

生长调节物质对组培暗紫贝母 小鳞茎生长的影响^{*}

谭丰苹 高山林

(中国药科大学, 南京 210038)

摘要 应用正交实验研究了生长调节物质病毒唑(ribavirin)、茉莉酸甲酯(jasmonic acid methyl ester)、油菜素内酯(brassinolide)、腐殖酸钠(sodium humate)对组织培养暗紫贝母(*Fritillaria unibracteata* Hisao et K. C. Hsia)小鳞茎生长的影响,发现病毒唑有显著活性。进一步对不同浓度病毒唑的效果进行优化试验,结果表明:病毒唑 10 mg/L 是提高小鳞茎生长率的最适浓度。

关键词 生长调节物质;暗紫贝母;组织培养;病毒唑

The effect of growth regulators on growth of cultured bulblets of *Fritillaria unibracteata* Hisao et K. C. Hsia Tan Fengping, Gao Shanling (China Pharmaceutical University, Nanjing 210038), *J. Plant Resour. & Environ.* 1999, 8 (1): 52~55

Growth regulators including ribavirin, jasmonic acid methyl ester, brassinolide and sodium humate were added into the media with a view to determine their effect on cultured bulblets of *Fritillaria unibracteata* Hisao et K. C. Hsia. Results from the orthogonal experiments indicated that ribavirin had significant promotive activity. Further optimizing experiment on the effect of different concentration of ribavirin showed that 10 mg/L ribavirin was the optimized concentration in promoting growth of induced bulblets.

Key words growth regulators; *Fritillaria unibracteata* Hisao et K. C. Hsia; tissue culture; ribavirin

有关暗紫贝母(*Fritillaria unibracteata* Hisao et K. C. Hsia)鳞茎培养技术的研究,已有系列报道^[1~4]。近年来随着植物生理活性物质研究的不断深入,发现有很多微量有机化合物,在不同程度上对植物生长发育表现特殊的调节作用。在这些化合物中,茉莉酸类、油菜素甾体类与腐殖酸具有显著的调节植物生长发育的活性^[5~13]。又据 1997 年全国农业科技成果学术研讨会报道,病毒唑对组织培养中丛生芽的诱导有较好的促进作用。本文在此基础上,对生长调节物质茉莉酸甲酯、油菜素内酯、腐殖酸钠、病毒唑对组培暗紫贝母小鳞茎诱导生长的影响进行了较系统的实验研究。

* 国家中医药局重点课题

本实验所用的茉莉酸甲酯、油菜素内酯由南京农业大学周燮教授惠赠,腐殖酸钠由南京农业大学高祖明教授惠赠,在此一并致谢。

谭丰苹,女,1973年6月生,硕士研究生,主要从事药用植物生物技术研究。

收稿日期 1998-09-22

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料为中国药科大学生物技术室长期继代培养的暗紫贝母小鳞茎。茉莉酸甲酯、油菜素内酯、腐殖酸钠由南京农业大学提供,病毒唑为常州第二制药厂生产的三氮唑核苷注射液(0.1 mg/ml)。

1.2 试验方法

1.2.1 生长调节物质正交试验 将长期继代培养的暗紫贝母小鳞茎切成 0.5 cm 大小的小块,接种到预先称重的附加适宜激素及不同浓度生物活性物质的 MS 固体培养基上,接种完毕再次称重,计算接种量。参照文献[5~13],对 4 种生物活性物质各设置了 4 个浓度水平,分别为:病毒唑 0、5、10、50 mg/L;茉莉酸甲酯 0、0.1、0.5、1.0 mg/L;油菜素内酯 0、0.01、0.05、0.10 mg/L;腐殖酸钠 0、10、50、100 mg/L。

1.2.2 病毒唑浓度试验 在正交试验的基础上进行病毒唑最适浓度试验,将培养材料接种到含有适宜激素并附加 1、5、10、25、50 mg/L 病毒唑的 MS 固体培养基上,以不附加病毒唑的 MS 固体培养基为对照。接种方法同前。

以上材料均在 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 的光照培养箱中培养,每天光照 12 h,光照强度为 600 lx,培养 50 d 后计算收获量、增长率、折干率。计算方法见文献[1]。

2 结果和分析

2.1 生长调节物质正交试验

接种材料培养 20 d 左右即可见原有小鳞茎逐步长大,其表面长出数个小突起,并逐渐长成小鳞茎。试验结果见表 1。

2.1.1 生长率的差异 由表 1 看出 4 种生长调节物质处理的暗紫贝母,小鳞茎生长率存在较大差异,最高者为最低者 2.61 倍。折干率变化小,经方差分析无显著差异。

2.1.2 各种生长调节物质较佳浓度分析 由表 1 的 K 值可以看出,各种生长调节物质均在不同程度上提高了暗紫贝母小鳞茎的生长率,其中腐殖酸钠以水平 4 最优;油菜素内酯以水平 2 最优;茉莉酸甲酯以水平 2 最优;病毒唑以水平 3 最优。可见在附加适宜激素的 MS 固体培养基上添加 10 mg/L 病毒唑、0.1 mg/L 茉莉酸甲酯、0.01 mg/L 油菜素内酯和 100 mg/L 腐殖酸钠,可望获得较佳培养效果。

2.1.3 4 种生长调节物质对暗紫贝母小鳞茎生长的影响 其影响大小可以用极差 R 值的大小进行分析判断;由 R 值的大小可以看出,病毒唑的影响最显著,其次为茉莉酸甲酯和腐殖酸钠,最后为油菜素内酯。方差分析结果 F 值分别为 11.93、7.21、5.36、2.36,其大小变化与 R 值的变化一致, $F_{1-0.05}(3,3)$ 为 9.23,病毒唑 F 值达 11.93, $F > F_{1-0.05}$,可见病毒唑对生长率的影响达到了显著水平,其浓度为 10 mg/L 时可以显著提高暗紫贝母小鳞茎的生长率。

2.2 病毒唑浓度试验

不同浓度病毒唑对暗紫贝母小鳞茎生长率影响的试验结果(表 2)表明,病毒唑的浓度从

0、1、5 mg/L 增加到 10 mg/L, 暗紫贝母小鳞茎的生长率逐渐增加; 从 10 mg/L 增加到 25、50 mg/L, 生长率却逐渐降低, 说明病毒唑对暗紫贝母小鳞茎生长的影响存在一个适宜浓度, 高于或低于这个浓度都不能显著提高生长率。10 mg/L 为最佳浓度, 能显著提高暗紫贝母小鳞茎的生长率。不同处理组折干率无显著差异。

表 1 4 种生长调节物质的正交实验结果 (N=6)

Tab 1 Results from the orthogonal experiments of four kinds of growth regulators (N=6)

实验组 EG ¹⁾	因素 Factors ²⁾				误差 Error	接种量 Inoculated wt (g/flask)	收获量 Harvested wt (g/flask)	生长率 Growth rate $\bar{x} \pm s$	折干率 (%) Rate of dry/fresh
	病毒唑 RTCA	茉莉酸甲酯 JA-ME	油菜素内酯 BR	腐殖酸钠 SH					
1	1	1	1	1	1	1.153 ± 0.061	2.282 ± 0.389	1.972 ± 0.271	10.91
2	1	2	2	2	2	1.220 ± 0.138	4.612 ± 0.726	3.617 ± 0.584	11.14
3	1	3	3	3	3	1.197 ± 0.112	3.003 ± 0.492	2.511 ± 0.363	11.71
4	1	4	4	4	4	1.253 ± 0.124	4.288 ± 0.817	3.427 ± 0.580	11.39
5	2	1	2	3	4	1.192 ± 0.134	3.068 ± 0.411	2.600 ± 0.412	10.61
6	2	2	1	4	3	1.171 ± 0.122	5.010 ± 0.623	4.293 ± 0.439	10.92
7	2	3	4	1	2	1.207 ± 0.144	3.588 ± 0.571	3.000 ± 0.514	10.22
8	2	4	3	2	1	1.237 ± 0.120	3.967 ± 0.660	3.222 ± 0.544	12.06
9	3	1	3	4	2	1.230 ± 0.087	5.163 ± 0.624	4.211 ± 0.545	11.59
10	3	2	4	3	1	1.267 ± 0.084	6.527 ± 0.879	5.156 ± 0.638	11.25
11	3	3	1	2	4	1.107 ± 0.099	4.338 ± 0.522	3.901 ± 0.283	11.39
12	3	4	2	1	3	1.157 ± 0.127	5.015 ± 0.510	4.361 ± 0.498	10.73
13	4	1	4	2	3	1.232 ± 0.070	3.875 ± 0.429	3.146 ± 0.307	11.56
14	4	2	3	1	4	1.130 ± 0.124	4.178 ± 0.748	3.683 ± 0.415	12.51
15	4	3	2	4	1	1.122 ± 0.108	5.118 ± 0.527	4.582 ± 0.494	12.22
16	4	4	1	3	2	1.272 ± 0.129	3.073 ± 0.329	2.429 ± 0.324	11.80
K ₁	11.527	11.929	12.595	13.016	14.932				
K ₂	13.115	16.749	15.160	13.886	13.257				
K ₃	17.629	13.994	13.627	12.696	14.311				
K ₄	13.840	13.439	14.729	16.513	13.611				
R	6.102	4.820	2.565	3.497	0.675				

¹⁾EG: experiment group; ²⁾RTCA: ribavirin, JA-ME: jasmonic acid methyl ester, BR: brassinolide, SH: sodium humate

表 2 不同浓度病毒唑对暗紫贝母小鳞茎生长的影响

Tab 2 Effect of different concentration of ribavirin on the growth of bulblets

浓度 Concentration mg/L	接种量 Inoculated weight (g/flask)	收获量 Harvested weight (g/flask)	生长率 Growth rate $\bar{x} \pm s$	折干率 Rate of dry/fresh (%)
0	1.244 ± 0.121	4.374 ± 0.441	3.528 ± 0.592	11.29
1	1.243 ± 0.135	4.917 ± 0.750	3.956 ± 0.448	11.84
5	1.282 ± 0.299	5.094 ± 0.943	4.112 ± 0.868	10.97
10	1.065 ± 0.149	4.838 ± 0.969	4.550 ± 0.820 **	11.34
25	0.957 ± 0.090	4.015 ± 0.600	4.228 ± 0.722	10.78
50	0.948 ± 0.158	3.751 ± 0.765	3.988 ± 0.655	11.09

** F = 3.95, F_{1,0.01}(5, 66) = 3.34, F > F_{1,0.01}

3 讨 论

(1) 暗紫贝母鳞茎组培的目的是获得培养物,即得到尽可能多的生物量,对各试验的折干率作方差分析,均无显著差异,说明生长率能反映获得的生物量。

(2) 植物除含有公认的五大类激素外,尚有很多微量有机化合物,在不同情况下对植物生长发育表现特殊的调节作用。例如茉莉酸类可以促进一些植物地下茎的诱导(如马铃薯块茎诱导^[5]);油菜素甾体类作为一类高活性的植物生长调节物质,可以促进植物愈伤组织的增殖和分化^[9-11];腐殖酸^[6]有刺激植物生长的作用。为了提高组培暗紫贝母小鳞茎的生长率,应用正交试验研究以上三类物质(分别以茉莉酸甲酯、油菜素内酯、腐殖酸钠为代表物质)和病毒唑对组培暗紫贝母小鳞茎的生长的影响,对植物组织培养研究具有一定意义。

(3) 正交试验结果表明,茉莉酸甲酯和油菜素内酯可在一定程度上提高组培暗紫贝母小鳞茎的生长率,其最佳浓度都比较低,该结果与文献^[6]报道一致,即表现生理活性效应的有效浓度远远低于其他植物生长调节物质,都是在低浓度下表现调节生长的活性,高浓度下反而产生抑制作用。本实验中茉莉酸甲酯和油菜素内酯对暗紫贝母小鳞茎促进生长的作用没有达到显著水平,可能是由于种属差异,即不同种的植物对同一生物活性物质的敏感性不同。而腐殖酸钠在一定程度上提高组培紫贝母小鳞茎的生长率,这也与文献^[6]报道一致。

(4) 病毒唑能显著提高组培暗紫贝母小鳞茎的生长率,尤其能促进小鳞茎的发生。目前病毒唑通常作为抗病毒药物使用,尚未见有关病毒唑在植物组培方面具有生物活性的文献报道,其作用机理可能是:由于其结构与核苷类相似,具有与核苷类细胞分裂素类似的活性。

参 考 文 献

- 高山林,朱丹妮,蔡朝晖,等.暗紫贝母鳞茎器官培养生长特征和生物碱积累的研究.中国药科大学学报,1992,23(3):144~147.
- 蔡朝晖,高山林,徐德然,等.不同培养条件及方法对组培暗紫贝母生长的影响.中国药科大学学报,1992,23(6):367~369.
- 徐德然,高山林,蔡朝晖,等.暗紫贝母鳞茎培养中培养基的选择和简化试验.中国药科大学学报,1992,23(5):304~306.
- 蔡朝晖,朱丹妮,陶金来,等.培养基中蔗糖浓度及添加氨基酸对组培暗紫贝母生长的影响.中国药科大学学报,1996,27(1):1~3.
- 李宗霆,周 雯著.植物激素及其免疫检测技术.南京:江苏科学技术出版社,1996.207~214,225~236.
- 梅慧生,杨玉明,张淑运,等.腐殖酸钠对植物生长的刺激作用.植物生理学报,1980,6(2):133~140.
- 华北农业大学土化系腐肥小组.腐殖酸类肥料的多种功能和肥效分析.化学通报,1975,(4):16~20.
- 山西省大同市利群煤矿.几种腐殖酸类肥料、激素、浸种剂的试制.化学通报,1975,(5):18~20.
- 王玉琴,赵毓楠.油菜素甾体类化合物结构与活性的相关性.植物生理学报,1989,15(1):18~23.
- 周爱清.油菜素内酯对水稻种子发芽及芽鞘生长的影响.植物生理学通讯,1987,23(5):19~23.
- 骆炳山.高等植物油菜素甾体类的研究及应用.植物生理学通讯,1986,22(1):11~14.
- 潘瑞焯,李海航.茉莉酸——天然生长抑制剂.植物生理学通讯,1989,25(2):78~80.
- Miersch O, Preiss A, Sembdner G, et al. (+)-7-iso-jasmonic acid and related compounds from *Botryodiplodia theobromae*. Phytochemistry, 1987, 26(4): 1037~1039.

(责任编辑:宗世贤)