

溪黄草的组织培养与快速繁殖研究

林娜

(浙江省丽水市中医院,浙江丽水 323000)

关键词 溪黄草 组织培养 快速繁殖

中图分类号 R282.71

文献标识码 A

文章编号 1672-397X(2006)07-0052-02

中药溪黄草为唇形科香茶菜属植物线纹香茶菜 *Rabdosia lophanthoides* 的干燥全草,具有清热利湿、退黄、凉血散瘀之功能,用于湿热黄疸、湿热泻痢、跌打瘀肿,近有用于急性黄疸型肝炎、急性胆囊炎而有黄疸者^[1]。溪黄草主要分布于长江以南地区,但多年来被毁灭性挖取,种源稀少,满足不了市场需求,应用组织

培养进行快速繁殖可解决资源紧缺的问题^[2]。

1 实验材料

溪黄草采自安徽省,外植体取茎尖、带腋芽的茎段和叶片。基本培养基为 MS,按不同处理方案添加不同类型的植物激素,用 0.1mol/L NaOH 和 0.1mol/L HCl 调节 pH 值为 5.8~6.0,在高压灭菌锅中高温(121℃)灭菌 20min。

移栽基质经过灭菌消毒处理,按 m(珍珠岩):m(草炭):m(菜园土)=1:1:1 比例混合。

2 方法与结果

2.1 样品处理 取茎尖、茎段(带芽)和叶为外植体,按下列程序进行消毒:取材→自来水粗洗→5%洗衣粉水溶液漂洗 5min→自来水冲洗 30min→75%乙醇擦洗表面→0.1%升汞溶液中消毒 5min→

按:慢性荨麻疹属中医学“瘾疹”范畴,病程较长,反复发作,在女性患者常伴有月经失调,常规的益气扶正法有时亦难奏效。笔者认为:女子以“血”为本,以“肝”为先天,肝肾不足是其本,方中生熟地黄、山萸肉、女贞子、旱莲草益肝补肾,荆芥、防风、白鲜皮祛风止痒,阴血生则虚风去,疾病得愈。

4 益肝补肾化痰

瘀血属于病理产物,其产生因素多认为与气滞、气虚、外伤有关,在临床上对阴虚血瘀的探讨并不多,但这类病症并不少见,如红斑狼疮早期、黄褐斑等。

例 4. 张某,女,38 岁,教师。初诊日期:2004 年 9 月 15 日。主诉:面部对称性淡黄色及淡褐色不规则的斑点及斑片,以眼下部明显,无痛痒感,临床诊断为“黄褐斑”。患者面色暗而少华,眼周黑圈,胸闷不舒,腰酸乏力,月经量少色暗,舌质暗红、苔薄白,脉沉细。证属肝肾不足、阴虚血瘀。治宜益肝补肾祛瘀。方选二至丸合四物汤加减。处方:女贞子 15g,旱莲草 15g,菟丝子 15g,鳖甲 10g,生熟地(各)15g,山萸肉 12g,川芎 15g,当归 10g,赤白芍(各)15g,甘草 6g。水煎服,每日 1 剂。

连服 8 周,色斑消退,面色红润。

按:黄褐斑属中医学“黧黑斑”范畴,多与肝气郁结、气滞血瘀有关,但患者忧思劳碌,久则肝肾阴虚。阴血亏耗,不能荣华于面,而致“黧黑斑”。阴虚血瘀成为本病的病理特点。方中女贞子、旱莲草、菟丝子、鳖甲、生熟地、山萸肉益肝补肾;川芎、当归、白芍养血化瘀,益肝补肾。如此,方能达到标本兼治的目的。

5 体会

许多皮肤病具有反复发作、迁延难愈的特点,“虚”是其本,但虚中有实,故补中有清、补中有散才是“标本兼治”的原则。肝肾与皮肤的关系密切:肾为“先天之本”,也就是说,肾与人体的“先天禀赋”密切相关,这与现代医学认为皮肤病多与人体免疫功能改变的观点吻合,且肝肾同居下焦,在生理上相辅相成。故皮肤病从肝肾论治是治病求本的体现。异病同治也是中医最基本的治疗原则之一,对于提高临床疗效具有十分重要的意义。

作者简介:朱铭华(1962-),女,汉族,副主任医师,医学硕士,中医皮肤科专业。

收稿日期:2006-04-17

编辑:冯广清

治法方药

表1 诱导溪黄草不定芽的培养基配方与诱导效果 单位:mg/L

序号	基本培养基	6-BA	IBA	NAA	总诱芽率(%)
1	MS	0.5		1.0	60
2	MS	1.0	0.5		55
3	MS	2.0		0.2	80
4	MS	1.0	0.1	0.1	70
5	MS	1.0		0.1	76

表2 溪黄草不同部位外植体诱芽情况

外植体	接种数	愈伤组织数(个)	出愈率(%)	不定芽数(个)
顶芽	50	40	80	560
茎段	50	30	60	320
叶片	50	12	24	0

表3 不同培养基配方对继代增殖的影响

培养基	MS+NAA 0.2	MS+6BA 0.02+NAA 0.5	MS+6BA 2+NAA 0.2
接种时芽个数(个)	10	10	10
接种时芽均高(cm)	1	1	1
继代3次后芽个数(个)	124	145	109

表4 不同培养基生根培养基配方及其生根率比较

序号No	基本培养基	IBA(mg/L)	NAA(mg/L)	接种瓶数	生根瓶数	生根率(%)
1	1/2 MS	1.0		54	25	46
2	1/2 MS	1.0	0.1	60	42	70
3	1/2 MS		1.0	50	21	42
4	1/2 MS	0.5	1.0	50	29	58

2%次氯酸钠溶液中消毒 20min→无菌水冲洗 4~6 次,然后在无菌工作台上将外植体切成 0.5~1.0cm 长的小段。

2.2 诱芽培养 将样品外植体(茎尖、茎段、叶的混合体)接种到表 1 各培养基中,在培养基中均加 3%蔗糖、1%琼脂,培养室温度 25℃左右,每日光照 13h,光照强度 2000 lx 左右,观察总体出芽情况,计算总诱芽率(诱芽率=长出新芽的外植体数/全部原始接种外植体数)。结果可见不同培养基配方对总体出芽情况的影响,其中 3 号培养基诱芽率最高,为较理想的培养基,见表 1。

取溪黄草的顶芽、茎段和叶片不同部位外植体,接种到 3 号培养基中,结果不同部位外植体外诱芽情况差异显著,取顶芽为外植体进行组织培养,成功获得较多的不定芽数;取叶片为外

植体进行组织培养,没有观察到不定芽生成,见表 2。

2.3 继代增殖 将诱导出来的愈伤组织及芽丛转到新的 3 种不同激素组合的培养基上进行继代培养。将初代培养基的芽丛分离并切割成 2cm 的茎段,分别接种于培养基 MS+NAA0.2、MS+6BA 0.02+NAA0.5、MS+6BA2+NAA 0.2。接种后给予全天光照,室温 20℃~28℃。3d 后基部全部开始膨大。1 周后腋芽开始萌动,且萌蘖生长很快,其中 MS+6BA0.02+NAA0.5 为最合适的培养基配方,说明不同培养基配方对继代增殖有较明显的影响,见表 3。

2.4 生根培养 将诱导成活的丛生芽切割成单芽,分别转接到按表 4 所配各培养基中(每瓶接 1 个芽),实验结果表明不同激素组合对其生根状况影响较大,结果见表 4。

2.5 移栽定植 芽长到 3~4cm 时,切取健壮的植株转接到生根培养基上,所有的植株都能正常生长,培养 1 周后即诱导生根,10d 后每株可长出 3~5 条根,根长达 4~5cm。再培养 1 周,植株健壮,叶色浓绿,揭去纸盖,轻轻洗去根部培养基,移到蛭石的小盆中,盖上塑料膜及烧杯,保持较高的温度,10d 后揭去塑料膜及烧杯,可移栽到大田,小苗成活率 95%。

3 讨论

对溪黄草诱芽培养所用培养基的结果表明,初代培养过程中以 MS+6BA (2mg/L)+NAA(2mg/L)为最佳培养基,该组合下诱导的愈伤组织出愈率高,生长快。对溪黄草不同部位的外植体进行诱导的实验结果表明,在相同消毒处理下和同种培养基中,最佳诱导外植体为茎尖。对溪黄草茎尖、茎段和叶片对外植体诱导愈伤组织的实验结果表明,不同外植体诱导愈伤组织有一定的差异,愈伤组织的诱导及分化不定芽能力以茎尖为最好,茎段次之,而叶片形成愈伤组织的能力最差,虽经改变多种激素组合来调节叶柄愈伤组织的出愈率,仍只有少数激素组合诱导出愈伤组织。对溪黄草生根培养的培养基筛选结果表明,1/2MS+IBA (1.0mg/L)+NAA (0.1mg/L)为最佳的生根培养基。6BA 在溪黄草的继代培养中作用可以忽略,可认为 MS+NAA0.2 是最佳组合的继代增殖培养基。

4 参考文献

- [1] 赖小平,陈建南.中药溪黄草类的研究进展.广州中医学院学报,1995,12(4):57
- [2] 肖树雄.溪黄草近期研究情况概述.汕头科技,2001,29(1):119

作者简介:林娜(1975-),女,中药师,大专学历,中药学专业。

收稿日期:2006-02-11

编辑:乔婧 吴宁