

云南萝芙木的组织培养

郑光植 梁 峥

(中国科学院昆明植物研究所)

THE TISSUE CULTURE OF *RAUWOLFIA YUNNANENSIS* TSIANG

Zheng Guang-zhi and Liang Zheng

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica.)

云南萝芙木生物总碱即国产降压灵。总碱的主要成份为利血平。降压灵或利血平都是治疗高血压的主要药物。Carew^[7]曾从鸡骨常山(*Alstonia constricta*)种子的愈伤组织中检测到利血平的产生。但关于萝芙木的组织培养尚未见报道。我们继三分三^[3]、三七^[5]组织的研究之后,又以云南萝芙木为材料进行组织培养的研究。

试验用的云南萝芙木(*Rauwolfia yunnanensis* Tsiang)系我所温室栽培,于开花期取上部枝条(茎)用前法^[3]诱导和培养愈伤组织。接种到White培养基^[8](简称W培养基)上的萝芙木茎段,在26℃暗中培养大约17天后,从茎段的上端产生大量的分泌物;培养一个月左右产生色白而硬脆的愈伤组织。在“母体”茎段上的愈伤组织生长缓

表1 植物激素对云南萝芙木愈伤组织生长的影响

Table 1 Effect of hormones on growth of *Rauwolfia yunnanensis* Tsiang

植物激素(2毫克/升) Hormones (2mg/l)		2, 4-D 2, 4-D1- chlorophenol	萘乙酸 Naphthalene acetic acid	吲哚乙酸 Indole-3- acetic acid	激动素 Kinetin	赤霉素 Gibberellic acid	6-苄基嘌呤 6-Benzyl aminopurine
生长速度 (毫克/块/天) Growth rate (mg/piece/ day)	鲜重 Fresh weight	8.93	5.40	2.08	1.39	不生长 no growth	不生长 no growth
	干重 Dry weight	0.30	0.28	0.21	0.19	不生长 no growth	不生长 no growth

表2 光对云南萝芙木愈伤组织生长的影响

Table 2 Effect of light on growth of callus from *Rauwolfia yunnanensis* Tsiang

处 理 Treatment 2, 4-D(毫克/升) 2, 4-Dichlorophenol (mg/l)		光 ¹⁾ Light 6	光 ¹⁾ Light 8	暗 ¹⁾ Dark 6	暗 ¹⁾ Dark 8	暗 ²⁾ Dark 6	暗 ²⁾ Dark 8
生长速度 (毫克/块/天) Growth rate (mg/piece/ day)	鲜重 Fresh weight	7.81	5.70	14.44	10.61	4.61	3.95
	干重 Dry weight	0.97	0.46	1.25	0.93	0.54	0.45

- 1) 上代为暗培养;当代分别为光或暗培养
The proculture in dark; The subculture in light or dark, respectively
- 2) 上代为光培养;当代为暗培养
The proculture in light; The subculture in dark

慢,但将其从“母体”上切下来转移到W培养基上,则生长大大加快。

为寻找诱导愈伤组织的合适培养基,选择了Linsmair-Skoog (简称LS)^[9]和Nisch-Hiller (简称NH)^[6]培养基与W培养基作对比试验,结果以W培养基为最好,愈伤组织的诱导率达52%;LS培养基愈伤组织诱导率达23.81%;而NH培养基没有诱导愈伤组织的产生。对于愈伤组织的生长,W培养基也优于LS培养基,其生长速度W比LS约大7—8倍。因此,以后的试验均用W培养基进行。

植物激素对云南萝芙木愈伤组织生长的影响(表1)表明,6种激素中以2,4—D为最好。其适宜浓度为6毫克/升左右,此时愈伤组织的生长速度为1.25毫克干重/块/天(表2)。

光对云南萝芙木愈伤组织生长的影响与三分三愈伤组织的情况不同,光对其生长有抑制作用(表2)。即使上代为光培养,当代变为暗培养,当代为光培养的生长速度还低(图1)。可见光的影响是明显的,且似乎是不可逆的。

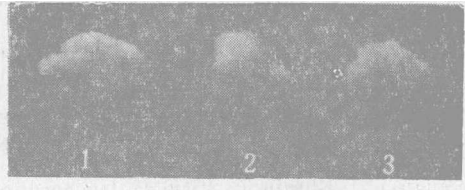


图1 光对萝芙木愈伤组织生长的影响

Fig. 1 Effect of light on growth of callus from *Rauwolfia yunnanensis* Tsiang

1. 上代及当代均为暗培养 The proculture and Subculture in dark. 2. 上代为暗培养;当代为光培养 The proculture in dark; The Subculture in light. 3. 上代为光培养;当代为暗培养 The proculture in light; The subculture in dark.

为摸索愈伤组织合适的收获时间,观察了生长与培养时间的关系。观察结果可以看到,虽然每块组织的干重随着培养时间的延长而增加,但生长速度却是相应降低的。除了从生长上考虑外,

收获的合适时间还应根据药用成份的含量来确定。

试验用的愈伤组织均来自同一无性繁殖系,两年来的继代培养收集了大量愈伤组织,用中国医学科学院的方法^[1],对药用成份作了初步的鉴定和含量测定,结果在萤光灯下,于 R_f 值0.68处,有黄绿色斑点,其与利血平的 R_f 值一致。在低一些的位置上,有一个黄绿色的萤光斑点,与西利胺的 R_f 值一致^[2]。在 R_f 值更低一些的地方还有一个不肯定的萤光斑点,有待鉴定。含量测定表明,愈伤组织的降压灵含量,以干重为基础,约为1.488%;利血平含量约为0.081%。两者的含量与云南萝芙木根中的含量接近。

参 考 文 献

- [1] 中国医学科学院药物研究所, 1972: 中草药有效成份的研究(第一分册)。297—298, 317—318页。人民卫生出版社。
- [2] 肖培根等, 1973: 中国药用植物中生物活性物质的寻找——五种药用生物碱的资源植物。植物学报, 15: 64—70。
- [3] 郑光植等, 1976: 药用植物组织培养的研究 I. 三分三愈伤组织的培养及莨菪碱、东莨菪碱的产生。植物学报, 18: 163—169。
- [4] 郑光植等, 1977: 药用植物组织培养的研究 II. 三分三愈伤组织的生长、莨菪碱和东莨菪碱合成的化学调节。植物学报, 19: 209—215。
- [5] 郑光植等, 1978: 三七的组织培养。植物学报, 20: 373—375。
- [6] 崔激等, 1964: 荸荠汁中的生理活性物质 I. 荸荠汁与椰子乳生理活性的比较研究。植物生理学报, 1: 61—71。
- [7] Carew, D. P., 1965; Reacarpine in a tissue culture of *Alstonia constricta* F. Muell. *Nature*, 3: 89.
- [8] Linskens, H. F. and M. V. Tracey, 1962; Moderne methoden der pflanzenanalyse, in *Modern Methods of Plant Analysis* P. 385. 5 Banorolumer.
- [9] Linsmair, E. M. and F. Skoog, 1965; Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 18: 100—127.