

青天葵组织培养研究进展^{*}

★ 魏智强 杜勤 (广州中医药大学中药学院 广州 510006)

摘要:对青天葵组织培养从外植体、培养条件、方法和结果等方面做了较全面的总结,青天葵是可以通过组织培养达到快速繁殖目的的。并对组培品种和野生品种进行了比较,发现组培品种并没有退化,而且组培品种在产能和产量上都优于野生品种。青天葵组培的研究对其工业化大量生产,提高产量有积极的意义。

关键词:青天葵;组织培养;综述

中图分类号:R 282.2 **文献标识码:**

The Headway OF *Nervilia Fordii* Tissue Culture Research

WEI Zhi-qiang, DU Qin

School of Chinese Materia Media, GuangZhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006

Abstract: This article makes a relatively all-around brief in explant, condition of cultivate, methods, result to the headway of tissue culture research on *Nervilia fordii* (Hance) Schltr. The *Nervilia fordii* (Hance) Schltr can breed rapidly through the tissue culture. In compare with the man-made breed and wild breed, we found that the man-made breed is not degenerate to the wild breed, but better in output. The research of *Nervilia fordii* (Hance) Schltr tissue culture have a active significance to the industrial plentiful product and advance the yield.

Key words: *Nervilia fordii* (Hance) Schltr; tissue culture; Review

青天葵药材是兰科植物毛唇芋兰 *Nervilia fordii* (Hance) Schltr 的叶或带块茎的叶,性平,味苦、甘,有清肺止咳、健脾消积、镇静止痛、清热解毒、散结消痈等功效^[1]。

自然生长的青天葵植物喜在背阳坡的石缝中、石块旁、草丛中或树林下潮湿的腐殖土。土壤 pH 值 7~8。荫蔽度 70%~80%^[2]。青天葵每年只长一片叶,少为 2~3 片,生长期较短,仅 180 天左右,单株产量低^[3]。自然生长的青天葵以球茎作为繁殖途径,每年生 1~2 个新球茎。近年来野生种质资源不断减少,但国内外市场的需求量却逐年加大,价格上涨,供不应求。为了保护 and 开发这一野生资源,迫切需大量快速繁殖。

1 外植体

大多数的青天葵组织培养都集中在球茎的培养上,球茎可能更容易培育且不受时间限制随时可采挖。杜勤等^[4]比较了叶柄、叶片、球茎三种材料,唯球茎诱导效果最好。但使

用球茎作为外植体破坏了整棵植株,如采用其它的器官则能更好的保护资源。目前只见潘学峰等^[5]使用过叶片作为外植体培育的报道。

2 培养条件

2.1 基本培养基 大多数使用 MS 培养基或以 MS 为基础的改良培养基^[4,6,7],凌征柱等^[7]实验表明球茎分化丛芽时 MS 培养基优于 H 培养基。杜勤等^[4]使用 1/2MS 就能很好的培育出球茎。除使用 MS 培养基外,还做了不同的尝试。何芙蓉等^[6]使用 BM 培养基(MS 的大量元素和微量元素、H 的生长物质)诱导根茎优于 MS。潘学峰等^[5]使用 KC 培养基(无生长物质)在愈伤组织的诱导中优于 MS 和 H 培养基,使用 H 培养基(较少量的大量元素和微量元素)诱导球茎的形成。

2.2 植物激素 青天葵的组织培养中使用的植物激素主要分为细胞分裂素 6-BA、KT 和生长素 NAA、2,4-D。从实验的

* 基金项目:广东省自然科学基金项目(5004249);广东省科技计划项目(2004B330001009)。

结果看,不同培养目的,应使用不同的激素。

何芙蓉等^[6]认为细胞分裂素 BA 对诱导丛芽及根茎都有良好效果,加与不加生长激素都可以。潘学峰等^[5]认为单独使用生长素或细胞分裂素均不能使叶片产生愈伤组织,叶片愈伤组织的形成要求细胞分裂素和生长素同时存在。此外 BA 在愈伤组织诱导球茎的过程中起非常关键的作用。最佳浓度为 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,当浓度达到 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时则会使愈伤组织褐化死亡。

杜勤等^[4]诱导根状茎时使用含 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 6-BA 的培养基上优于含 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 的培养基。绿色根状茎在含 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 和 NAA 培养基上可以直接诱导出完整植株。

凌征柱等^[7]认为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA 诱导青天葵球茎出芽率最高,在无细胞分裂素而有生长素的条件下可由走茎获得大量球茎。潘学峰等^[5]进一步研究认为生长素 NAA 在 $2.5 \sim 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 从走茎诱导球茎效果最好。

2.3 其它 活性炭广泛用于生根培养基中,潘学峰等^[5]将青天葵的球茎移到附加 $w = 0.1\%$ 的活性炭和 $\varphi = 10\%$ 的椰子水的 KC 培养基中,球茎就会抽芽长叶形成完整植株。杜勤等^[4]培育的白色的根状茎在不添加激素的培养基 $1/2\text{MS} + 1\%$ 活性炭上能够长出球茎,并从球茎上长出完整植株。

邓锡青等^[8]发现使用暗培养可以由根茎形成球茎,低温暗培养可缩短茎尖形成球茎的时间和提高球茎形成的数量。

3 培养方法

要想建立快速繁殖体系需要某种培养出来的材料能达到快速大量增殖的目的。目前研究表明可通过丛芽、根茎、愈伤组织快速大量增殖。

3.1 丛芽 自然生长的青天葵只会长出一个顶芽,而在 BA 的作用下,不仅能长出一个顶芽,还能使其潜伏芽萌发,形成 $4 \sim 10$ 芽的丛芽型^[12]。所见文献^[4,6,7]的球茎培养都经历过丛芽的阶段再发育诱导成其它器官,所以丛芽是球茎培养的必经之路。

3.2 根茎 何芙蓉等^[6]在诱导丛芽的同时也可使根茎潜伏芽同时萌发产生根茎。根茎增殖非常迅速,2 个月左右就可以密布整个培养瓶。切取根茎茎尖或带节的根茎进行继代培养,增殖能力仍然非常旺盛。

杜勤等^[4]由丛芽诱导的根状茎于节处长出许多小芽,芽尖均向培养基中生长,小芽也向培养基中生长,形成鹰爪状,每节几乎均有小芽长出,但无根。从根状茎可诱导成球茎和植株。

“走茎”一词最早见于青天葵诱导多球茎及丛生苗的研究^[7]其可能来自于青天葵野生变家栽的探讨^[9]一文中的“横走根茎”一词。青天葵野生变家栽的探讨^[9]中认为一球茎顶端能生直立茎及二至数横走根茎,其先端可形成新植株或球茎,所以横走根茎是重要的繁殖器官。走茎在含细胞分裂素的培养基中能不断生长,去掉细胞分裂素后则能诱导成球茎^[6,7]。杜勤等^[4]由芽得到的白色根状茎极像走茎,在含 6-BA 的培养基中能扩增,在含 NAA 或 2,4-D 的生长素中并不能扩增。由白色根状茎可直接诱导出球茎。或者在加活

性炭的培养基中逐渐变绿成为绿色根状茎,可直接诱导成植株。

3.3 愈伤组织 潘学峰等^[5]诱导叶片切口形成小的愈伤组织,随着培养时间的延长,愈伤组织逐渐长大,显白色瘤状,再继续培养可由愈伤组织诱导形成球茎。

4 培养结果

4.1 球茎 青天葵的组织培养中,大多数都是为了获得球茎,球茎可直接播种于田间,长成植株。同时兰科植物球茎的增殖方式在工业化生产上尤为重要^[10]。徐乃良^[11]认为青天葵种子无胚乳,直接播种难发芽。诱导球茎是目前研究的最多的繁殖方式。有从根茎中诱导^[6,4],走茎中诱导的^[5,7],愈伤组织中诱导的^[5]。

4.2 植株 能通过适当的方式培育成植株也是快速增殖的一种方式。球茎固有休眠特性(每年 9 月至次年 4 月)仍然使大面积生产受到限制,因此,只有通过组培快速繁殖方法,直接获得大批量的试管苗才能解决这一问题^[12]。植株大部分由球茎诱导而来^[5,6],也有从绿色根状茎诱导而来的^[4]。

5 组培与野生青天葵的比较

5.1 形态学比较 梁学金等^[12]发现试管苗具有的一株多叶的特性。叶片、叶柄和球茎诱导所得的试管苗,每个单株都在 2~3 片叶以上。其中从叶片诱导所得试管苗至今已连续转管增殖 6 代以上目前仍能保持 1 株多叶的现象。在栽培品中摘取第一片老叶后,一般经过 5~7 天,在叶柄基部内侧又可再生长出 1 片新叶。目前经过 3 次摘叶后,每个单株仍可保持 3 片以上。此外,将其中少数 1 株多叶试管苗的 3 片叶全部同时在叶柄基部摘掉,经过 7~10 天,这些植株又陆续再生出 2~3 片新叶。在连续采收老叶,又能再生新叶这一出人意料特性,说明人工培育的试管苗具有较高的经济价值和实用价值。

5.2 蛋白质成分比较 凌征柱等^[13]用聚丙烯酰胺凝胶电泳比较了组培品种和野生品种的可溶性蛋白,发现在两者都能跑出 8 条谱带,只是组培品在一条谱带上颜色要暗一些。青天葵组织培养栽培苗应与野生引种栽培苗视为同种药材。

5.3 栽培比较 吴庆华等^[14]对组培和野生青天葵栽培进行了比较。发现野生青天葵球茎的大小对发芽有较大的影响,小球茎通常发芽率不高,只有 25%。而组培球茎不分大小均能发芽,只是大球茎发芽较早些,出苗较为整齐,而小球茎发芽较迟些,出苗不够一致。在相同栽培管理条件下,组培球茎和野生球茎的发芽率分别为 96.5% 和 92.5%,所形成的叶片及地下根茎无明显差异,组培球茎比野生球茎的植株产量略高。

6 小结

综上所述,青天葵通过组织培养是可以达到快速繁育的目的。这对保护野生资源,扩大药材供应等方面都有积极的作用。通过比较组培品种和野生品种发现,组培品种在产能和产量上都优于野生品种,其化学成分的组成是否发生改变所见文献并不多,还有待进一步的研究。

青天葵的组织培养大多使用球茎作为培养材料,尚未见用花粉、花药的快速繁殖技术。培养花粉和花药培养可以培

何首乌及夜交藤化学成分及药理作用的研究进展*

★ 王付荣 周洪雷 (山东中医药大学药学院 济南 250014)

关键词:何首乌;夜交藤;化学成分;药理作用

中图分类号:R 284;R 285 文献标识码:A

何首乌又称首乌、赤首乌,异名地精,为蓼科植物何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb)的干燥块根。主产于我国四川、湖南、贵州、河南等省区,生于灌木丛中、山脚阴处或石隙中^[1]。何首乌具有补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨之功效,是滋补肝肾的常用中药,也可用于风湿痹痛和疮疹瘙痒。近年来研究发现,何首乌在抗衰老、增强机体免疫、抗菌、造血和改善心血管功能等方面有许多独到之处^[2,3],引起人们广泛关注。从而对何首乌的研究也更趋活跃,尤其是在化学成分、药理以及临床应用等方面。

夜交藤(*Caulis Ploygoni multiflori*),又名首乌藤,为常用中药品种之一,是何首乌的藤茎或带叶藤茎^[4]。本品性甘微苦、平,具有养血祛风止痛之效。用于失眠多梦,血虚身痛,风湿痹痛;外治皮肤瘙痒。夜交藤在药理及临床应用方面研究较多,而在化学

成分方面研究较少。兹综述如下:

1 化学成分

1.1 何首乌

何首乌主要含蒽醌类化合物,还含卵磷脂 3.7%,粗脂肪 3.1%,淀粉 45.2%^[5],此外,尚含天冬氨酸(Asp)、苏氨酸(Thr)、丝氨酸(Ser)、谷氨酸(Glu)、丙氨酸(Ala)等 17 种游离氨基酸,及少量的铜(Cu)、锌(Zn)、铁(Fe)、锰(Mn)等人体必需微量元素^[6]。

1.1.1 蒽类化合物 何首乌中蒽类化合物可分为萘醌类和蒽醌类两种。前者主要是 2-甲氧基-6-乙酰基-7-甲基胡桃醌(2-Methoxy-6-acetyl-7-methyjuglone),后者主要有大黄素(Emodin)、大黄素甲醚(Physcion)、大黄素-1, 6-二甲醚(Emodin-1, 6-dimethyketether)、大黄素-8-甲醚(Questin)、 ω -羟基大

* 基金项目:山东中医药大学 2005 级研究生导师专项基金课题(05-2)

育出单倍体植株,染色体加倍后获得纯合可育的二倍体植株,为育种和遗传研究提供有用材料。因此青天葵花粉或花药培育值得进一步探索研究。

参考文献

- [1]江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海:上海科技出版社, 1993: 1231.
- [2]凌征柱. 青天葵的栽培及其化学成分研究概况[J]. 广西科学院学报, 2001, 17(1): 25-26.
- [3]胡廷松, 何茂金, 兰祖裁, 等. 青天葵人工栽培技术[J]. 广西植物, 1993, 13(3): 263-266.
- [4]杜勤, 陈文利, 王振华, 等. 青天葵组织培养及植株再生的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(11): 812-814.
- [5]潘学峰, 符式钦, 戴卫端. 青天葵叶片离体培养及植株再生[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2001, 19(4): 358-362.
- [6]何美裳, 何定全, 陈幸华. 青天葵组织培养繁殖技术的研究[J]. 热带作物学报, 1990, 11(1): 97-101.
- [7]凌征柱, 梁学金, 潘素芬, 等. 青天葵诱导多球茎及丛生苗的研究[J]. 种子, 1998, (5): 35-36.
- [8]邓锡青, 梁学金, 李月榕. 毛唇芋兰根茎的诱导和块茎的形成[J]. 植物生理学通报, 1985 1985(6): 40.
- [9]胡廷松, 黎廷芝, 何俊. 青天葵野生变家栽的探讨[J]. 广西植物, 1988, 8(3): 263-267.
- [10]曹汝义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996: 145.
- [11]徐乃良. 青天葵高产栽培技术(续)[J]. 广西林业, 1994(2): 1.
- [12]梁学金, 凌征柱, 潘素芬. 青天葵试管苗与野生苗的形态差异[J]. 特产研究, 1993, (1): 28.
- [13]凌征柱. 青天葵组织培养栽培苗与野生青天葵化学成分对比[J]. 中医中药杂志, 1999, (增刊): 30.
- [14]吴庆华, 凌征柱, 陆永梅. 中药青天葵组培球茎栽培的研究. 时珍国医国药, 2001, 12(10): 958.

(收稿日期: 2007-06-21)