

## 栝楼的组织培养与快速繁殖

兰伟, 蔡健, 朱茂英, 王伟

(安徽阜阳师范学院生物系, 安徽 阜阳 236041)

**Tissue culture and rapid propagation of *Trichosanthes kirilowii* Maxim.** LAN Wei, CAI Jian, ZHU Mao-ying, WANG Wei (Department of biology, Fuyang Normal College, Fuyang 236041, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, 15(4): 73-74

**Abstract:** Tissue culture and rapid propagation of shoot tips and stem segments of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. were investigated. The results showed that better medium for inducing and multiplication of callus was MS medium containing  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA and  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA. Suitable medium for inducing tufted-buds was MS medium containing  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA and  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA. The best medium for rooting was MS medium containing  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA, with a rooting rate of 100%.

**关键词:** 栝楼; 组织培养; 快速繁殖

**Key words:** *Trichosanthes kirilowii* Maxim.; tissue culture; rapid propagation

**中图分类号:** Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2006)04-0073-02

栝楼(*Trichosanthes kirilowii* Maxim.), 也称瓜楼、药瓜、吊瓜等, 为葫芦科栝楼属(*Trichosanthes* L.) 多年生攀援植物。栝楼根、茎、叶、瓜皮及种子均具有一定的药用价值, 其籽是炒货中的佳品。由于栝楼野生资源有限且遭严重破坏, 尽管各地有少量引种栽培, 但其产量却远不能满足市场需求, 因此, 对栝楼进行组织培养与快速繁殖具有重要意义。目前, 仅有以栝楼腋芽为材料进行组织培养的研究报道<sup>[1,2]</sup>。作者以栝楼的茎尖、茎切段和幼叶为外植体进行组织培养, 通过对不同培养基的筛选和优化, 初步建立了栝楼组织培养的快速繁殖体系, 并获得了大量优良品种的无菌苗, 为扩大生产提供了保障。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

实验用栝楼来源于阜阳市程集镇引种的野生栝楼种子, 以在室内播种得到的当年实生幼苗为实验材料。

#### 1.2 培养方法

**1.2.1 无菌外植体的获得** 选取带顶芽的栝楼嫩茎, 流水冲洗 2 min 后, 先用 70% 乙醇浸泡 20 s, 再用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  浸泡 8~10 min, 最后用无菌水冲洗 5~6 次, 置于无菌纱布中吸干水分, 待用。

**1.2.2 愈伤组织诱导及增殖培养基的筛选** 将消毒好的茎尖(0.05 cm)、茎切段(0.3 cm)及幼叶小方块(边长 0.3 cm)作为外植体接种到含  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 及 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 和  $0.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA、3% 白砂糖和 0.7% 琼脂的 MS 培养基(pH 5.8)中, 于 25.5 °C、光照强度 2 000 lx、光照时间 12 h·d<sup>-1</sup> 的条件下进行愈伤组织诱导培养。

**1.2.3 丛生芽诱导培养基的筛选** 将带有芽点的愈伤组织分割成边长为 0.5 cm 的小块, 分别接种到以 MS 为基本培

培养基, 添加  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 及 2.0、3.0、4.0、5.0 和  $6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA、3% 白砂糖及 0.7% 琼脂的丛生芽诱导培养基(pH 5.8)上, 每处理接种愈伤组织 15 块, 按上述培养条件培养, 观察丛生芽的诱导及分化状况。

**1.2.4 生根培养基的筛选** 将 2~3 cm 长的不定芽单个切下, 接入以 MS 为基本培养基, 分别添加 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 和  $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA、3% 白砂糖及 0.7% 琼脂的生根培养基(pH 5.8)中, 每处理接种不定芽 20 个, 于 25.5 °C、光照强度 2 000 lx, 黑暗处理 7 d 后, 置于光照 12 h·d<sup>-1</sup> 的条件下培养, 20 d 后统计生根情况。

**1.2.5 炼苗与移栽** 打开瓶盖炼苗 7 d 后, 先将幼苗取出, 洗去附着在根上的培养基, 再将洗净的幼苗植入 V(蛭石): V(腐殖土) = 1:3 的混合基质中。2 d 浇水 1 次, 每隔 15 d 喷施 1/2 MS 大量及微量元素混合液 1 次, 15~20 d 后, 可将长势良好的幼苗移植到苗圃中。30 d 后, 以形成直径 0.5 cm 的块根为标准, 统计移栽成活率。

### 2 结果和分析

#### 2.1 不同浓度 NAA 对栝楼愈伤组织诱导及增殖的影响

栝楼外植体接种在添加了  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 和一定浓度 NAA(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 和  $0.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的 MS 培养基上, 培养约 12 d 时, 所有培养基上的茎尖和茎切段基部均有淡黄色的愈伤组织形成, 而幼叶只能形成少量愈

收稿日期: 2006-07-25

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金资助项目(2007jyxm345)和安徽阜阳师范学院教学研究资助项目(FJY200546)

作者简介: 兰伟(1974-), 男, 安徽阜阳人, 学士, 实验师, 主要从事植物生理学和花卉学等方面的研究工作。

伤组织。继续培养约 10 d, 茎尖和茎切段形成的愈伤组织分化出较多的淡绿色芽点, 而幼叶形成的愈伤组织分化出的芽点较少, 且生长势弱。培养结果表明, 添加适宜浓度的 NAA 有利于愈伤组织的形成, 在  $0.1 \sim 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度范围内, 随 NAA 浓度的升高, 愈伤组织逐渐增大; 而较高浓度的 NAA 则抑制愈伤组织的生长, 在  $0.4 \sim 0.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度范围内, 随 NAA 浓度的升高, 愈伤组织逐渐减小, 且结构疏松。观察发现, 在添加  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 和  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 的 MS 培养基上诱导形成的愈伤组织最大, 色泽亮丽, 结构较紧密, 转接后能迅速形成丛生芽。将愈伤组织分切成小块, 转接到与诱导培养基相同的培养基上, 培养 2 周后, 即可获得大量愈伤组织, 为丛生芽的诱导实验提供材料。

## 2.2 不同浓度 6-BA 对栝楼丛生芽诱导培养的影响

栝楼愈伤组织接种到添加  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 及不同浓度 6-BA 的 MS 培养基中, 培养 7 d 后, 每块愈伤组织分化出 2~3 个小芽, 各处理组差异不明显。培养 14 d 后的丛生芽诱导情况见表 1, 结果表明, 当培养基中 6-BA 浓度为  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 接种的愈伤组织长势旺盛且全部分化, 每块愈伤组织上分化的平均芽数为 4.67 个, 丛生芽分化最多; 如果 6-BA 浓度低于  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 则丛生芽分化数量相对较少, 生长缓慢, 甚至萎缩; 当 6-BA 浓度大于  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 丛生芽生长缓慢, 且随 6-BA 浓度的增加, 丛生芽分化率逐渐降低, 生长受到抑制。将分化的丛生芽在相同的培养基(含  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 和  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 的 MS 培养基)上继代培养, 20 d 后, 植株高达约 3.0 cm, 形成无根试管苗。

表 1 培养基中不同浓度 6-BA 对栝楼丛生芽诱导的影响  
Table 1 Effects of different concentrations of 6-BA in medium on tufted-bud inducing of *Trichosanthes kirilowii* Maxim.

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Conc.	接种愈伤 组织数 Number of inoculated callus	分化的愈伤 组织数 Number of differentiate callus	分化率/% Differentiation rate	平均丛生 芽数 Average number of tufted-bud
2.0	15	13	86.67	3.08
3.0	15	14	93.33	3.93
4.0	15	15	100.00	4.67
5.0	15	13	86.67	4.54
6.0	15	12	80.00	4.50

## 2.3 不同浓度 NAA 对栝楼试管苗不定根诱导的影响

将无根苗转到诱导生根培养基中培养, 20 d 后的生根情况见表 2。结果发现, 93.3% 的无根试管苗长出 3~5 条不定根, 其中, 在 NAA 浓度为  $0.1$ 、 $0.2$  和  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的培养基上生根率均达 100%。当培养基中 NAA 浓度为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

时, 形成的白色根系较发达, 单株生根数较多; 随 NAA 浓度的增加, 生根率下降, 且不定根根毛较少、不发达、脆性大, 根系的伸长受到抑制。因此, 添加  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 的 MS 培养基是最适宜于诱导栝楼试管苗生根的培养基。

表 2 培养基中不同浓度 NAA 对栝楼试管苗不定根诱导的影响  
Table 2 Effects of different concentrations of NAA in medium on root inducing of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. plantlet

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Conc.	接种数 Number of inoculated	生根苗数 Number of rooting seedling	生根率/% Rooting rate
0.1	20	20	100
0.2	20	20	100
0.3	20	18	90
0.4	20	17	85
0.5	20	20	100
0.6	20	17	85

## 2.4 炼苗与移栽

当栝楼试管苗不定根长 2.0~4.0 cm 时, 经炼苗、移栽并适当施用相应的营养液, 移栽的 45 株栝楼试管苗全部成活, 生长 1 个月后, 长出直径约 0.5 cm 的小块根, 移栽成活率达 100%。

## 3 讨 论

实验发现, 以茎尖和茎切段为外植体诱导栝楼愈伤组织的效果较好, 转接后能迅速形成丛生芽; 幼叶形成的愈伤组织分化的芽点少, 生长势弱。为降低生产成本, 实验中用市售的白砂糖代替蔗糖, 并取得了较好的效果。

研究表明, 适宜于栝楼愈伤组织诱导与增殖的最佳培养基为添加  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 和  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 的 MS 培养基, 芽诱导的最佳培养基为添加  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 和  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 的 MS 培养基, 生根的最佳培养基为添加  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 的 MS 培养基。

在本研究工作中, 作者仅比较了 6-BA 和 NAA 2 种外源激素在栝楼组织培养中的作用, 而其他激素(如 KT、IAA 等)在栝楼组织培养中的作用则有待进一步地研究。

## 参考文献:

- [1] 尹艺林, 吴永超. 栝楼的组织培养研究[J]. 皖西学院学报, 2005, 21(2): 56-58.
- [2] 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[J]. 生物工程学报, 2001, 17(4): 420-422.