维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0439-8114(2006)06-0786-03

半夏两种途径再生植株生长与繁殖的比较

蔡 鹏[1],彭正松[1],罗成科[2]
(1.西华师范大学环境科学与生物多样性保护四川省重点实验室,四川 南充 637002;
2.宁夏大学新技术应用研究开发中心,银川 750021)

摘要:对器官发生途径与体细胞胚胎发生途径的半夏组培苗进行了栽培试验,并记录其生长与繁殖特性。结果显示,通过器官发生途径培养的半夏组培苗与体细胞胚胎发生途径的半夏组培苗相比,具有长势旺盛,丰富的形态变异,较快的生长速度与较强的繁殖能力等特点。此外,采用器官发生途径培养半夏组培苗更快捷,成本更低,更适合大规模农业生产。

关键词:半夏;组织培养;器官发生;体细胞胚胎发生;繁殖
中图分类号:S567.23+9;Q943.1;S339.4+9 **文献标识码**:B

半夏[*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit]为天南星科半夏属多年生草本植物,是我国传统中药,在临床上应用十分广泛,具有降逆止呕、燥湿化痰、消痞散节的功效[1]。近年来,研究发现半夏还有抗早孕、抗肿瘤、降血脂、护肝等功能[2],因而备受国内外的关注。由于半夏野生资源匮乏,为满足市场的需求,现已大规模人工栽培。但人工栽培采用小块茎育苗,用种量大,成本高,易使半夏的栽培生产受到限制。利用组织培养技术,可以在短时间内达到快速繁殖的目的,同时可以对植株进行去病毒和复壮[3]。半夏再生植株可以通过器官发生途径获得,也可通过体细胞胚发生途径获得[4-11],但通过不同发生途径培养的半夏组培苗各自的优劣却未见报道。本文对这两种发生途径的半夏组培苗进行了栽培试验,对它们的生长和繁殖特性进行了比较研究,以期为半夏快速繁殖筛选合适的组织培养方法提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

材料采自四川省南充市西充县境内,经西华师范大学生命科学学院秦自生研究员鉴定,为天南星科植物半夏[*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit]。采其叶片,参照罗成科[12,13]优选的半夏组织培养方法,分别将其按器官发生途径和体细胞胚胎发生途径再生出半夏组培苗。

1.2 方法

当组培苗高达3~5 cm、长出发达的根系时,打开瓶塞炼苗,2~3 d后取出组培苗,洗去根部的培养基后移栽至花盆中并编号。第1组是通过器官发生途径培养的175株组培苗,第2组是通过体细胞胚胎发生途径培养的60株组培苗,都于2005年3月16日移栽,每盆1株,深度约2 cm,未采取任何的遮荫措施,每隔2天浇水1次。试验期间观察并记录叶形变化、珠芽形成与倒苗时间,采收后用北京赛多利斯仪器系统有限公司生产的BS224S电子天平(灵敏度万分之一)称量块茎重量,并统计珠芽个数。试验结果采用SPSS软件进行统计分析。

2 结果与分析

移栽的两组半夏组培苗成活后,不断长出新叶,并于5月10日开始出现少量珠芽,6月初大量繁殖珠芽。4月中旬至7月中旬,是半夏组培苗生长最为繁茂的时期。7月下旬当地温度超过30℃,组培苗生长受到影响,但并未倒苗。9月上旬的旬平均温度大约为35℃,半夏组培苗开始倒苗。10月上旬气温有所回落,组培苗再次出苗,直至11月上旬温度低于10℃时,再次倒苗越冬。

2.1 半夏组培苗生长习性观察

两组半夏组培苗移栽时叶片均为心形叶(全缘单叶),而后发育为戟形叶(具有浅缺刻或深缺刻的

收稿日期:2006-06-29
基金项目:四川省杰出青年基金后续项目(05ZQ026-041);四川省重点学科建设项目(SZD0420)
作者简介:蔡 鹏(1981-),女,山东威海人,2004级硕士研究生,(电话)0817-2320317(电子信箱)cp215@163.com;
通讯作者,彭正松,(电子信箱)pzs8833@163.com。

维普资讯 http://www.cqvip.com

单叶),到5月发育成三出复叶。3种叶形的叶柄上均可萌生珠芽。7月10日测量两组组培苗的株高,器官发生途径培养的组培苗的平均株高为15.6 cm,体细胞胚胎发生途径培养的组培苗的平均株高为11.2 cm,后者明显比前者矮。

在器官发生途径培养的组培苗中,有一株半夏长有两种叶形,一种是柳叶形叶片,一种是细叶形叶片,即"同株异叶形半夏"[14];而在体细胞胚胎发生途径培养的组培苗中并未观察到该现象。在生长过程中,器官发生途径培养的组培苗的部分植株的三出复叶左右两侧的小叶又分别一裂为二,整个叶片呈五裂,即"五叶半夏"[15],也有部分植株仅有一个小叶一裂为二,整个叶片呈四裂,即"四叶半夏"。器官发生途径培养的组培苗中的"五叶半夏"有26株,占24.1%,"四叶半夏"有5株,占4.6%,其余的均为正常的三出复叶;而在体细胞胚胎发生途径培养的组培苗的叶形全为三出复叶。

自5月上旬起,两组半夏组培苗植株在叶柄基部陆续出现白色或浅绿色的珠芽。由于半夏组培苗的每个叶柄均可萌生1个珠芽,所以叶柄数目越多,珠芽的数目也就越多。本试验中器官发生途径培养的组培苗的叶柄和珠芽数目要明显多于体细胞胚胎发生途径培养的组培苗。在器官发生途径培养的组培苗的少数植株中还观察到一种现象,即在基部着生有大珠芽的叶柄呈螺旋状出土,且叶柄和叶片完全展开需要的时间也较长[14],该现象在体细胞胚胎发生途径培养的组培苗的中并未观察到。

7月下旬,半夏组培苗开始出现绿色或绿白色的佛焰苞,花葶从叶柄处抽出后可长至17~34cm,大约15天后开始变黄,枯萎。器官发生途径培养的组培苗中有16.7%的植株长有佛焰苞,体细胞胚胎发生途径培养的组培苗中有10.2%的植株长有佛焰苞。到倒苗时,部分半夏组培苗同一植株上可先后长有2-3个佛焰苞,两组半夏组培苗中多次长出佛焰苞的频率分别为3.7%和4.1%。且佛焰苞大多不结实,少数结实的佛焰苞结实率也很低。

2.2　半夏组培苗块茎重量与珠芽数目的比较分析

2005年11月27、28日对半夏组培苗进行分株采收。将采收的半夏块茎洗去泥土,晾干。观察块茎形状,大多为近球形或椭圆形,直径范围1.1~4.2 cm,上端中央有一圆形凹陷的芽鳞痕,四周密布有麻点状须根痕,下部钝圆,较光滑,少有突起,这与非组培苗半夏的块茎形状大致相同[16]。两组半夏组培苗块茎的直径和重量变化以及珠芽数目见表1。

表1　两种途径再生半夏植株的块茎生长情况

途径	栽种时块茎平均直径/cm	收获时母块平均直径/cm	收获时母块平均重量/g	每株的珠芽个数
器官发生途径的半夏组培苗	0.299 5±0.008 0	2.005 9±0.554 5**	3.212 8±0.239 1**	12.824 1±1.040 9*
体细胞胚胎发生途径半夏组培苗	0.306 5±0.008 4	1.537 1±0.443 3**	1.690 7±0.144 1**	7.770 8±0.598 6*

注:* 表示差异显著(α=0.05),** 表示差异极显著(α=0.01)。

由表1可知,在栽种时两组半夏组培苗小块茎的平均直径大致相同,但经过一段时间的生长,器官发生途径培养的半夏组培苗母块茎的平均直径和平均重量均高于体细胞胚胎发生途径培养的半夏组培苗,且差异极显著,说明通过器官发生途径培养的半夏组培苗的生长速度要快于体细胞胚胎发生途径培养的半夏组培苗。还可以看出,器官发生途径的单株组培苗的珠芽数目也明显多于体细胞胚胎发生途径的组培苗,且差异显著,表明器官发生途径的半夏组培苗的无性繁殖能力比体细胞胚胎发生途径的组培苗要强得多。

3　讨论

器官发生途径过程是愈伤组织分化时,组织块内部发生分化,形成芽原基,再从愈伤组织表面分化出芽,同时产生大量的不定根,从而形成完整的植株。体细胞胚胎发生途径过程是愈伤组织表面分化出许多绿色小颗粒,经球形胚状体、心形胚状体、鱼雷形胚状体直至叶形胚状体,最后在上端出芽下端生根,形成一棵小植株[3]。通过器官发生途径得到半夏组培苗大约需要2~3个月,而体细胞胚胎发生途径大约需要4~5个月。很明显,通过器官发生途径来获得半夏组培苗会更便捷,既可以节省时间也可以降低生产成本。

在移栽试验中,器官发生途径的半夏组培苗平均株高要显著高于体细胞胚胎发生途径的半夏组培苗,且前者的长势要优于后者,其叶柄和珠芽数目也多于后者。通过对收获的半夏进行称重和珠芽以及佛焰苞数目的统计可知,器官发生途径的半夏组培苗的生长速度比体细胞胚胎发生途径培养的半夏组培苗要快且有性繁殖(佛焰苞)和无性繁殖(珠芽繁殖和块茎繁殖)能力也强。因此认为,采用器官发生途径来培养半夏组培苗比体细胞胚胎发生途径更适合于生产中的快速繁殖。

维普资讯 http://www.cqvip.com

胡琴等[17]曾报道具有丰富的形态变异是半夏属植物的一个重要特点,生长于不同环境或同一生态环境的不同居群、甚至同一居群的不同个体间,各种器官(包括根、球茎、珠芽、叶片、叶柄等)在形态上存在着丰富的变异类型。本试验中两种途径的半夏组培苗均取自同一批材料,但器官发生途径培养的半夏组培苗在形态上的变异比体细胞胚胎发生途径培养的半夏组培苗要多。器官发生途径的半夏组培苗不仅比体细胞胚胎发生途径的半夏组培苗的平均株高要高,并且还存在丰富的形态学上的变异,如同株异叶形半夏,四叶半夏,五叶半夏,螺旋状出土的叶柄等。这些形态变异的出现在一定程度上为寻找半夏优良基因型、选育优质高产的半夏品种提供了一个途径。

参考文献:

[1] 国家药典委员会.中国药典(一部)[M].北京:化学工业出版社,2005.98-99.

[2] 中国医学科学院药物研究所.中药志(第二册)[M].北京:人民卫生出版社,1993.38.

[3] 张苏峰,谢素霞.半夏组织培养快速繁殖的研究[J].信阳师范学院学报,1998,11(1):86-88.

[4] 吴伯骥,肖 亮,覃章峥.从三叶半夏叶肉原生质体再生植株[J].中国科学,1986(3):267-272.

[5] 苏 新.半夏愈伤组织的诱导和植株再生的研究[J].中国中药杂志,1989,14(11):14-17.

[6] 何弈昆,刘 刚,路铁刚,等.半夏茎尖培养及块茎品质改良[J].植物学报,1994,36(1):39-44.

[7] 何弈昆,朱长清,何孟元,等.半夏小块茎的形态发生及人工种子制作[J].植物学报,1997,23(4):482-485.

[8] 崔凯荣,戴若兰.植物体细胞胚发生的分子生物学[M].北京:科学出版社,2000.329-397.

[9] 吴爱民,朱宝成.掌叶半夏悬浮培养下的体细胞胚胎发生的研究[J].作物学报,1996,22(1):66-71.

[10] 白 雨,高山林.半夏组织培养诱导胚状体的正交试验[J].植物资源与环境学报,2003,12(4):16-20.

[11] 罗光明,杨雅琴,何 雁.半夏的快速繁殖研究[J].中药材,2003,26(10):699-701.

[12] 罗成科.半夏叶片离体培养及植株再生的研究[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2005.

[13] 罗成科,彭正松,陈卫民.三叶半夏悬浮培养下的体细胞胚胎发生及植株再生[J].西北植物学报,2006,26(4):842-846.

[14] 蔡 鹏,彭正松,罗成科,等.三叶半夏组培苗生长情况调查[J].现代中药研究与实践,2006,20(2):13-15.

[15] 彭延弟,李光胜.半夏植物形态变异的观察与研究[J].基层中药杂志,2001,15(5):30-31.

[16] 白 权,李 敏,贾敏如,等.南充地区半夏资源调查及与省外半夏形态特征的比较[J].华西药学杂志,2004,19(5):351-354.

[17] 胡 琴,陶诗顺.半夏研究和开发最新进展及其思考[J].西南科技大学学报,2005,20(1):63-68.

Comparative Study on the Growth and Propogation of the in Vitro Regenerated Plantlets of *Pinellia ternata* by two Cultural Ways

CAI Peng[1], PENG Zheng-song[1], LUO Cheng-ke[2]

(1.Sichuan Provincial Key Laboratory of Environmental Science and Biological Diversity Conservation, China West Normal University, Nanchong 637002, Sichuan, China; 2.Applied Research and Development Center for the New Technology, Ningxia University, Yinchuan 750002, China)

Abstract: The in vitro regenerated *Pinellia ternata* plantlets proceeded by the organogenesis way and the embryoid way were transplanted in the flowerpots. Their biological characters were observed, and their tuber growth was recorded. Compared with those by the embryoid way, the in vitro regenerated plantlets by the organogenesis way grew stronger, and showed more morphological variation in the population. Their tuber grew faster, and had higher propogation capacity. In addition, getting the in vitro regenerated plantlets by the organogenesis way could save more time and reagent. The cost was lower. Based on these results, the organogenesis way is considered as the better propogaton method of *P. ternata* in production practice.

Key words: *Pinellia ternata*; tissue culture; organogenesis; embryoid; propagation

(责任编辑 王 珞)