

# 太子参不定根诱导及增殖培养研究

梁玉勇<sup>1</sup>, 廖玲<sup>1</sup>, 左北梅<sup>2</sup>, 高文远<sup>2,3</sup>

(1. 铜仁职业技术学院, 贵州 铜仁 554300; 2. 天津科技大学, 天津 300457; 3. 天津大学, 天津 300000)

**摘要:**以太子参无菌苗为外植体, 诱导获得不定根后对不同种类和不同质量浓度的生长素进行优化试验, 并对太子参不定根增殖生长培养进行了研究。结果表明: 诱导其不定根生长最适宜的培养基为 MS+3.0 mg/L IBA+0.5 mg/L KT+0.2 mg/L NAA; 在不定根离体增殖培养方式中, 500 mL 三角瓶液体震荡培养增殖倍数最大, 高达 75.90 倍; 5 L 鼓泡式反应器培养净增长量最大, 高达 141.56 g。

**关键词:**太子参; 不定根; 诱导; 增殖培养

**中图分类号:**S 567.5<sup>+</sup>3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)02-0147-03

太子参 [*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax] 为石竹科多年生草本植物异叶假繁缕的块根, 又名孩儿参、童参, 多分布于华东、华北、华中、东北和西北等地。其块根含有皂苷、多糖、氨基酸等活性物质。其性味甘、微苦、平, 归脾、肺经。还具有益气健脾, 生津润肺的功能。主要用于脾虚食少、倦怠乏力、心悸自汗、肺虚咳嗽、津亏口渴等症<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明其有抗疲劳、抗应激作用, 并有促进免疫作用及延长寿命之功能<sup>[2]</sup>, 其中太子参皂苷还具有抗病毒作用<sup>[3]</sup>, 在治疗肝炎、糖尿病、冠心病、心绞痛、继发性再生障碍性贫血、白细胞减少症、甲亢、淋巴结核等难治病症方面取得了新的进展, 市场需求量剧增。由于长期以种根进行无性繁殖致使太子参病毒病近年来普遍发生且病情日趋严重, 太子参种植单产逐年降低, 2011 年贵州施秉太子参产地商品价格每公斤高达 350 元。目前利用生物技术进行中药资源繁殖并大规模生产其有效成分已成为一条新的发展途径, 但药用植物细胞培养的弊端之一是有效成分的含量不稳定, 这主要是由于大多数有效成分均为次生代

谢产物, 其合成在细胞阶段表现不强造成的, 而不定根培养可以解决这一问题<sup>[4]</sup>。该试验旨在利用组织培养技术快速获得太子参的不定根, 为进一步大规模生产其有效成分和研究太子参有效成分的代谢途径建立技术平台。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

太子参 [*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax] 种根取自贵州省铜仁职业技术学院药用植物标本园, 由顾昌华教授鉴定并提供。

HPG-280B 光照培养箱 (哈尔滨东联电子技术开发有限公司); HNY-82 型摇床 (天津市欧诺仪器仪表有限公司); METTLER TOLEDO Delta 320 pH 计 (上海梅特勒-托利多仪器公司)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 太子参无菌苗的培养 2011 年 11 月将太子参种根种于试验地, 2012 年 4 月太子参种根长出幼苗。剪下其茎叶, 用洗衣粉水清洗, 用自来水流水冲洗 3~5 h 后用 75% 酒精消毒 60 s, 再用 0.2% 的升汞次氯酸钠浸泡 7~10 min, 用无菌水冲洗 2~3 遍, 备用。将消毒好的太子参材料接种于 1/2MS 培养基中, 每瓶接种 3 个外植体, 置于温度为 (25±2)℃ 光照强度 1 000~1 500 lx、每天连续光照 14 h 的环境下培养。

**第一作者简介:**梁玉勇 (1966-), 男, 副教授, 现主要从事药用植物教学与科研工作。

**基金项目:**教育部青年骨干教师访学基金资助项目 (武汉中心函 [2011]4 号)。

**收稿日期:**2012-10-15

切成数段, 每段厚 9~11 cm。当晾晒至大黄切口出收缩并出现油状黄白色水珠颗粒时, 即可上棚或进烘房烘干。阴干将整形的大黄用麻绳串起, 挂在室内或屋檐下通风阴干, 切忌雨淋, 100~150 d 即成干品。烘干时将晾晒整形的大黄放入烘房或烘箱, 单层摆放, 厚约 10 cm, 加温烘干。为使大黄体受热均匀, 1 d 翻动 1 次, 温度保

持在 45~50℃, 保持 7~10 d, 直到大黄切口处的油状物消失后, 再升温至 55~58℃, 烘制 20~30 d 即成干品。室内温度不可超过 60℃, 烘烤几天后, 当皮部显干时, 要停火降温, 让其发汗回潮, 然后再烘, 如此反复几次直至全干。干后装于木箱或撞药设备内冲撞, 撞去粗皮, 露出黄色即可。

1.2.2 不同植物生长调节剂浓度对不定根诱导和生长的影响 分别将根和茎节切成0.5 cm左右的小段,将叶切成0.5 cm<sup>2</sup>左右的小块。然后将切好后的根、叶片、茎节放置MS+IBA 3.0 mg/L+KT 0.5 mg/L+0.1 mg/L NAA的不定根诱导培养基上,培养30 d后统计诱导率和不定根收获量,将从外植体上剥离下来的不定根转至新的培养基上继续培养。为了研究IBA和KT及NAA对太子参不定根的诱导和生长量的影响,取叶片(0.5 cm<sup>2</sup>)分别接种于4种培养基上,20 d后统计不定根生长情况。

以MS培养基为基本培养基,不同诱导培养基中的植物生长调节剂浓度见表1。所有培养基中的蔗糖含量为30 g/L,琼脂含量为6.5 g/L,pH 5.9。培养基在121℃灭菌20 min。培养温度为25℃。

表1 不同诱导培养基中植物生长调节剂浓度

培养基编号	IBA	KT	NAA
1	0	0	0.2
2	1.0	0.5	0.2
3	3.0	0.5	0.2
4	5.0	0	0

1.2.3 不同外植体对不定根诱导的影响 为了确定太子参不定根的最佳诱导部位,分别将根、叶片、茎节接种于MS+3.0 mg/L IBA+0.5 mg/L KT+0.2 mg/L NAA培养基上,30 d后统计不定根生长的情况。

1.2.4 不同培养方式对不定根生长的影响 为了确定太子参不定根培养方式,将从外植体诱导出的不定根分别按0.1%的接种量转移到培养皿、三角瓶和鼓泡式反应器容器里,采用MS+3.0 mg/L IBA+0.5 mg/L KT+0.1 mg/L NAA培养基配方,培养皿和100 mL三角瓶为固体培养基,250、500、1 000 mL三角瓶为液体摇瓶培养,3、5 L鼓泡式反应器为鱼泵供气培养。30 d后统计不定根生长的情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 太子参无菌苗的利用

太子参外植体接入1/2MS培养基后,经过30 d培养可以长出5~7 cm高的植株,才能用于不定根诱导和培养的繁殖材料,过早过迟不利于不定根的诱导和生长(图1~2)。

### 2.2 不同植物生长调节剂浓度对不定根诱导和生长的影响

从表2可以看出,接种于0.2 mg/L NAA的MS培养基(1号)中的叶片不形成不定根;接种于1.0 mg/L IBA+0.5 mg/L KT+0.2 mg/L NAA的MS培养基(2号)中的叶片形成不定根的启动时间较慢,比3号和4号

慢4~5 d;接种于3.0 mg/L IBA+0.5 mg/L KT+0.2 mg/L NAA(3号)培养基中的叶片形成不定根的启动时间较快,比2号快4~5 d,其中3号培养基形成的不定根呈浓密白毛状,生长速率快,且诱导率较高,为75%,而4号培养基的不定根稀疏,生长速率不如2号和3号培养基,这与KT(细胞分裂素)和NAA(生长素)植物调节作用有关。

表2 不同植物生长调节剂浓度对太子参不定根诱导和生长的影响

培养基编号	外植体个数	不定根数	不定根诱导率/%	启动时间/d	不定根生长状态
1	200	0	0	—	无生长
2	200	82	41	10	生长缓慢、稀疏
3	200	150	75	4	生长旺盛、浓密
4	200	142	71	6	生长缓慢、稀疏

### 2.3 不同外植体对不定根诱导的影响

由表3可知,3种外植体中根的不定根诱导率均为100%,且生长较旺盛。叶片、茎节诱导不定根虽然启动较慢,长势弱于根,但诱导率也较高,分别为75%和86%。

表3 不同外植体对太子参不定根诱导和生长的影响

外植体	外植体数	不定根数	不定根诱导率/%	启动时间/d	不定根生长状态
根	100	100	100	4	全部长出不定根
叶片	100	75	75	7	局部叶片长出不定根
茎节	100	86	86	11	部分长出不定根,长出茎叶

### 2.4 不同培养方式对不定根生长的影响

由表4可知,三角瓶的摇瓶培养增长倍数最大,250、500、1 000 mL三角瓶分别为61.00、75.90和45.90。500 mL三角瓶不定根培养,不定根生长快(周期为25 d),净增长倍数大;其次是鼓泡式反应器增长,3、5 L鼓泡式反应器分别为46.10和47.18,5 L鼓泡式反应器不定根培养,不定根生长快(周期为30 d),净增长倍数大;培养皿和100 mL三角瓶固体培养最差,分别为3.50和11.60(图3~6)。图4表明100 mL三角瓶50 mL固体培养不定根生长旺盛、浓密。

表4 不同培养方式对太子参不定根生长的影响

培养方式	培养基/mL	培养基	接种量/g	收获量/g	净增长量/g	净增长倍数	生长情况
培养皿	50	固体	0.10	0.45	0.35	3.50	生长缓慢、稀疏
100 mL三角瓶	50	固体	0.10	1.26	1.16	11.60	生长旺盛、浓密
250 mL三角瓶	100	液体	0.20	12.42	12.22	61.00	生长快、净增长量高
500 mL三角瓶	200	液体	0.40	30.76	30.36	75.90	生长快、净增长量高
1 000 mL三角瓶	400	液体	0.80	37.52	36.72	45.90	生长快、净增长量高
3 L鼓泡式反应器	2 000	液体	2.00	96.20	92.20	46.10	生长快、净增长量高
5 L鼓泡式反应器	3 000	液体	6.00	147.56	141.56	47.18	生长快、净增长量高



图1 太子参苗



图2 太子参无茵苗

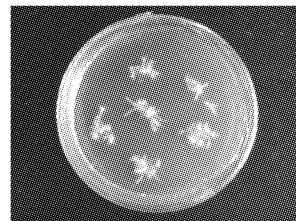


图3 培养皿根的不定根诱导



图4 三角瓶根的不定根诱导



图5 三角瓶不定根培养

图6 5 L 鼓泡式反应器  
不定根培养

### 3 结论

该方法将太子参叶片、茎节、根诱导和继代稳定培养相结合,且采用相同的培养基,具有操作简便、周期短、见效快的优点。太子参不定根诱导培养的合理方案应为:太子参无茵苗开花后,以 $0.5\text{ cm}^2$ 的叶片或 $1\text{ cm}$ 长的根为外植体接种在 $\text{MS}+3.0\text{ mg/L IBA}+0.5\text{ mg/L KT}+0.2\text{ mg/L NAA}$ 的培养基上诱导并培养太子参的不定根,在 $20\text{ d}$ 左右进行继代培养。不定根离体增殖培养过程中, $500\text{ mL}$ 三角瓶液体震荡培养增殖倍数最大,高达 $75.90$ 倍; $5\text{ L}$ 鼓泡式反应器培养净增长量最大,高达 $141.56\text{ g}$ 。在该研究中从利用外植体诱导到获得可离体生长的不定根,大约需要 $50\text{ d}$ ,其中太子参不定根鼓

泡式反应器培养的成功为太子参工厂化开发生物药物及其产业化生产提供依据。

### 参考文献

- [1] 凌一揆,颜正华. 中药学[M]. 北京:上海科学技术出版社,1984:211.
- [2] Liu X H, Chen B, Wang Y X. Preliminary studies on pharmacological action of total saponins from *Radix Pseudostellariae*[J]. Jiangsu Phar Clin Resea, 2000, 8(3): 6-8.
- [3] Wang Z X, Xu S X, Zhang G G, et al. Studies on chemical constituents of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax (IV)[J]. J Chin Medi Chem, 1992, 2(3): 65-67.
- [4] 肖尊安,熊红. 不定根发生机理的研究进展[J]. 生物技术通报, 2002 (3): 31.

## Study on Adventitious Roots Induction and Proliferation Culture of *Pseudostellaria heterophylla*

LIANG Yu-yong<sup>1</sup>, LIAO Ling<sup>1</sup>, ZUO Bei-mei<sup>2</sup>, GAO Wen-yuan<sup>2,3</sup>

(1. Tongren Polytechnic, Tongren, Guizhou 554300; 2. Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457; 3. Tianjin University, Tianjin 300000)

**Abstract:** Taking *Pseudostellaria heterophylla* seedling as materials, different kinds and different concentrations of auxin were optimized after inducing adventitious roots, and the adventitious roots induction and proliferation culture of *Pseudostellaria heterophylla* were studied. The results showed that the best media for adventitious roots induction was  $\text{MS}+3.0\text{ mg/L IBA}+0.5\text{ mg/L KT}+0.2\text{ mg/L NAA}$ ; in the process of adventitious roots induction,  $500\text{ mL}$  erlemeyer flask shake culture had the most proliferation multiple, with  $75.90$ ;  $5\text{ L}$  bubble reactor for more oxygen value-added had the best effect on the growth of adventitious roots, and could reach  $141.50\text{ g}$ .

**Key words:** *Pseudostellaria heterophylla*; adventitious roots; induction; proliferation culture