

栝楼的组培快繁技术研究

杨晓伶¹, 金关荣², 杨端鹏¹, 李 珊¹, 朱云国¹

(1. 同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092; 2. 浙江省农科院花卉研究开发中心, 浙江杭州 311202)

摘要 目的: 探讨栝楼组织培养及种苗快速繁殖技术。方法: 通过茎尖、带芽茎段、茎段和叶片诱导丛生芽及愈伤组织。结果: 栝楼2年生块茎幼苗的茎尖和带芽茎段在 MS+2 mg/L BA+0.5~0.05 mg/L NAA 培养基上可诱导丛生芽, 并在生根培养基 MS+0.1 mg/L NAA+0.2 mg/L IBA 中生根, 经驯化移栽可实现快速繁殖。无芽茎段和叶片用含 4 mg/L BA 和 0.5 mg/L NAA 的 MS 培养基可诱导愈伤组织, 由茎段来的愈伤组织经 6 周后分化为无根苗。结论: 栝楼茎尖和带芽茎段的组织培养, 可在短期内大量繁殖栝楼雌雄种苗, 具有成本低, 效益高的特点。

关键词 栝楼; 组培; 快速无性繁殖

中图分类号: R282.2 **文献标识码**: A **文章编号**: 1001-4454(2006)11-1129-02

葫芦科栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 为多年生草质藤本, 根、果实、果皮、种子均可入药。栝楼子香气浓郁, 风味独特, 可食率达 60%, 且富含大量人体必需的氨基酸、脂肪酸、维生素及多种微量元素, 有较高的营养价值^[1]。目前在长三角地区尤其是江浙等地已广泛种植, 仅浙江省长兴县 2005 年的种植面积就近 10 万亩。

栝楼为雌雄异株, 开花前无明显的形态差异, 难以分辨。栝楼栽培雌雄植株的合理配比为 10:1 左右, 而种子繁殖的幼苗, 雌雄比例约为 3:7, 直接影响产量和经济效益。栝楼组培快繁研究已有报道, 但尚未建立完整的培养技术^[2-6]。本研究通过雌雄株组织培养研究, 以期解决雌株比例低的问题, 并探讨外源激素对栝楼组培的影响。

1 材料和方法

以栝楼试管苗及 2 年生块根幼苗为供试材料。选取茎尖、带芽茎段作为芽诱导的外植体; 选取茎段、叶片作为愈伤组织诱导的外植体。

外植体接种: 当试管苗长至 5 cm、块根幼苗长至 10 cm 时, 分别取茎尖、带芽茎段、茎段和叶片用清水洗净, 灭菌后于超净台内接种。

培养基及培养条件: 茎尖、带芽茎段、茎段和叶片等外植体的培养基组成见表 1。培养温度为 25℃, 每日光照 12 h, 光照强度 2000~3000 lux。每两周继代培养 1 次。

2 结果与分析

2.1 试管苗培养 栝楼胚培养的发芽率低, 用培养箱作种子的萌芽实验, 去外种皮组 20 天后萌芽率仅 40%-50%, 去内种皮组 20 天后萌发率可达 80% 以上。萌芽后灭菌接种于 MS 培养基, 待试管苗长至 5 cm 左右即可用于组培。

2.2 诱导、增殖条件的选择与优化

2.2.1 茎尖和带芽茎段诱导丛生芽: 茎尖和带芽

表 1 栝楼组织培养的 MS 培养基组成 (3% 蔗糖, 0.7% 琼脂)

	BA (mg/L)	NAA (mg/L)	GA (mg/L)	IBA (mg/L)
丛生芽诱导与增殖	4	0.5		
	2	0.5		
	2	0.2		
	2	0.1		
	2	0.05		
愈伤组织诱导与分化	4	0.5		
	2	0.5		
	2	0.1		
生根诱导与培养		0.1		
		0.1		0.2
		0.5	1.0	

茎段在含 2 mg/L BA 和 0.5~0.05 mg/L NAA 的 MS 培养基中均诱导出芽及丛生芽, 芽基部伴有愈伤组织出现。随着添加 NAA 浓度降低, 芽基部愈伤组织小, 生长速度却变快; 而高浓度 NAA 则出现生长矮化。丛生芽继代培养增殖培养基, 经过优化的确定为 MS+2 mg/L BA+0.05 mg/L NAA。

2.2.2 茎段和叶片诱导愈伤组织: 栝楼茎段在含 4 mg/L BA 和 0.5 mg/L NAA 的 MS 培养基中培养 13 天后可见茎段两端切面形成明显愈伤组织, 进一步选用含 2 mg/L BA 和 0.5 mg/L NAA 的 MS 培养基继代培养 6 周后诱导出不定芽并及无根苗。其它培养基对茎段诱导效果不明显。栝楼叶片在含 2 mg/L BA 和 0.5 mg/L NAA 的 MS 培养基中可诱导出愈伤组织, 但经继代培养后褐化严重, 加入活性炭效果亦不明显。

2.3 生根诱导及培养 当芽和丛生芽伸长至 3 cm 以上时, 将丛生芽切分为单芽转至生根培养基 (表 1), 三种生根培养基都能不同程度地诱导出根, 其

中添加 0.1 mg/L NAA 和 0.2 mg/L IBA 的 MS 培养基诱导率达 100%, 组培苗生长状况也较其它两组健壮(表 2, 图 1)。生根培养 4 周后经炼苗移栽于温室(图 2)。

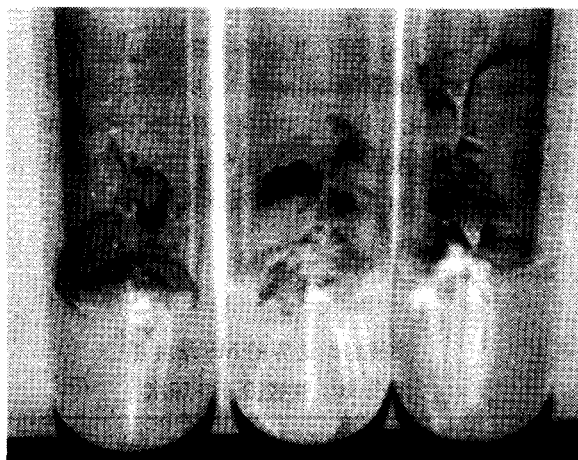


图 1 组培苗生长状况

MS 培养基添加外源激素: (左) 0.1 mg/L NAA; (中) 0.5 mg/L NAA + 1.0 mg/L GA; (右) 0.1 mg/L NAA + 0.2 mg/L IBA



图 2 栝楼再生植株

表 2 添加不同外源激素的 MS 培养基对栝楼生根诱导的影响

添加激素 (mg/L)	根数	根长 (cm)	苗高 (cm)	叶片数	诱导率 (%)
NAA 0.1	6.10	2.69	4.57	5.70	80
NAA 0.1, IBA 0.2	7.56	2.68	5.34	7.44	100
NAA 0.5, GA 1.0	17.0	2.17	3.91	6.00	75

3 结论

栝楼的种苗快速繁殖, 宜采用多年生块根萌生幼苗的带芽茎段诱导丛生芽, 适合的诱导培养基为 MS + BA 2 mg/L + NAA 0.05 mg/L; 2~3 周后用相同培养基继代培养; 当丛生芽伸长至 3 cm 以上时, 将丛生芽切分为单芽转至生根培养基 MS + 0.1 mg/L NAA + 0.2 mg/L IBA, 4 周后经驯化移栽即可育成幼苗。全程 16~20 周即可完成快速繁殖, 并大量及定向繁殖栝楼雌雄种苗, 提高种植栝楼的产量和经济效益。

参 考 文 献

- [1] 杨廷桢, 高敬东, 杨明霞, 等. 栝楼的经济价值及栽培技术要点. 甘肃农业科技, 2003, 10: 48-49.
- [2] 刘志强, 童恩预. 栝楼的快速繁殖研究(1). 河南师范大学学报(自然科学版), 1992, 20(4): 130.
- [3] 佟宏霞, 李喜文. 栝楼组织培养和植株再生研究. 中国中药杂志, 1996, 21(12): 721-722.
- [4] 曹孟德, 陈辉, 王君健. 栝楼的快速繁殖及愈伤组织的诱导. 生物技术, 1996, 6(4): 15-17.
- [5] 郑树松, 苑华毅, 王莉江, 等. 药用植物栝楼的组织培养及其表达蛋白的分析. 生物工程学报, 2001, 17(4): 420-422.
- [6] 尹艺林, 吴永超. 栝楼的组织培养研究. 皖西学院学报, 2005, 21(2): 56-58.

(2006-04-10 收稿)

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Trichosanthes kirilowii*

YANG Xiao-ling¹, JIN Guan-rong², YANG Duan-peng¹, LI Shan¹, ZHU Yun-guo¹

(1. School of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Research & Development Centre of Flower, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 311202, China)

Abstract Objective: To study tissue culture of *Trichosanthes kirilowii*, and establish the technique of rapid propagation. Methods: Cluster buds were induced from stem tip and stem with axillary bud, calluses were induced from stems and leaves. Results: Cluster buds could be induced on both the bud and axillary bud from 2-years-old tuber of *Trichosanthes kirilowii* with MS medium containing 2 mg/L BA and 0.5~0.05 mg/L NAA. The roots could be induced with MS + 0.1 mg/L NAA + 0.2 mg/L IBA. The seedling with roots could be transplanted after domestication, and achieved the rapid seedling propagation. Calluses could be induced from the stems and leaves with MS + 4 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA, and the calluses then could be differentiated into seedlings without root. Conclusion: The male and female seedlings of *Trichosanthes kirilowii* can be propagated largely using stem tip or axillary bud in short period. The technique of rapid propagation on *Trichosanthes kirilowii* have a high benefit and low costs.

Key words *Trichosanthes kirilowii* Maxim.; Tissue culture; Rapid propagation