地藏黄精组培技术研究

汤盛杰[1]　姜程羲[2]　赵国利[1]

(1 安徽天品堂生态农业有限公司,安徽池州　247000;2 池州市九华山黄精研究所,安徽池州　242811)

摘　要:利用植物组织培养技术建立黄精快速繁殖体系是生产优质黄精种无毒苗的有效途径,其关键技术之一在于黄精根茎上不定芽的增殖数量和质量。不同激素组合及其浓度对此影响很大。研究结果表明,采用激素62BA与NAA组合在适宜的温度与光照条件下,对黄精离体根茎芽进行快速增殖的组培技术效果良好,此项组培技术值得应用推广。

关键词:黄精;组培;研究

中图分类号　Q94.331　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1007-7731(2008)21-219-01

黄精组织培养育苗技术(简称组培)是在无菌条件下,截取新生茎尖或根茎上的不定芽置于已备人工培养基上,经过控制室内适宜的温、湿度、光照、培养,促进叶绿体与根原基分化。在激素组合及其浓度的影响下,分段培养长出无毒苗,再通过光浴坪驯化无毒苗转入黄精园地栽培。这是黄精工厂化快繁育苗的重要技术措施。据徐红梅等报道,植物生长调节剂激素组合TDZ1.5mg·L^{-1}+2.4D1.0mg·L^{-1}对黄精根茎不定芽增殖较为有利,但采用激素62BA与NAA新组合促进根茎不定芽增殖的组培技术尚未见报道。为此,笔者开展了相关研究,现总结如下。

1　材料和方法

1.1　材料　多花黄精的根茎采集于九华山风景区黄精基地,氯化汞以及其他培植培养基所需的常用化学试剂均为分析纯。

1.2　方法　刷掉黄精根茎泥土,用洗洁精溶液浸泡10min后洗净,再用0.2%氯化汞(内含0.05%的吐温20)等处理10min,灭菌之后,用无菌水清洗5次,将暴露在消毒液中的根茎组织切除,接种于MS+62BA 5mg·L^{-1}+NAA0.2mg·L^{-1}+0.8%琼脂+3%蔗糖的培养基(pH5.8)上,封口后培养。经过2次相同培养基的继代培养,再把单芽的黄精根茎接入前述的62BA浓度分别为1.0、2.0、3.0、4.0和5.0mg·L^{-1}的培养基上培养。每瓶接种根茎3-4个,重复5次。不同时间观察并统计每个根茎上不定芽的增殖数量和增殖重量等,取平均值。黄精根茎的培养条件均为:温度18-20℃(夜)、22-24℃(昼);光照12h·L^{-1},光照度1500 1x。

2　结果与分析

2.1　62BA浓度对黄精根茎不定芽增殖数量的影响　黄精组织培养中不定芽的增殖数量直接影响到组培效率和繁殖系数,而62BA浓度对不定芽增殖数量和繁殖系数的影响则是关键,其结果见图1。随着62BA浓度增高,每个外植体上不定芽增殖的数量也随之增加,62BA浓度为4mg·L^{-1}时,不定芽增殖数量最大,平均每块外植体上可长出8.3个芽。当62BA浓度增高到5mg·L^{-1}时,不定芽增殖的数量反而下降(图1),这说明高浓度的62BA对黄精不定芽的增殖有抑制作用。

2.2　62BA浓度对黄精不定芽增殖重量的影响　不同浓度62BA对黄精根茎不定芽增殖的重量有不同影响(图2)。图2结果表明,随着62BA浓度增高,每个外植体上不定芽增殖的重量也增加,但以62BA4 mg·L^{-1}时不定芽增加最为显著;62BA5mg·L^{-1}时不定芽增殖重量则下降。此趋势与62BA浓度对黄精根茎不定芽增殖数量的影响趋势基本相一致。说明,黄精根茎不定芽增殖的数量和重量是基本同步的。但当62BA浓度为1mg·L^{-1}时,不定芽在数量上几乎没有变化,只是单个黄精根茎不定芽即外植体本身的重量增加而长大。因此,对于以根茎为药用部位的黄精中药材来说,也可以通过62BA 4 mg·L^{-1}培养基这一条途径来实现工厂化试管内直接繁殖其药用器官。

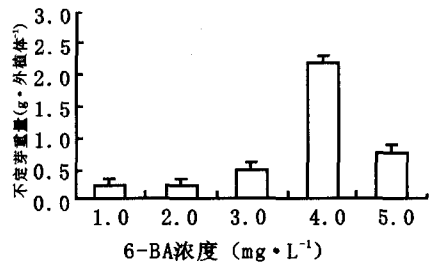

图1　黄精不定芽在不同62BA浓度培养基中生长90d的数量变化

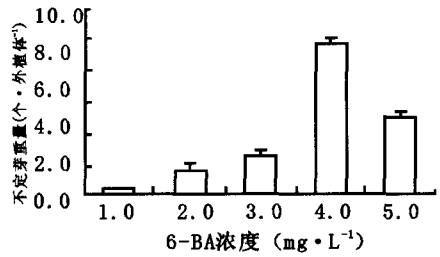

图2　黄精不定芽在不同62BA浓度培养基中生长90d的重量变化

2.3　62BA浓度对黄精根茎不定芽综合　(下转64页)

作者简介:汤盛杰(1976-),男,江苏无锡人,高级经济师,研究生,研究方向:生态农业工程。　**收稿日期**:2008-09-24

2.1 石榴叶总黄酮对·OH的清除作用 ·OH是活性氧中最活泼的氧自由基之一,它几乎能与活细胞中任何分子发生反应,可介导机体组织脂质过氧化,蛋白质解聚、聚合,核酸断裂和多糖裂解等生化过程,引发组织细胞病变,导致各种疾病发生和加速机体衰老。减少此类自由基可预防衰老、心血管疾病,并具有防癌抗癌的作用。

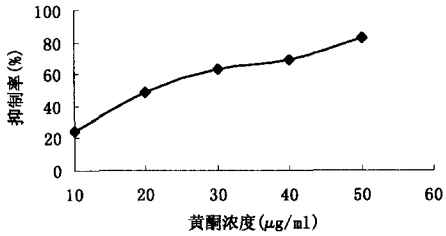

图1 黄酮对·OH的清除作用

由图1可见,石榴叶总黄酮对·OH自由基有较强的清除作用,达到50%清除率所需提取物浓度(EC50)为24.65μg/ml。

2.2 石榴叶总黄酮对·O_2^-的清除作用 ·O_2^-自由基是机体内寿命最长的自由基,通常作为自由基链式反应的引发剂,产生活性更强的自由基。超阴离子自由基可从其生成位置扩散到较远距离,达到靶位置,具有较大的危害性。不同浓度的石榴叶总黄酮对·O_2^-的清除作用见图2。

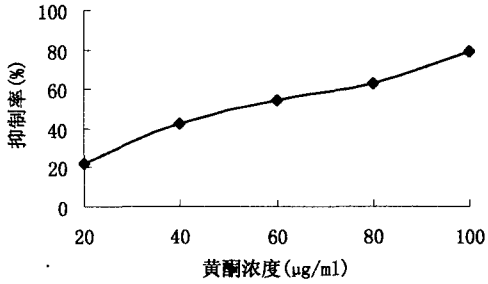

图2 黄酮对·O_2^-的清除作用

由图2可见,石榴叶总黄酮对·O_2^-自由基有较强的清除作用,达到50%清除率所需提取物浓度(EC50)为57.01μg/ml。

2.3 石榴叶总黄酮对自发脂质过氧化的抑制作用 脂质过氧化反应会损伤生物膜,丙三醛(MDA)是脂质过氧化反应的终产物之一,氧化损伤可引起MDA生成增加,肝脏是反应脂质过氧化较为敏感的器官,所以肝脏中MDA的含量间接反映细胞脂质过氧化程度。

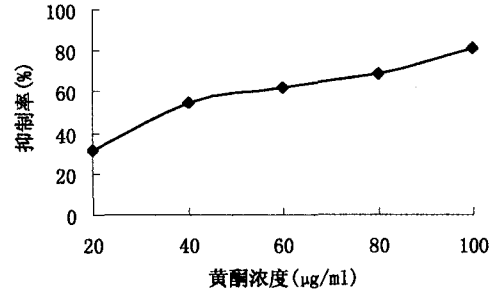

图3 黄酮对自发脂质过氧化的抑制作用

从图3结果可见,石榴叶总黄酮对自发脂质过氧化有较强的抑制作用,达到50%抑制率所需提取物浓度(EC_{50})为42.87μg/ml。

3 结论

抗自由基的保健食品的研究近年来受到人们的重视,尤其是在抗衰老、防治心脑血管疾病领域。抗氧化性试验表明,石榴叶总黄酮具有较好·OH的清除作用、对·O_2^-的清除作用和对脂质过氧化的抑制作用,是一种很好的功能性食品添加物,可作为抗衰老、抗癌等功能保食品原料,该研究结果对于促进石榴叶资源利用有一定的参考价值。

参考文献

[1]吴静,支金虎. 石榴叶中总黄酮含量的测定[J]. 河西学院学报. 2006,22(2):49-50.

[2]华光军,郭勇. 黄酮类化合物药理研究进展[J]. 广东药学,1999,9(4):9-12.

[3]黄河胜,马传庚,陈志武. 黄酮类化合物药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2000,25(10):589-591

[4]郭亚健,范莉,王晓强. 关于$NaNO_2^-$ $Al(NO_3)_3$-NaOH比色法测定总黄酮方法的探讨[J]. 药物分析杂志,2002,22(2):97-99

[5]靳学远,唐艳红,秦霞. 苹果渣多酚抗氧化性质的研究[J]. 广西轻工业,2007,1:3-4.

(责编:张琪琪)

(上接219页)**质量的影响** 62BA浓度不同,对黄精根茎不定芽综合质量的影响也明显。试验中观察到,当62BA浓度为4mg·L^{-1}时黄精根茎上增殖的不定芽饱满、健壮、整体质量最好,而且不定芽上的叶形成正常、发育健壮、生长旺盛;能形成正常的地上茎和自然根;62BA浓度低于4mg·L^{-1}时则增殖的不定芽小、叶子也小、没形成地上茎;当62BA浓度为5mg·L^{-1}时增殖的不定芽不仅小、而且很瘦弱。因此,62BA 4mg·L^{-1}时可以有效地促进黄精根茎上不定芽增殖及其综合质量。

3 讨论

黄精组培育苗整个过程,要求设施条件具备,试验剂量精准、操作熟练、技术精当。本研究结果表明,62BA 4.0mg·L^{-1}与NAA 0.2mg·L^{-1}的激素组合不仅能够使黄精不定芽快速增殖,而且不定芽增殖的综合质量好,无畸形叶片产生。这也说明,采用不同激素组合都能有效地诱导黄精不定芽的增殖数量。因为多花黄精的再生过程中,首先是在外植体上形成一些球形颗粒,之后在这些球形颗粒上再分化出芽,故属于器官发生途径。器官发生与植物生长调节剂的种类及浓度都有关系,故要从多花黄精不定芽增殖的数量和质量等方面综合考虑,选择合适的植物生长调节剂的种类及浓度。所以,对于多花黄精不定芽增殖的组织培养中,62BA 4.0mg·L^{-1}与NAA 0.2mg·L^{-1}的激素组合则是一个值得参考和运用的参数。对于最适的温度与光照及人工驯化技术有待进一步深入研究。

(责编:张琪琪)