体保存的影响

3种生长抑制剂在低浓度时 (CCC 0.5 mg/L, PP333 0.5~ 1 mg/L和 ABA 0.5 mg/L)对 5个居群 24个无性系均有效。在室温下,可延长继代时间为半年或半年以上。生长抑制剂浓度过高 (5, 10, 15 mg/L),无性系培养 15 d左右,便表现褐变、死亡或者是不抽新芽、生长停止、伤害作用。

213 生长抑制剂损伤的鉴定

采用恢复培养物的再生长方式进行,将培养在含低浓度生长抑制剂 (CCC、PP333和 ABA)的培养基上的无性系,半年后转接到新鲜的 MS+ BA 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L培养基上,经约 10 d培养,无性系几乎 100%恢复生长,表现为生长加快,茎节间延长;约 30 d植株高度由原来的 2~ 3 cm长到 6 cm左右。

214 遗传稳定性的鉴定

保存不同居群和不同基因型的无性系,目的是为了金铁锁可持续开发利用,遗传种质特性的保持十分重要。我们进行生长抑制剂处理前后无性系染色体数的统计,均为 2n= 28。

3 讨 论

本次对金铁锁 5个不同生态地理种源无性系保存的成功,为金铁锁不同生态地理种源的离体保存研究提供了参考。但要构建完善的金铁锁无性系离体种质库,必须重视金铁锁居群分化剧烈之遗传特点,结合各居群在形态、生理、繁育和遗传等多层次的分化趋势,注重不同生态地理种源取样保存为主,兼顾优秀单株取样保存为辅,才能全面保存其遗传多样性。金铁锁不同生态地理种源无性系离体种质库建设,将为保存这一珍稀濒危单种属植物提供一条好、快、省的途径。

参考文献:

[1]吴征镒. 云南植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1995.
[2]中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1977.
[3]傅立国. 中国植物红皮书 - 稀有濒危植物 (第一册) [M]. 北京: 科学出版社, 1992.
[4]谢 晖, 钱子刚, 杨耀文, 等. 金铁锁居群繁殖生物学初步研究 [J]. 中药材, 2003, 26(10): 702- 703.
[5]王特文, 师红毅, 何承鹏, 等. 苗药金铁锁种质资源保存研究 [A]. 中国药学会学术年会 2004年中国药学会学术年会论文集 [C]. 2004.
[6]欧阳志勤, 黄家林, 胡 虹. 金铁锁的离体培养和快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(4): 361.
[7]杨耀文, 钱子刚, 谢 晖, 等. 珍稀濒危药用植物金铁锁的组织培养和快速繁殖研究 [J]. 世界科学技术 - 中药现代化, 2003, 5(4): 56- 60.

(责任编辑 谢晓慧)

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net