

连翘的组织培养研究

刘计权

(山西中医学院中药系,山西太原,030024)

摘要:通过组织培养,介绍了连翘的培养方法,并对结果进行了分析,探讨了不同条件下对培养结果的影响。

关键词:连翘;组织培养;繁殖

中图分类号:S567 **文献标识码:**A

连翘(*Forsythia suspensa*(Thunb.)Vahl)是木樨科常见的药用植物,它以果实和种子入药,具有清热解毒、消痈散结等功效。连翘是中医临床上最常用的中药之一,药用历史悠久,目前全国有30%左右的连翘产于泽州,是山西的地道药材。近年来随着连翘GAP基地的建设,急需大量优质连翘种苗,而采用常规的扦插和分株法,繁殖速度慢,且容易积累病毒,难以保证苗木的数量和质量,势必影响连翘GAP基地的建设。为解决这一矛盾,充分发挥山西药材的优势,所以进行了连翘的组织培养研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

选取连翘春季萌发抽生的新梢作为试验材料。

1.2 方 法

将所取试材剪成长3 cm左右的带芽茎段,置于三角瓶中,先用少许洗衣粉水浸洗2 min~3 min,然后用自来水冲洗到没泡沫为止,置于超净工作台上,用0.1% HgCl₂消毒8 min,用无菌水清洗5次~6次,用无菌滤纸吸干水分,剪成长1 cm~2 cm的单芽茎段,接种在芽启动培养基上,待芽长到2 cm~3 cm时转接,并进行分化、生根培养基的筛选,最后进行移栽试验。

启动培养基的成分:MS,BA(0.5,1.0) mg/L,NAA(0.05,0.1)mg/L,蔗糖:30 g/L,琼脂:6.5 g/L,pH值5.8。

[8] Gordon C M, Holbrey J D, Kennedy A R, et al. Ionic Liquid Crystals Hexafluorophosphate Salts [J]. Mater Chem., 1998, 12:2627-2636.

[9] 王晓红.PDS脱硫与栲胶脱硫工艺比较及栲胶工艺的优化 [D].太原:太原理工大学,2004: 35-40.

[10] 俞宏伟.我公司栲胶脱硫装置稳定低耗原因分析[J].中氮肥,2005(4):20-21.

[11] 李静,王栋,朱延美.表面活性剂环境模拟水中电导率的温度响应特性[J].辽宁化工,2004,33(4):193-197.

[12] Karol M S.A method of calculations of the parameters in the Vogel-

分化培养基:以MS作为基本培养基,细胞分裂素为BA(1.0,1.5),生长素有NAA(0.1,0.2,0.3)和IBA(0.1,0.2,0.3),激素单位为mg/L,组成不同激素组合,每组合重复5次。培养基中均加入蔗糖30 g/L、琼脂6.5 g/L,pH值为5.8。

生根培养基的筛选:以1/2 MS为基本培养基,加入蔗糖30 g/L、琼脂6.5 g/L,激素为IBA(0.1,0.2)和IAA(0.1,0.2,0.3)各浓度组合,激素单位为mg/L,pH值5.8。

培养条件:光照强度为2 000 Lx,光照时间为每天12 h,温度为23 ℃~25 ℃。

试管苗的驯化与移栽:将无根试管苗插入生根培养基,出现根原基后,移入调控温室,边生根边驯化,由培养室的恒温培养逐渐过渡到温室的变温培养。利用散射光照驯化,逐步增加光照强度。生根后闭瓶炼苗20天,当试管苗根长约2 cm~3 cm、茎干微呈红色、叶片大而浓绿时,开口炼苗3天,然后用镊子夹出试管苗,清洗根部培养基,移入10 cm×10 cm营养钵中进行移栽试验,栽植基质配比为,草炭土:珍珠岩:蛭石=1:1:1。

2 结果与分析

2.1 腋芽的诱导

将无菌材料接种到MS并附加BA和NAA不同浓度组合的启动培

Tammann-Fulcher's Equation: an application to the porcine serum albumin aqueous solutions [J].Current Topics in Biophysics,2003,27(1): 17-21.

[13] 华南平.ISS脱硫催化剂研制报告[J].煤化工,2004,32(6):51-55.

[14] 姚洪军,罗晓芳,田砚亭.植物组织培养外植体褐变的研究进展[J].北京林业大学学报,1999,3(3):78-83.

(责任编辑:邵曰剑)

第一作者简介:程雪松,女,1967年6月生,现为太原理工大学化学化工学院2004级在读硕士研究生,山西省太原市,030024.

The Measurement of the Electric Conductivity of the Oxidized Tannin Extract Solution

CHENG Xue-song, LING Kai-cheng, NIU Yan-xia

ABSTRACT: This paper determines the electrical conductivity of oxidized tannin extract solution with the electric conductivity, he results of which show that the oxidized tannin extract solution possesses the features of the ionic polymer solution, determines the electric conductivities of the oxidized tannin extract solution with different contractions in the temperature scope from 293 K to 343 K, discusses on that the electric conductivities submit to VTF Equation in the temperature scope from 293 K to 343 K, and by using the relationship between the electric conductivity and the temperature, estimates the conductive activation energy of the Oxidized Tannin Extract Solution.

KEY WORDS: electric conductivity; oxidized tannin extract; critical micelle concentration; VTF Equation; conductive activation energy

培养基上进行培养。实验结果表明,以 MS+BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L 这一组合的培养基为最合适,接种 1 星期后,腋芽开始萌发,25 天后长至 3 cm 左右,将其切下进行继代培养。

2.2 不同浓度 BA 和 NAA 组合对培养效果的影响

将连翘试管苗接种到不同浓度 BA 和 NAA 组合的分化培养基上,置于培养室进行培养,25 天后记录分化系数(指一个外殖体经一代培养后形成的新苗数)、平均新梢长和试管苗生长情况,结果见表 1。

表 1 不同浓度 BA 和 NAA 组合对连翘试管苗培养效果的影响

处理/(mg/L)	分化系数	新梢长/cm	生长表现
BA 1.0 + NAA 0.1	5.0	4.0	苗较细弱
BA 1.0 + NAA 0.2	5.1	4.3	生长较正常化
BA 1.0 + NAA 0.3	5.4	4.5	健壮,生长正常
BA 1.5 + NAA 0.1	5.7	3.1	锥形枝,畸形枝较多
BA 1.5 + NAA 0.2	6.1	3.5	畸形枝较多,基部少量愈伤化
BA 1.5 + NAA 0.3	6.6	2.5	苗细弱,畸形枝多,基部愈伤化

表 1 试验结果表明,BA 和 NAA 不同浓度组合对分化系数及其生长量有很大影响,芽的增殖和嫩梢的增长不仅仅取决于 BA 和 NAA 的绝对量,而且取决于二者的相对比例。就本试验所涉及的浓度范围而言,在 BA 和 NAA 组合中,高浓度的 BA 比低浓度的 BA 更有利于芽的增殖,且在 BA 浓度一定时,连翘试管苗的分化系数随 NAA 浓度的增加而增加,以 BA 1.5 mg/L + NAA 0.3 mg/L 这一组合的分化系数最大,为 6.6。但是高浓度的 BA 不利于连翘试管苗新梢的生长,在分化系数最大时,试管苗的生长量表现最小,且植株细弱,畸形枝现象严重,基部产生大量愈伤组织;当 BA 的浓度较低时,连翘试管苗的生长量随 NAA 浓度的增加而增加。综观连翘试管苗的分化系数与生长量,以 BA 1.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L 这一组合最好,即 BA 与 NAA 的浓度比例以 10:3 为宜。

2.3 不同浓度 BA 和 IBA 组合对培养效果的影响

同样将连翘试管苗接种到不同浓度 BA 和 IBA 组合的分化培养基上,25 天后记录分化系数、平均新梢长和试管苗生长情况,结果见表 2。

表 2 不同浓度 BA 和 IBA 对比对连翘试管苗分化和生长的影响

处理/(mg/L)	分化系数	新梢长/cm	生长表现
BA 1.0 + IBA 0.1	4.1	2.8	生长较正常,基部愈伤化严重
BA 1.0 + IBA 0.2	3.9	3.7	生长正常,基部少量愈化
BA 1.0 + IBA 0.3	4.3	4.1	较健壮,生长正常
BA 1.5 + IBA 0.1	4.5	4.0	健壮,生长较正常,基部少量愈伤
BA 1.5 + IBA 0.2	5.1	4.8	健壮,生长正常
BA 1.5 + IBA 0.3	4.2	4.6	健壮,生长较正常

表 2 结果显示,BA 和 IBA 组合中,当 BA 浓度为 1.0 mg/L 时,IBA 不同浓度对试管苗的分化系数影响不大,但对试管苗的生长量影响较大;随着 IBA 浓度的增加,试管苗的生长量有递增的趋势。结果同样表明,高浓度的 BA 更有利于连翘试管苗的分化,而且当 BA 的浓度为 1.5 mg/L 时,与不同浓度的 IBA 组合,试管苗的生长量均较 BA 浓度为 1.0 mg/L 时要高。综合考虑连翘试管苗的分化系数与生长量,以 BA 1.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L 为最佳激素浓度组合。

2.4 不同浓度 IBA 和 IAA 组合对试管苗生根的影响

选取生长健壮、整齐一致的连翘无根试管苗,接入 IBA 和 IAA 不同浓度组合的生根培养基,放入培养室进行培养,20 天后观察试管苗的生根率、单株根数、生根天数和平均根长,观察结果见表 3。

表 3 不同浓度 IBA 和 IAA 对比对试管苗生根的影响

处理/(mg/L)	生根率/%	单株根数/个	生根天数/天	平均根长/cm
IBA0.1 + IAA 0.1	45.1	4.1	11	1.1
IBA0.1 + IAA 0.2	76.2	5.7	10	1.2
IBA0.1 + IAA 0.3	94.6	5.9	9	1.7
IBA0.2 + IAA 0.1	38.4	1.7	11	1.5
IBA0.2 + IAA 0.2	79.2	4.0	10	1.3
IBA0.2 + IAA 0.3	59.5	3.1	10	1.6

表 3 结果表明,在低浓度 IBA 的组合中,随 IAA 浓度的增加,生根率、单株根数和平均根长逐渐提高,而生根天数逐渐缩短;在高浓度 IBA 的组合中,随着 IAA 浓度增加,根部愈伤组织较大,所生根直接生在愈伤组织上,不利于试管苗移栽成活。综合考虑生根情况,以 1/2 MS+IBA 0.1 mg/L+IAA 0.3 mg/L+30 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂,pH 值 5.8 时生根率最高,达 94.6%,且株均生根条数最多,根系最长,生根时间最短。

2.5 试管苗移栽

将经过炼苗的生根试管苗用镊子轻轻夹出,并用清水洗净根部附着的琼脂,在温度为 25℃,相对湿度 75%~80%的条件下,移至已配好栽植基质的营养钵中,用 0.1% 多菌灵消毒后,浇透水,注意保温、保湿、遮阴和定时通风,约 7 天后长出新根;逐渐增加光强,15 天后成活率达 93.8%,30 天后待长出 3 片~4 片真叶时,即可移入大田中栽植,培养健壮苗木。

3 结语

在 BA 和 NAA 不同浓度组合试验中,以 BA 1.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L 为最佳分化培养基激素组合,试管苗生长正常,平均分化系数为 5.4,新梢平均生长量为 4.5 cm;在 BA 和 IBA 不同浓度组合试验中,以 BA 1.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L 为最佳分化培养基激素组合,试管苗生长健壮,平均分化系数为 5.1,新梢平均生长量为 4.8 cm。综合考虑分化、生长效果,相比之下,后者更有利于连翘试管苗的增殖与生长,所以 MS+BA 1.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L+30 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂,pH 值 5.8 是连翘试管苗生长、分化较为理想的培养基。栽入大田的连翘组培苗,经过培养观察,与营养繁殖苗形态特征无显著差异,但长势明显高于营养繁殖苗,所以可以通过组织培养大量生产优质连翘种苗。至于组培苗产出的药材连翘其连翘苷等内在药效成分是否与营养繁殖苗有差异,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 《全国中草药汇编》编写组.全国中草药汇编(上册)[M].北京:人民卫生出版社,1975:420.
- [2] 徐国钧.常用中药材品种整理和质量研究[M].福州:福建科学技术出版社,1994:722-744.
- [3] 刘国民.药用植物离体培养与试管快繁[M].兰州:科学技术出版社,1999:264-281.
- [4] 胡建刚.黑树莓的试管繁殖[J].植物生理学通讯,1994(30):356.
- [5] 巢建国,谷巍,张瑜,等.应用组织培养法对半夏快速繁殖的研究[J].中南药学,2005,3(5):264-265.

(责任编辑:戚米莎)

第一作者简介:刘计权,男,1972 年 11 月生,1999 年毕业于山西农业大学(硕士),工程师,山西中医学院中药系,山西省太原市晋祠路 89 号,030024.

Research on the Tissue Culturing of Forsythia Suspensa (Thunb.) Vahl

LIU Ji-quan

ABSTRACT: Through tissue culture, this paper introduces to the methods for culturing Forsythia suspensa (Thunb.) Vahl, analyzes on the results, and probes into the influences of different conditions on the results of the culturing.

KEY WORDS: Forsythia suspensa (Thunb.) Vahl; tissue culturing; propagation