

巴天酸模组织培养的初步研究

马莉贞 (青海大学农牧学院, 青海西宁 810003)

摘要 在 MS 培养基中附加不同种类的外源激素, 以巴天酸模(无茵苗)幼茎、幼叶、子叶为外植体, 诱导形成愈伤组织及生根的对比实验研究。结果表明: 以附加 2,4-D 2.0 mg/L + 6-BA 0.3 mg/L 的 MS 培养基的出愈率最高; 诱导根形成的最适培养基为 MS + 2.0 mg/L IAA。

关键词 巴天酸模; 无茵苗; 组织培养

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)13-3085-02

Research on *Rumex patenticia* Tissue Cltural

MA Li-zhen (Faculty of Agriculture and Animal Science, Qinghai University, Xining, Qinghai 810003)

Abstract The experiment in the effect on induction callus from different explants(young stem, young leaf and cotyledon) of *Rumex patenticia* and roots regeneration with MS medium added with the different exogenous hormones was carried out. The result showed the induction rate of callus was highest in the MS medium containing 2.0 mg/L 2,4-D and 0.3 mg/L 6-BA and the roots appeared in the MS with 2.0 mg/L IAA.

Key words *Rumex patenticia*; Seedling; Tissue culture

巴天酸模(*Rumex patenticia*)是蓼科(polygonaceae)酸模属(*Rumex* L.)多年生草本植物, 具有耐盐碱、耐旱、耐涝、抗寒、速生、优质等生物学特性, 非常适宜在盐碱地等土壤栽培^[1]。它是优良的饲用牧草, 嫩茎和叶中含有丰富的营养物质; 具有较高的药用价值, 其根和叶作入药, 清热、解毒、增强毛细血管抵抗力、降低其脆性和通透性、促进骨髓制造血小板之功能^[2,3]; 它还含维生素 C、胡萝卜素以及铁、硒、碘等多种矿物质^[4]。

采用组织培养技术进行繁育不仅可以保持品种特性, 还可以降低成本。对于深入开展生物工程的科研与开发具有重要的意义。笔者是以巴天酸模(无茵苗)的幼茎、幼叶、子叶为外植体, 探讨不同外源激素配比诱导巴天酸模产生愈伤组织及由无茵苗生根的过程。

1 材料与方法

1.1 材料 供试种子为巴天酸模野生种子, 2005 年 7 月采于青海省湟中县多巴镇多巴训练基地, 海拔 2 360 m, 北纬 36°13'32"~37°03'19", 东经 101°09'。

1.2 方法 在无茵条件下消毒后, 将种子接种到不含激素的 MS 培养基中, 以获得无茵苗。取无茵苗的幼叶、幼茎和子叶分别接种于附加不同浓度激素的 MS 培养基上诱导愈伤组织并进行比较分析。

2 结果与分析

2.1 诱导幼叶、幼茎产生愈伤组织 取无茵苗的幼叶和幼茎分别接种于附加不同浓度激素的 MS 培养基上进行诱导培养, 5 d 后, 叶片从伤口周围处膨胀形成透明区; 7 d 后开始形成愈伤组织; 8 d 后, 茎段 2 端膨胀形成透明区; 10 d 后开始形成愈伤组织。

以 MS 培养基附加不同浓度的激素组合中(表 1), 幼茎、幼叶都诱导出了愈伤组织, 且愈伤组织的诱导率高, 生长快, 随着 2,4-D 浓度的增加诱导率提高, 生长速度加快; 当 2,4-D 浓度超过 2.0 mg/L 时, 愈伤组织诱导率则呈下降趋势。2,4-D 2.0 mg/L 和 6-BA 0.3 mg/L 配合使用时, 效果最佳, 且愈伤组织的结构较紧密, 多为淡黄色或白色, 生长迅速。在相同条件下幼叶愈伤组织的诱导率高于幼茎的诱导率。

表 1 不同激素对外植体的影响

代号	激素组合//mg/L		幼叶				幼茎			
	2,4-D	6-BA	接种数//块	成愈数//块	成愈率//%	愈伤组织类型	接种数//块	成愈数//块	成愈率//%	愈伤组织类型
1	0.5	0.1	9	7	77.8	A	9	5	55.6	A
	0.5	0.3	9	8	88.9	B	9	5	55.6	A
	0.5	0.5	9	5	55.6	A	9	3	33.3	B
	0.5	1.0	9	5	55.6	A	9	5	55.6	A
2	1.0	0.1	9	7	77.8	B	9	3	33.3	B
	1.0	0.3	9	8	88.9	B	9	5	55.6	A
	1.0	0.5	9	6	66.7	B	9	3	33.3	A
	1.0	1.0	9	5	55.6	B	9	2	18.0	B
3	1.5	0.1	9	8	88.9	A	9	6	66.7	A
	1.5	0.3	9	6	66.7	A	9	6	66.7	B
	1.5	0.5	9	4	44.4	A	9	5	55.6	B
	1.5	1.0	9	8	88.9	A	9	6	66.7	A
4	2.0	0.1	9	8	88.9	A	9	8	89.0	A
	2.0	0.3	9	9	100	A	9	9	100	A
	2.0	0.5	9	6	66.7	A	9	5	55.6	A
	2.0	1.0	9	5	55.6	A	9	8	89.0	B
5	2.5	0.1	9	7	77.8	B	9	3	33.3	A
	2.5	0.3	9	8	88.9	A	9	6	66.7	B
	2.5	0.5	9	5	55.6	B	9	2	18.0	B
	2.5	1.0	9	2	22.2	B	9	3	33.3	A

注: 愈伤组织类型, A 表示愈伤组织淡黄色或白色, 生长迅速, 结构较为紧密, 不断增殖; B 表示愈伤组织灰白色或乳白色, 生长较快, 结构松软, 增殖缓慢。

作者简介 马莉贞(1974-), 女, 青海西宁市人, 讲师, 从事植物学及植物组织培养方面的教学与研究工作。

收稿日期 2006-03-28

由表 1 可见, 诱导巴天酸模的愈伤组织以 2,4-D 浓度较高诱导效果最好, 这种结果与 Yamada 等^[5]的报道一致。看来能否有效地脱分化且产生愈伤组织, 在培养基中激素种类

的添加及浓度配比得当是非常重要的。

2.2 诱导子叶产生愈伤组织 待无菌苗的子叶伸展后, 切取 4~5 mm 长的子叶接种在不同浓度激素的 MS 培养基中诱导愈伤组织。在温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的黑暗条件下培养, 结果表明(表 1), 以附加 2,4-D 2.0 mg/L + 6-BA 0.3 mg/L 的 MS 培养基的诱导率最高。

2.3 试管苗的生根 选取长势良好且大小基本一致的无根试管苗分别接种在根分化培养基中, 结果表明(表 2), 在附加 2,4-D 2.0 mg/L 的培养基中, 经 1 个月左右的培养, 可见无根苗由其基部切口处产生大量灰白色愈伤组织, 少量根出现, 大部分长度短于 2 mm, 植株不定根的发生受到了明显抑制。无根苗在附加 NAA 2.0 mg/L 的培养基中, 14 d 后试管苗基部先形成大量灰白色愈伤组织, 进而由愈伤组织分化出不定根。在附加 IAA 2.0 mg/L 的培养基中, 接种 14 d 后, 可见无根苗的基部稍有膨大, 但无明显的愈伤组织形成, 进而由其上产生不定根, 根较细且长。在附加 IBA 2.0 mg/L 的培养基中, 接种 14 d 后, 有愈伤组织形成, 进而由其上产生不定根, 根不长。

表 2 不同激素对巴天酸模试管苗生根的影响

代号	外源激素	浓度 mg/L	处理数 株	生根数 株	根分化率 %
1	2,4-D	2.0	30	6	20.0
2	NAA	2.0	30	26	86.6
3	IAA	2.0	30	16	53.3
4	IBA	2.0	30	14	46.7

3 讨论

外植体诱导的愈伤组织在形态结构上已有人作了大量的报道^[6,7]。该试验得出巴天酸模愈伤组织可分为 2 类: 一

类为淡黄色或白色, 结构较紧密, 生长迅速, 不断增殖; 另一类为乳白色或灰白色, 结构松软, 生长快, 增殖缓慢。愈伤组织的类型影响着以后愈伤组织的分化, 只有紧密型愈伤组织才能诱导器官的发生。

巴天酸模愈伤组织的诱导受外植体和激素组合的影响, 不同外植体接种在相同或不同浓度的激素组合上, 愈伤组织的诱导率有明显的差异。2,4-D 是诱导巴天酸模愈伤组织的重要激素, 试验中幼叶的诱导率高于幼茎和子叶, 三者相比子叶最早出现愈伤组织。MS 培养基以附加 2,4-D 2.0 mg/L + 6-BA 0.1 mg/L 和 2,4-D 2.0 mg/L + 6-BA 0.3 mg/L 的效果比较好。

NAA 诱导根的发生率虽然在几种不同生长素类物质中最高, 但以 IAA 诱导形成的不定根质量最好。此结果与杨起简等的报道一致^[8]。

参考文献

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 1972.
- [2] 南京药学院《中草药学》编写组. 中草药学[M]. 中册. 南京: 江苏人民出版社, 1976: 174.
- [3] SULEYMAN H, DEMIREZER L O, KURUOZUM A. Effect of the aqueous extract of rumex patientia on xylol and hyaluronidaseinduced capillary permeability compared to indomethacin[J]. Pharmazie, 2001, 56(1): 92-93.
- [4] 董志魁. 杂交酸模的利用与栽培技术[J]. 中国草地, 1999(2): 73-74.
- [5] YAMADA Y, RECINERT J, BAJAJ Y P S. Tissue culture studies on cereals In "Applied and Fundamental aspects of plant cell", tissue and organ culture[J]. Forest Science, 1997, 49(2): 144-160.
- [6] 危晓薇, 蔡丽娟, 李仁敬. 紫花苜蓿组织培养及其再生植株[J]. 新疆农业科学, 1999(2): 73-75.
- [7] 张德炎, 李建民, 李喜文, 等. 红三叶和白三叶愈伤组织诱导和胚性细胞悬浮系的建立[J]. 中国草地, 1999(1): 15-18.
- [8] 杨起简, 景瑞莲, 厉秀茹, 等. 杂交酸模愈伤组织诱导及植株再生[J]. 北京农学院学报, 2001, 16(4): 3-7.

(上接第 3084 页)

量在 6 月份达到最高为 0.427%, 比年平均含量高出 43.3 个百分点; 然后又随着生长月份的增加而逐渐下降, 到落叶时达到最低为 0.195%, 比年平均含量低 33.3 个百分点。由此可见, 从皮中提取绿原酸时, 原料的采收以 6 月份为最佳。

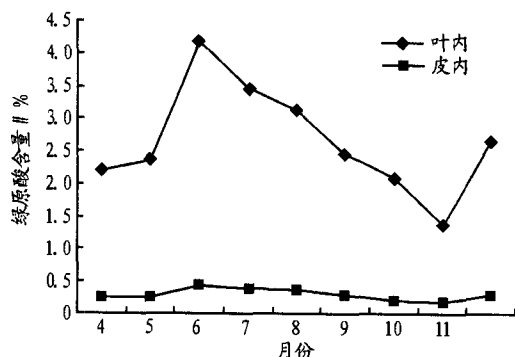


图 1 杜仲叶和皮绿原酸含量比较

2.3 杜仲叶与皮中绿原酸含量的比较 由图 1 可见, 4~6 月份绿原酸含量随月份的增加而增加, 绿原酸在叶中含量的最大值出现在植株生长最旺盛的 6、7 月份, 最高达到 4.17%, 以后逐渐下降; 皮中绿原酸的含量也出现在植株生长最旺盛的 6、7 月份, 最高达 0.427%; 在整个杜仲生长期,

绿原酸的叶中含量始终远远大于皮中含量。

由此可见, 如果单纯是为了从杜仲中提取绿原酸, 最好选用从叶片中提取, 而且提取的最佳时间为 6 月份, 此时的含量最高。杜仲皮虽然在中药中已经使用好久, 但是, 我们应根据不同情况, 根据所需要的成分, 分别选用不同的部位, 分别对待。

3 结论

通过对 15 年树龄的光皮杜仲树皮和叶片中绿原酸含量的分析, 发现绿原酸含量在叶和皮中的差异较大, 4~11 月叶中含量平均为 2.656%, 皮中含量平均为 0.301%, 相差 2.355 个百分点。由此可见, 提取绿原酸叶子占有明显的优势, 这样, 既不会削弱杜仲树体, 又提高了绿原酸的产量, 适宜于集约化经营。

参考文献

- [1] 周政贤. 中国杜仲[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 1993: 1-3.
- [2] 肖培根. 新编中药志[M]. 1 卷. 北京: 化学工业出版社, 2001: 259.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 131.
- [4] 藏友维. 杜仲化学成分研究进展[J]. 中草药, 1989, 20(4): 42.
- [5] 张康健, 王蓝, 马柏林, 等. 中国杜仲次生代谢物[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [6] 韩迎山. 植物细胞培养中次生代谢物的生产[J]. 植物生理学通讯, 1998(4): 11-17.
- [7] 唐建军, 陈欣. 培养条件对杜仲愈伤组织形成及次生代谢过程的影响[J]. 浙江大学学报, 2002, 36(2): 193-198.