

其次,采用贴敷疗法,使药物直接接触创面并能持续作用,保证了疗效。生肌玉红膏首见于明·陈实功的《外科正宗》,其主要作用是化腐生肌,消肿止痛,和止血,能够迅速有效改善鼻腔局部营养^[3],促进黏膜再生和腺体分泌^[4,5],从而有效地解决了萎缩性鼻炎在治疗上的两大难点。内服药物治疗上着重健脾、润肺,滋养肝肾为主,治疗上行培土生金;滋水涵木之法,随证加减。方中党参、麦冬、甘草能生津润肺、补益脾胃,培土生金,加入生地、石斛、沙参加强清热生津养阴;杏仁、桑叶宣肺清热;当归、麦冬滋养肝肾;川楝子疏肝理气;茯苓、白术益气生津,健脾和中;全方具有柔肝健脾,滋水涵木,益气生津之功效。久病常致血淤,故方中加桃仁、丹皮活血化淤;方中桔梗引药上行,合甘草而利咽喉。综合全方,对于本病,津液亏损、脏腑虚而燥者具有养阴清

热、生津润燥、标本兼治之功效。

参考文献:

- [1] 卜国铭. 鼻科学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2000:291.
- [2] 田勇泉. 耳鼻咽喉科学,第5版[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:54.
- [3] 魏振东,郝泗城,孙建华,等. 中药祛腐生肌散等促进动物实验性皮肤溃疡修复作用的病理观察[J]. 天津医药,1990,18(9):547.
- [4] 张集圣,魏肇安,高玉芳,等. 生肌玉红膏、生肌橡皮膏和麻油对伤口影响的实验观察[J]. 天津医药,1989,17(4):238.
- [5] 李秀兰,韩慧,师宜健,等. 在创面愈合中毛细血管通透性的动态研究[J]. 中国骨伤,1994,7(2):5.

◇资源开发◇

黑水缬草组织培养与快速繁殖研究

刘娟,汪洋

(佳木斯大学化学与药学院,黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:目的 对黑水缬草愈伤组织诱导培养基和生长的培养条件进行研究,构建黑水缬草快速繁殖体系。方法 通过筛选外植体,添加不同种类及浓度的生长调节剂对黑水缬草进行愈伤组织诱导、芽增殖培养及生根培养。结果 诱导愈伤组织适宜培养基:MS+0.5 mg/LNAA+5.0 mg/L6-BA。芽增殖培养以 MS+0.2 mg/LNAA+10.0 mg/L6-BA 为宜。生根培养以 MS+0.1 mg/LNAA 为佳。结论 利用组织培养技术能够实现黑水缬草快速繁殖。

关键词:黑水缬草; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号:S567 **文献标识码:**A **文章编号:**1008-0805(2007)09-2171-02

Tissue Culture and Rapid Propagation in *Valeriana amurensis* Smir. ex Kom

LIU Juan, WANG Yang

(College of Chemistry and Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China)

Abstract Objective To provide some new evidences for rapid propagation of *Valeriana amurensis* Smir. ex Kom through studying on medium with callus tissue culture and the condition of growth. **Methods** Primary culture of different explants, culture of cluster buds and their rooting culture were conducted on medium of treatment combinations of adding different hormones. **Results** The appropriate medium for different culture stages were MS+0.5 mg/LNAA+5.0 mg/L6-BA in callus culture induction, MS+0.2 mg/LNAA+10.0 mg/L6-BA in differentiation and subculture of cluster buds, MS+0.1 mg/LNAA in rooting culture. **Conclusion** Rapid propagation can be achieved with plant tissue culture in *Valeriana amurensis* Smir. ex Kom.

Key words *Valeriana amurensis* Smir. ex Kom; Tissue culture; Rapid propagation

黑水缬草 (*Valeriana amurensis* Smir. ex Kom) 为败酱科 (Valerianaceae) 缬草属 (*Valeriana* Linn.) 多年生草本植物。在我国产于东北,集中分布于长白山及其余脉地区。入药部位为根和根茎。黑水缬草中主要含有环烯醚萜、倍半萜、生物碱和黄酮四大类型化学成分^[1],具有镇静、解痉、抗肿瘤活性、抗抑郁活性等作用,尤其是其倍半萜类和缬草酯类化合物具有很大的利用潜力,有望从中寻找出新型的抗抑郁药和镇静药^[2]。目前缬草提取物及其制剂在国际上十分畅销,销售额列植物药前 10 名^[3]。

我国多利用野生缬草资源,不利于大规模生产。由于近年旅游开发以及自然环境的破坏和无节制的采挖,野生状态的缬草资源已急速下降。又由于缬草属植物为多年生草本,自然生长十分缓慢,野生资源更趋于枯竭。开展黑水缬草的组织培养及快速繁殖的研究,就显得更为迫切和重要。而关于缬草属植物的组织培

养研究有少数报道,陈建荣等^[4]对诱导缬草愈伤组织作了初步研究。经查阅文献,关于黑水缬草的组织培养尚未见相关报道。本研究旨在通过对黑水缬草组织培养的研究,为建立其快速繁殖体系提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 本实验所用黑水缬草采自于黑龙江伊春绿潭地区,经佳木斯大学生药学院刘娟教授鉴定为黑水缬草 *Valeriana amurensis* Smir. ex Kom。实验所需试剂均为分析纯。

1.2 仪器 SA-1600-2JZ 多功能超净操作台(上海稼丰园艺用品有限公司);ZPQ-280D 智能气候培养箱(黑龙江东拓仪器制造有限公司);YXQ-LS-75SLL 立式压力蒸气灭菌器(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);电子天平 FA2004(上海恒平科技有限公司)。

1.3 培养基与培养条件 采用 MS 基本培养基,添加 0.8% 琼脂,3% 蔗糖及不同浓度的植物生长调节剂,调节 pH 值至 5.8,121℃ 高压灭菌 30min,备用。所有培养均在以下条件下进行:温度(25±1)℃,光照时间 12h/d,光照强度 1500~2000 lx。

1.4 方法 将材料经流水冲洗 30 min 后,置于超净工作台上消毒接种。先于 70% 酒精中漂洗 30s,再用 0.1% HgCl₂ 消毒 8 min,

收稿日期:2006-12-21; 修订日期:2007-07-02

基金项目:2007 年黑龙江省研究生创新科研项目 (No. YJSCX2007-0092HLJ)

作者简介:刘娟(1949-),女(汉族),黑龙江佳木斯人,现任佳木斯大学化学与药学院教授,主要从事生药(中药)鉴定与品质评价研究工作。

最后用无菌水冲洗 7~8 次,将消毒后的茎尖、茎段和叶柄切成长约 1~1.5 cm 的小段,叶片切成 0.5 cm² 大小,接种于预先配制好的培养基上,用于诱导愈伤组织。

2 结果

2.1 不同外植体对黑水缙草愈伤组织诱导的影响 为了确定黑水缙草愈伤组织的最佳诱导部位,把茎尖、茎段、叶柄基部、叶柄中部和叶片分别接种于含有 MS+0.2 mg/LNAA(萘乙酸)+5.0 mg/L6-BA(6-苄氨基腺嘌呤)的培养基中。接种 20 d 后,统计愈伤组织诱导率(见表 1)。结果表明,在含有 MS+0.2 mg/LNAA+5.0mg/L6-BA 的 MS 培养基中,以茎尖和叶柄基部为外植体诱导愈伤组织较适宜,带节间的茎段诱导丛生芽较适宜。

表 1 不同外植体对愈伤组织诱导的影响

诱导部位	接种块数	愈伤组织数	诱导率(%)
茎尖	60	49	81.7
茎段	60	44	73.3
叶柄基部	60	46	76.7
叶柄中部	60	41	68.3
叶片	60	28	46.7

2.2 不同植物生长调节剂对黑水缙草愈伤组织诱导和生长的影响 考察了不同浓度配比的 NAA 和 6-BA 对愈伤组织诱导和组织生长的影响。见表 2。

表 2 NAA 和 6-BA 不同浓度的组合 mg·L⁻¹

6-BA	NAA				
	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
1.0	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	E ₁
2.0	A ₂	B ₂	C ₂	D ₂	E ₂
3.0	A ₃	B ₃	C ₃	D ₃	E ₃
5.0	A ₄	B ₄	C ₄	D ₄	E ₄
10.0	A ₅	B ₅	C ₅	D ₅	E ₅

初次培养有多类型的愈伤组织产生,继代后不同类型愈伤组织再生能力表现不同。初次培养产生的愈伤组织,质地上有疏松、坚硬,颜色有白色、淡黄色、淡绿色、深绿色。其中 C 系列培养基长势较理想(见表 3)。C₄ 号培养基愈伤组织结构致密,表面光滑,继代后愈伤组织保持旺盛生长,培养 25 d 后可见白色根形成。C₁ 号培养基继代后生长正常,愈伤组织质地适中,长期培养未见根分化,这种特征的愈伤组织分生能力较强,可用作细胞培养。

表 3 C 系列配方对茎尖愈伤组织生长的影响

序列号	最早出现愈伤组织时间 t/d	愈伤组织诱导率(%)	愈伤组织质地	愈伤组织生长情况
C ₁	8	72.8	淡黄色、较疏松	生长较快且良好
C ₂	9	67.5	白色、较致密	生长慢
C ₃	12	69.7	淡黄色、疏松	生长慢
C ₄	8	84.6	淡绿色、致密	生长快且良好
C ₅	10	62.4	深绿色、较硬	生长较慢

2.3 节间茎段丛生芽的诱导和苗增殖培养 采用不同浓度配比的 6-BA 和 NAA 对黑水缙草带节间的茎段进行诱导。结果表明,经过 30d 的培养,部分培养基中节间部位长芽。其中,以 B₅ 号培养基长芽的时间较短,且生长速度较快。茎段在培养起始时即开始膨大,并在基部出现较多绿色小点,随着植株的生长分化出小芽,幼芽数逐渐增多形成芽丛,将丛生芽切割后转接到不同

浓度配比的 6-BA 和 NAA 培养基中,其中仍以 B₅ 号培养基芽增殖效果为好。

2.4 生根培养 当无根苗长至 1 cm 以上时,转接到 MS+NAA(0.05,0.10,0.20,0.40 mg/L)培养基中诱导生根。其中 MS+0.10 mg/LNAA 培养基中形成的根白色粗壮,且生长快。3 周时间便能产生良好的根系。

3 讨论

3.1 外植体对愈伤组织诱导效果的影响 在本实验中,黑水缙草茎尖培养后优先愈伤,然后叶柄和茎段剪切端愈伤,最后是叶片破损处愈伤。这表明分裂旺盛的部位易愈伤,剪切受损的部位易愈伤。造成这种差异的原因可能是由于旺盛生长时期的材料内源激素的含量较高,再分化比较容易。因此,在进行愈伤组织诱导时,选用适宜的组织部位是十分必要的,应尽量选择未分化或分化程度较轻的组织作为外植体使用。

3.2 植物生长调节剂对黑水缙草愈伤组织诱导的影响 一般认为诱导愈伤组织成败关键在于培养的条件。其中,植物生长调节剂是极为重要的因素。本实验利用 6-BA 和 NAA 以不同的浓度配比来诱导愈伤组织,可以看出当 NAA 浓度较高而 6-BA 浓度相对较低时外植体形成的愈伤组织相对较理想。由此可见,进行愈伤组织诱导时,应加入适量生长素而少加入细胞分裂素。对能形成愈伤组织的几组培养基进行比较发现,在含有 6-BA 的培养基中愈伤组织可长期继代,并且不褐化。其原因可能是 6-BA 可延缓组织衰老,从而减缓或抑制了褐化^[5]。

3.3 植物生长调节剂对黑水缙草苗增殖及生长的影响 本实验利用 6-BA 和 NAA 以不同的浓度配比来进行苗增殖培养,发现随 6-BA 浓度增加苗生长速度越快,但 6-BA 的浓度不宜大于 10.0 mg/L。NAA 在不定芽的分化过程中具有重要作用,但浓度不宜大于 1.0 mg/L。由此可见,进行芽增殖培养时,应加入适量细胞分裂素,加少量生长素。这与张兰英等在宽叶缙草的报道中结果一致。

3.4 植物生长调节剂对黑水缙草根的诱导的影响 本实验采用 4 种不同浓度的 NAA 培养基诱导生根,结果发现 NAA 浓度相对较低时生根较容易。这可能是由于生长素的浓度对生根有一定影响。其浓度较低时促进生根。同时也说明 NAA 比较适用于黑水缙草的生根。

综上所述,本实验分别确定了愈伤组织诱导、丛生芽培养和生根培养的最佳培养基配方。采用诱导黑水缙草叶柄及茎产生愈伤组织的方法进行试验,结果在较短期内产生大量丛生芽,然后诱导生根,从而为其快速繁殖提供科学依据。对于茎和叶柄诱导的愈伤组织中,其有效药用成分的含量和变化,还有待于进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 张振学,姚新生. 药用植物缙草的化学研究进展[J]. 中国药物化学杂志,2000,10(3):226.
- [2] 罗世家,周光来. 缙草叶片组织培养研究[J]. 湖北民族学院学报,2005,23(2):137.
- [3] 邵云东,高文远,刘 丹,等. 植物提取物的质量控制[J]. 中国中药杂志,2003,28(10):899.
- [4] 陈建荣,秦玉芝,谷巨华. 阔叶缙草叶愈伤组织诱导初步研究[J]. 吉首大学学报(自然科学版),2000,21(3):14.
- [5] 杨增海. 园艺植物组织培养[M]. 北京:农业出版社,1987:41.