

传统中药何首乌组织培养的初步研究

袁红霞,王金虎,陈德燕

(苏州科技学院生物系,江苏 苏州 215009)

摘要 主要对何首乌块根和幼茎进行了愈伤组织培养,并对何首乌不同外植体的诱导时间进行了比较。结果表明:诱导何首乌块根产生愈伤组织的最佳激素配比是 0.1 mg/L 6-BA + 3.0 mg/L IAA + 0.5 mg/L 2,4-D,且这 3 种激素的作用主次为 2,4-D > IAA > 6-BA;在此次实验中还比较了不同消毒剂及其组合对何首乌块根的消毒效果,结果表明:70%的酒精 + 0.1% HgCl₂ 具有很好的消毒作用。

关键词 组织培养;何首乌;愈伤组织

中图分类号:R282.71

文献标识码:A

文章编号:1006-9690(2006)03-0056-03

Preliminary Research on Tissue Culture of *Polygonum multiflorum*

Yuan Hongxia, Wang Jinhua, Chen Deyan

(Biology Department, Suzhou Science and Technology University, Suzhou 215009, China)

Abstract The callus culture of *Polygonum multiflorum* Thunb was induced. The results showed that the growth was better in MS medium which contained 0.1 mg/L 6-BA + 3.0 mg/L IAA + 0.5 mg/L 2,4-D and the order of their efficiencies was 2,4-D > IAA > 6-BA. the disinfection effects of different regents were also studied, and the results indicated that 70% alcohol + 0.1% corrosive sublimate is the best combination.

Key words tissue culture; *Polygonum multiflorum*; callusd

何首乌 (*Polygonum multiflorum*) 为蓼科植物,是常用传统中药。药用块根,具有补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨之功效,用于血虚萎黄、眩晕耳鸣、须发早白、腰膝酸软、肢体麻木、崩漏带下、久病体虚、高血脂症等^[1,2]。

组织培养是细胞分化的一种复杂的生理过程,大量实验表明:植物激素和植物生长调节剂物质的种类,浓度以及它们之间的组合直接影响着愈伤组织的诱导。于荣敏^[3]实验表明何首乌茎段在适宜条件下,其茎段较易形成愈伤组织,在诱导过程中,生长素的种类和浓度起关键作用,其他因素次之,其中以 MS + 0.1mg/L 2,4-D 培养基,25℃ 暗培养时效果最佳。杜勤^[1]等的实验更进一步证明了于荣敏的实验:1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L

IBA + MS 的激素配比并暗培养的诱导率极大。而且还得出 4 种激素诱导作用的大小依次为 2,4-D > IBA > 6-BA > NAA。但以上的实验仅见于何首乌叶和茎的组织培养而对块根进行组织培养的报道目前很少。本实验对何首乌的块根进行组织培养,旨在找出何首乌块根的最佳消毒剂及诱导何首乌块根产生愈伤组织的最佳激素配比并比较各种激素作用主次。

1 材料和方法

1.1 试验材料

何首乌(苏州穹隆山)。

1.2 取样方法与灭菌处理

晴天上午取回外植体后,取何首乌块根和幼茎分别用洗洁精浸泡 0.5 h,并用自来水冲洗 2.5 h。在超净工作台上分别将其等分为 3 份。将第 1 份用 70%酒精处理 1 min,第 2 份经 70%酒精处理 1 min 后,

收稿日期:2005-11-18

作者简介:袁红霞(1972-),女,讲师,主要从事植物病理和生理学及生物防治研究。E-mail:yhx99@yeah.net

表 1 消毒剂及其组合

处理类别	消毒剂(消毒时间)
I	70% 酒精(1min)
II	70% 酒精(1min) + 10% H ₂ O ₂ (10min)
III	70% 酒精(1min) + 0.1% HgCl ₂ (10min)

表 2 因子水平表

	MS /mL	6-BA /mg·L ⁻¹	IAA /mg·L ⁻¹	2,4-D /mg·L ⁻¹
(1)	50	0.2	0.5	0.5
(2)	50	0.1	1.5	1.0
(3)	50	0.3	3.0	1.5

表 3 正交设计表

试管号	MS /mL	6-BA /mg·L ⁻¹	IAA /mg·L ⁻¹	2,4-D /mg·L ⁻¹
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

注:每个试管号有 8 个重复,经 I 处理的外植体接在每个试管号的两个重复中,经 II 处理的外植体接在每个试管号的 3 个重复中,经 III 处理的外植体接在每个试管号的 3 个重复上,每个重复 3 块外植体。

再用 10% H₂O₂ 处理 10 min,第 3 份经 70% 酒精处理 1 min 后改用 0.1% HgCl₂ 处理 10 min。无菌水冲洗 4~5 次,无菌纱布擦干,剥掉外植体表皮,块根切成 0.5 cm × 0.5 cm 左右的小块,按表 3 接种。

1.3 培养条件

块根:23~24 °C 光照培养箱中暗培养。

2 结果与分析

2.1 不同消毒剂的消毒效果

何首乌块根和幼茎在接种 1 星期后进行数据统计,其结果如表 4。从表 4 可知, I、II 两种消毒剂的消毒效果有一定的差别, II 处理是 I 处理的 2 倍左右,而 III 和 I 的效果相关很大, III 是 I 处理的 32 倍,因此得出结论:70% 酒精(1 min) + 0.1% HgCl₂(10 min) 对何首乌块根有很好的消毒效果。

表 4 不同消毒剂的消毒效果

处理类别	接种数 /块	未污染数 /块	消毒效果 /%
I	54	1	1.9
II	81	3	3.7
III	81	50	61.7

2.2 激素对愈伤组织产生的影响

接种 16 d 后对何首乌愈伤组织进行数据统计,其结果见表 5。

表 5 激素对愈伤组织的影响

试管号	MS /mL	6-BA /mg·L ⁻¹	IAA /mg·L ⁻¹	2,4-D /mg·L ⁻¹	接种数 /块	愈伤组织 /块	诱导率 /块
1	50(1)	0.2(1)	0.5(1)	0.5(1)	24	9	37.5
2	50(1)	0.1(2)	1.5(2)	1.0(2)	24	3	12.5
3	50(1)	0.3(3)	3.0(3)	1.5(3)	24	3	12.5
4	50(2)	0.2(1)	1.5(2)	1.5(3)	24	6	25.0
5	50(2)	0.1(2)	3.0(3)	0.5(1)	24	10	41.7
6	50(2)	0.3(3)	0.5(1)	1.0(2)	24	6	25.0
7	50(3)	0.2(1)	3.0(3)	1.0(2)	24	3	12.5
8	50(3)	0.1(2)	0.5(1)	1.5(3)	24	6	25.0
9	50(3)	0.3(3)	1.5(2)	0.5(1)	24	9	37.5
	K ₁	25.0	29.2	38.9			
	K ₂	26.4	25.0	16.7			
	K ₃	25.0	22.2	16.7			
	极差	1.4	7	22.2			

由表 5 可知,诱导何首乌块根产生愈伤组织受到培养基中激素配比的影响。其最佳激素配比为

0.1 mg/L 6-BA + 3.0 mg/L IAA + 0.5 mg/L 2,4-D,而且这 3 种激素作用主次为:2,4-D > IAA > 6-BA。

2.3 何首乌不同外植体诱导时间的比较

表 6 何首乌不同外植体的诱导时间

外植体	诱导时间/d
叶 ^[1]	7~21
茎 ^[1]	7~21
块根	14~28

从表 6 中可知:把何首乌块根作为外植体与把何首乌其他器官(茎、叶)作为外植体相比较,其诱导时间比用叶和茎作为外植体所用的时间长约一周左右。

3 结论与讨论

何首乌块根愈伤组织诱导结果表明:激素的浓度、类型、组合对何首乌愈伤组织的产生有很大影响,其中 MS+0.5 2,4-D+3.0 IAA+0.1 6-BA 激

素配比最佳,而且这 3 种激素的作用主次为:2,4-D > IAA > 6-BA;对何首乌块根消毒效果最好的消毒剂为 70%酒精(1 min)+0.1% HgCl₂(10 min)。

不同材料部位与愈伤组织的产生有密切的关系。何首乌块根较之茎段、叶不易形成愈伤组织。在进行组织培养快繁时,考虑到市场和生产成本时应选较合适的材料作为外植体,而何首乌块根的诱导时间长,污染率高,不适合于作为外植体来进行组织培养。

参考文献

[1] 杜 勤,符 红,詹若挺,等.何首乌组织培养的研究[J].中药材,1998,21(3):109-110.
 [2] 杜 勤,王振华,张俊容.正交设计在何首乌组织培养中的应用[J].中草药 1999,30(7):537-539.
 [3] 于荣敏.何首乌愈伤组织培养和蒽醌类成分的产生[J].中国药物化学学报,1995,5(6):131-133.

《中国野生植物资源》理事会及编辑委员会

- | | | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|---------|-----|-----|-----|-----|
| 顾 问 | 彭司勳 | 胡之璧 | 胡正海 | 名誉理事长 | 周文轩 | | | |
| | 路安民 | 赵守训 | 周荣汉 | 理 事 长 | 刘起棠 | | | |
| 主 编 | 张卫明 | 肖正春 | | 副 理 事 长 | 蔡锦城 | 郭次仪 | 顾振纶 | |
| 副 主 编 | 顾振纶 | 郑汉臣 | 姚福汉 | | | | | |
| | 袁昌齐 | 钱学射 | 段金廛 | | | | | |
| 编 委 | 施国新 | 张 玖 | 邵建章 | 何和明 | 秦民坚 | 高山林 | 陈重明 | 丁小余 |
| | 张广伦 | 李霞冰 | 赵伯涛 | 良 倩 | 蒋建新 | 刘世增 | 徐云翔 | 王康才 |
| | 吴永忠 | 丁建忠 | 董云发 | 童立峰 | 秦正红 | 张洪泉 | 梁中琴 | 谢梅林 |
| | 顾冀平 | 赵雨云 | | | | | | |
| 责任编辑 | 张广伦 | | | | | | | |