

诱导八角莲愈伤组织的研究

★ 叶耀辉¹ 黄慧莲² 刘红¹ (1 江西中医学院 南昌 330006; 2 中国药科大学 2005 级博士研究生 南京 210000)

摘要:目的:探讨八角莲诱导愈伤组织的过程,为快速繁殖幼苗奠定基础。方法:以八角莲的根茎、叶片为外植体,采用 MS 培养基,附加不同的植物激素进行实验。结果:以八角莲的叶片为外植体,在培养基 MS+NAA 1.0 mg/L+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L,愈伤组织诱导率可达 55.0%。结论:通过合理配制培养基和激素,可以诱导八角莲的愈伤组织。

关键词:八角莲;组织培养;愈伤组织

中图分类号:Q 944.3 **文献标识码:**A

八角莲 [*Dysosma versipellis* (Hance.) M. Cheng], 国家三级保护植物,小檗科多年生草本,根茎入药^[1-3]。由于其药用价值高,在治毒蛇咬伤、抑制肿瘤方面具有奇特的疗效,识者每见必挖,野生资源遭严重破坏。本文通过诱导八角莲愈伤组织的研究,建立起八角莲的组织培养系统,为人工繁殖八

产浙江、福建、江西、湖南、广东、广西。根、藤茎入药,祛风散瘀、止痛、利尿消肿;果实可杀虫、解毒消肿。

五指那藤 *S. obovatifoliola* Hayata subsp. *intermedia*: 产广东、广西、湖南。茎、叶入药,祛风止痛、利尿消肿;果实主治疝气^[7]。

2 开发应用价值

2.1 药用价值 现代药理研究表明,野木瓜具有镇静、止痛、解痉、抗炎、消肿等作用,临床上用于各种手术止痛、腰椎骨质增生、风湿性肌炎、紧张性头痛等疾病;同属多种其它植物也有祛风止痛、利尿通经等功效;民间用于治疗风湿性关节炎、跌打损伤、水肿、肾下垂、疝气等症。因临床疗效显著,目前,野木瓜资源已得到较好的开发与利用,仅江西的赣南地区其每年野生药材的收购量就在 100 吨以上,野木瓜已成为当地山区重要的野生药材资源。

2.2 食用价值 大多数野木瓜属植物的果实均可食用。长期以来,江西、湖南各地民间素有食用野木瓜果实的传统;每年的深秋季节,在一些山区的集贸市场常有野木瓜鲜果出现。此类浆果一般呈长椭圆形或卵形,个大者可达 300 g 以上。成熟期为每

角莲属植物提供科学依据和技术资料。

1 材料与方法

1.1 供试材料 八角莲叶片及根茎均采自本院药用植物园。

1.2 实验方法 八角莲叶片及根茎用清水冲洗干净。叶片用 75% 酒精浸 30 秒,用无菌水冲洗一遍,

年的 9~11 月份,熟时多为橙黄色,黄瓤,可食部分为发达的胎座组织。果味香甜,口感独特且营养丰富,是一种具有很好开发潜力的山珍野果。此外,野木瓜种子的含油率达 35.2%,可用于榨取食用油。

2.3 观赏价值 野木瓜属为常绿藤本植物,生长速度快,适应性强;植株整齐、清秀,形态优美。花朵芳香宜人,果实绚丽,具有很高的园林观赏价值。

参考文献

- [1] 郑庆安. 木通科植物的化学分类[J]. 植物学通报, 2001, 18(3): 332
- [2] 史建敏. 野木瓜用于术后镇痛的疗效[J]. 中国新药与临床杂志, 2002, 21(6): 363
- [3] 中国植物志编委会. 中国植物志(第 29 卷)[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 23
- [4] 傅立国. 中国高等植物(第三卷)[M]. 青岛: 青岛出版社, 2000. 592
- [5] 陈兴芳. 四川木通科药用植物资源与综合利用研究[J]. 中国野生植物资源, 1996, (4): 17
- [6] 中国药材公司. 中国中药资源志要[M]. 北京: 科学出版社, 1994. 373
- [7] 广西中医药研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁: 广西人民出版社, 1986. 78

(收稿日期: 2005-04-20)

再放入 0.15% 升汞溶液表面消毒 10 分钟, 无菌水冲洗 3 遍, 切成适接种的小块。根茎用酒精浸泡 1 分钟, 用无菌水冲洗 1 遍, 用解剖刀削去外皮, 再放入 0.15% 升汞溶液中浸泡 15 分钟, 取出用无菌水冲洗 3 遍, 切成适宜的小块, 接种到不同的培养基中。接种后置于培养室内日光灯下培养。光强为 700lx, 每天光照 10 小时, 培养温度 (20±2) °C。

2 结果与分析

2.1 外植体对诱导愈伤组织的影响 分别取八角莲的根茎、叶片接种, 采用培养基为 MS+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, 诱导愈伤组织, 置于日光灯下培养。

接种 10 天后, 叶片周围明显增厚, 体积膨大, 周围先形成愈伤组织。接种的八角莲根茎没有形成愈伤组织。30d 的统计数字(表 1)表明, 以八角莲植株不同部位的材料做外植体, 其愈伤组织诱导率差异明显。叶的诱导率高达 40.0%, 根茎的诱导率为 0%。

表 1 不同外植体的诱导效果

接种部位	接种块数	诱导愈伤组织数	诱导率(%)
根茎	54	0	0
叶	55	22	40.0

2.2 不同基本培养基对八角莲叶片诱导愈伤组织的影响 本文考察了 MS、Knudson N(KN)、Fundson C(KC)、Fonnesbech(Fo) 4 种基本培养基的影响, 均添加激素: 2,4-D 3.0 mg/L+6-BA 0.5 mg/L。实验结果见表 2。结果表明, 基本培养基的优劣顺序为: MS>KC>KN>Fo。在 MS 培养基上愈伤组织诱导快, 诱导率高, 愈伤组织状况最好。

表 2 不同基本培养基对八角莲愈伤组织诱导的影响

基本培养基	开始形成愈伤组织天数	诱导率(%)	诱导特征
MS	7	42	增厚较快, 形成愈伤组织较多, 颜色淡黄色
KC	10	32	边缘部分增厚, 形成愈伤组织较少
KN	10	25	边缘部分增厚, 愈伤组织少, 易老化
Fo	11	20	部分增厚, 愈伤组织少

2.3 不同激素浓度的对比对诱导愈伤组织的影响

将八角莲叶片分别接种至以下不同比例激素的培养基上(I~IV), 接种后置于散射光下培养, 30d 后统计愈伤组织诱导率。结果见表 3。

表 3 激素对比对诱导愈伤组织的影响

培养基	接种块数	诱导愈伤组织数	诱导率(%)
I	30	10	33.3
II	30	12	40.0
III	30	14	43.3
IV	30	7	23.3

注: I: MS+2,4-D 3.0mg/L + 6-BA 1.0mg/L

II: MS+2,4-D 2.0mg/L + 6-BA 0.5mg/L

III: MS+2,4-D 3.0mg/L + 6-BA 0.5mg/L

IV: MS+2,4-D 4.0mg/L

实验表明: 八角莲叶片脱分化产生愈伤组织受培养基中激素配比的影响, 其中以 MS+2,4-D 3.0mg/L+6-BA 0.5mg/L 的诱导效果最佳。细胞分裂素的浓度过高时, 诱导率下降, 且愈伤组织易较早老化, 过低时不易长出愈伤组织。

2.4 用正交设计法优选最佳激素配比 分析 2,4-D、NAA、6-BA 三种不同的激素的 3 个水平 9 个浓度组合的实验(表 4)发现各种组合对八角莲愈伤组织诱导的影响差异较大。

表 4 影响八角莲愈伤组织诱导因素—水平表

因素	NAA(mg/L)	2,4-D(mg/L)	6-BA(mg/L)
水平 1	0.5	0.5	0.5
水平 2	1.0	1.0	1.0
水平 3	2.0	2.0	1.5

表 5 实验安排与结果

实验序号	NAA 浓度	2,4-D 浓度	6-BA 浓度	诱导率(%)
1	1	1	1	23.5
2	1	2	2	31.3
3	1	3	3	23.7
4	2	1	3	18.7
5	2	2	1	52.2
6	2	3	2	49.3
7	3	1	2	31.2
8	3	2	3	27.3
9	3	3	1	44.2
K ₁	78.5	73.4	119.9	
K ₂	120.2	110.8	111.8	
K ₃	102.7	117.2	69.7	
R	41.7/3	43.8/3	50.2/3	

从极差分析结果可知, 诱导八角莲的最佳激素水平配比为: A₂B₃C₁ (NAA 1.0 mg/L、2,4-D 2.0 mg/L、6-BA 0.5 mg/L)。我们用 A₂B₃C₁ 配比的培养基再次进行实验。实验结果表明: 愈伤组织诱导快, 生长较好, 诱导率达 55% 以上。

3 小结

目前, 国内的八角莲组织培养的研究还刚开始。本文初步探讨了诱导八角莲的愈伤组织。实验结果表明: 以八角莲的叶片作为外植体, 接种在 MS+NAA 1.0+2,4-D 2.0mg/L+6-BA 0.5mg/L 的培养基上, 愈伤组织的诱导率最高。

参考文献

- [1] 邱荷香, 邱英雄. 中国特有濒危植物八角莲的研究进展及其开发前景[J]. 安庆师范学院学报(自然科学版), 2002, 8(4): 91~93
- [2] 尚明英, 菜少青. 批鳞八角莲的化学成分研究[J]. 中草药, 2000, 31(60): 412~414
- [3] 刘春安, 彭明. 抗癌中药大辞典[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1994. 129

(收稿日期: 2006-06-12)