

# 菊叶薯蓣茎段组织培养研究

林贵美, 牟海飞, 李 邦, 邹 瑜, 韦华芳, 李朝生, 李小泉

(广西植物组培苗有限公司, 南宁 530007)

**摘要:**为解决菊叶薯蓣种苗的繁育问题,用不同种类、浓度的植物生长调节剂对菊叶薯蓣幼嫩茎段进行离体培养试验,结果表明,启动培养用MS+6-BA0.2mg/L+KT1.0mg/L+NAA0.01mg/L诱导不定芽萌芽率为100%,效果最理想;继代培养用MS+6-BA0.8mg/L+NAA0.2mg/L诱导芽的增殖系数超过3,长势较理想;生根培养用1/2MS+IBA1.5mg/L+NAA0.3mg/L诱导生根长苗率达90%以上,对生根培养的效果最佳;采用河沙+塘泥假植菊叶薯蓣组培生根苗成活率高,生产成本降低;表明应用组培快繁技术能为菊叶薯蓣的规模化种植提供充足的优质种苗。

**关键词:**菊叶薯蓣;茎段离体培养;植物生长调节剂

**中图分类号:**S632.104<sup>+</sup>.03

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-8161(2006)06-01-0

## Studies on tissue culture of stem segment of *Dicorea composita*

LIN Gui-mei, MOU Hai-fei, LI Bang, ZOU Yu, WEI Hua-fang, LI Chao-sheng, LI Xiao-quan

(Guangxi Plant Tissue Culture Co. Ltd., NanNing 530007, China)

**Abstract:** In order to solve the propagation of *Dicorea composita*, *Dicorea composita* shoot were cultured in vitro with different type and concentration of plant growth regulators. The results showed that the best medium for inducing adventitious bud was MS+6-BA0.2mg/L+KT1.0mg/L+NAA0.01mg/L, and the germination rate of adventitious bud was 100%. The coefficient of multiplication of induced bud was over 3.0 on subculture medium MS+6-BA0.8mg/L+NAA0.2mg/L, and the growth of induced bud was vigor. The medium 1/2MS+IBA1.5mg/L+NAA0.3mg/L was the best for inducing roots and the rootage rate was over 90%. Moreover, the survival rate of rootage plantlets was higher when transplanted in medium of river sand and pound soil. The production cost was low by using this protocol. Through tissue culture and rapid propagation technology, it would supply good plantlets for *Dicorea composita* production in large scale.

**Key words:** *Dicorea composita*; tissue culture of shoot in vitro; plant growth regulator

菊叶薯蓣 (*Dicorea composita*) 是多年生缠绕性草本植物,原产地为墨西哥,是墨西哥生产激素类药物原料薯蓣皂素的主要来源植物,特点是薯块产量高,薯蓣皂素含量也高<sup>[1,2]</sup>。由于国内野生薯蓣资源日益枯竭,传统的栽培品种通过种子、薯块、扦插等繁殖速度慢,种苗质量差,薯块产量低,皂素含量也低,制约着薯蓣产业的发展<sup>[1,3]</sup>。为解决菊叶薯蓣的种苗繁育问题,开展菊叶薯蓣茎段的离体培养研究,为菊叶薯蓣的组培快繁提供技术基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料及处理

建立菊叶薯蓣的母本园,从母本园中取生长健

壮、无病虫害植株枝蔓上部约15cm的嫩茎,用自来水冲洗干净,剪掉开展的叶片,截成3~4cm的茎段,用无菌水漂洗3~5min。在超净工作台上,将茎段放到无菌瓶内,用75%酒精浸泡8~15s,再用0.1%升汞浸泡10min,取出后用无菌水漂洗3~4次,剪成约1cm长带芽茎段的外植体接种于已灭菌的培养基。

### 1.2 培养基

基本培养基为MS培养基,生根培养时用1/2MS;白糖浓度为3%(生根用2%),琼脂0.5%;pH5.8~6.0;配好的培养基在压力1.1kg/cm<sup>2</sup>、温度121℃下灭菌20~25min。

植物生长调节剂及培养条件:启动培养用

收稿日期:2006-10-16

作者简介:林贵美(1953-),男,广东陆丰县人,副研究员,主要从事植物组织培养研究、生产、推广等工作。

6-BA、KT、NAA, 培养温度  $28 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , 光照  $800 \sim 1500 \text{ lx}$ , 每天光照  $8 \sim 12 \text{ h}$ ; 继代培养用 NAA、KT、6-BA、NAA、2,4-D, 培养温度  $28 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , 光照  $1500 \sim 2000 \text{ lx}$ , 每天光照  $8 \sim 12 \text{ h}$ ; 生根培养用 IBA、NAA, 室温培养, 自然散射光。

### 1.3 组培生根苗假植

合格组培生根苗标准: 白根  $2 \sim 3$  条, 苗高  $3 \text{ cm}$  以上, 具成熟绿叶 1 片以上。组培生根苗经炼苗后, 取出用清水洗掉培养基, 再用  $0.1\%$  的高锰酸钾溶液

浸泡数秒后假植。假植苗在育苗棚中培育, 用干净河沙和塘泥作介质, 育苗棚盖塑料薄膜保湿或定期喷雾保湿, 棚上覆盖  $50\% \sim 70\%$  遮光网, 以防日灼。10d 左右成活后, 适当降湿和增加光照。

## 2 结果与分析

### 2.1 芽的诱导

茎段外植体接种到附加不同种类、浓度的植物生长调节剂的培养基中, 结果如表 1。

表 1 不同种类、浓度的植物生长调节剂对菊叶薯蓣芽诱导的影响

序号	培养基 (mg/L)	外植体接种数 (个)	启动外植体数 (个)	萌芽率 (%)	愈伤组织大小*	污染或褐化个数 (个)
1	MS+6-BA 0.2+KT 1.0+NAA 0.01	100	100	100		14
2	MS+6-BA 1.5+NAA 0.3	100	78	75	+	22
3	MS+6-BA 5.0+NAA 0.5	100	74	86	++	26
4	MS+6-BA 2.0+NAA 0.1	100	77	46	+	23

\* 愈伤组织大小表示方法: “+”表示等于或小于  $1 \text{ cm}$ ; “++”大于  $1 \text{ cm}$ , 小于  $2 \text{ cm}$ ; “+++”表示等于或大于  $2 \text{ cm}$ 。

接种在 1 号培养基上的外植体,  $7 \sim 10 \text{ d}$  后茎段腋芽开始长出,  $20 \text{ d}$  后形成  $2 \sim 4 \text{ cm}$  长的单芽,  $25 \sim 30 \text{ d}$  长成具有  $3 \sim 5$  个节位的成熟单芽, 诱导率达  $100\%$ ; 接种在 2 号培养基上的外植体,  $5 \sim 10 \text{ d}$  后茎段腋芽也开始萌芽, 但萌芽率较低, 愈伤大; 接种在 3 号培养基上的外植体, 萌芽率高, 但芽肥胖, 节少; 而接种在 4 号培养基上的外植体萌芽率很低<sup>[2]</sup>。

结果表明, 使用 1 号培养基诱导菊叶薯蓣茎段分化最为理想。用 6-BA 与 NAA 配比, 也可诱导芽形成, 但易形成愈伤组织。

### 2.2 继代增殖

把菊叶薯蓣茎段启动诱导长成的单芽剪切成带一叶一芽的茎段, 切除展开的叶片, 接种到 5~10 号继代培养基中, 培养  $30 \sim 35 \text{ d}$  后调查, 结果见表 2。

表 2 不同种类、浓度的植物生长调节剂对菊叶薯蓣继代培养的影响

序号	培养基(mg/L)	增殖系数	愈伤组织大小*	生长情况
5	MS+NAA 2.0+KT 0.02	4.2	+	产生多芽体, 芽较多, 但细小, 有部分长根。
6	MS+NAA 3.0+KT 0.01	4.0	+	产生丛芽, 较密集, 但细小, 芽高 $3 \sim 6 \text{ cm}$ , 有部分长根。
7	MS+6-BA 0.8+NAA 0.2	3.2		芽生长较健壮, 节间短, 长势较理想, 有部分丛芽。
8	MS+6-BA 3.0+NAA 1.0	1.2	+	萌芽率低, 生长慢。
9	MS+6-BA 0.5+2,4-D 0.5	1.6	++	生长势差, $80\%$ 以上有愈伤水渍状。
10	MS+6-BA 3.0+KT 1.0	2.3	+	芽变短, 重芽多, 但部分芽中部膨节位极少。

\* 愈伤组织大小表示方法同表 1。

在 5、6 号培养基中, 保持  $\text{KT} 0.01 \sim 0.02 \text{ mg/L}$  水平, NAA 浓度由  $2.0 \text{ mg/L}$  增加到  $3.0 \text{ mg/L}$  时, 增殖系数呈上升趋势, 并极易诱导丛芽<sup>[2]</sup>和多芽体的发生, 丛芽、多芽体呈矮小密集状, 增殖系数达 4 倍以上; 使用 6-BA 和 NAA 配比时, 发现高浓度会抑制芽的生长, 低浓度却能较理想地诱导芽生长, 达到良好的增殖效果; 而使用 6-BA 和 2,4-D、6-BA 和 KT 配比的组合进行芽诱导, 出现大量愈伤组织或芽肥大节少, 难以达到增殖目的; 使用 7 号培养基继

代培养  $30 \sim 35 \text{ d}$ , 增殖系数超过 3, 小芽生长较健壮, 节间长短适宜, 长势较理想, 是菊叶薯蓣继代培养理想的培养基。

### 2.3 生根培养

生根培养使用 IBA 和 NAA 配比, 在 11~13 号培养基中 NAA 浓度不变, 调整 IBA 的浓度, 结果 13 号培养基效果最好, 诱导生根长苗率达  $90\%$  以上; 在 14~16 号培养基中, 保持 IBA 不变, 调整 NAA 的浓度, 结果生根长苗率均较低。结果表明, 调整 IBA 的

浓度对菊叶薯蓣组培生根有显著影响。生根培养,一般10~15d根系开始萌动,同时小芽长高和长叶片,

45~50d左右长至6~8cm。整体而言,使用IBA和NAA配比较适于菊叶薯蓣的生根长苗。

表3 不同浓度植物生长调节剂对菊叶薯蓣组培生根培养的影响

序号	培养基(mg/L)	生根率(%)	长苗率(%)	生根长苗率(%)	生根小苗的生长情况
11	1/2MS+IBA 1.0+NAA 0.3	79.6	71.0	65.0	根多,苗生长均匀健壮。
12	1/2MS+IBA 1.2+NAA 0.3	91.0	90.5	88.5	根多,苗生长快,均匀健壮。
13	1/2MS+IBA 1.5+NAA 0.3	95.2	91.7	90.1	根多,苗生长快,均匀健壮。
14	1/2MS+IBA 1.0+NAA 0.5	80.9	77.0	67.8	根多,有浮根;苗均匀健壮,后期生长较慢。
15	1/2MS+IBA 1.0+NAA 0.6	82.5	75.9	69.0	根多,有浮根;苗均匀健壮,后期生长较慢。
16	1/2MS+IBA 1.0+NAA 0.8	83.0	77.0	68.0	根多,有浮根;苗均匀健壮,后期生长较慢。

注:生根率是接种数生根的百分比(不一定长苗);长苗率是接种数长苗的百分比(不一定生根);生根长苗率是接种数既长苗又生根形成一个完整植株的百分比。

#### 2.4 不同介质对组培苗假植成活率的影响

假植结果(表4)表明,只要菊叶薯蓣组培生根苗根系发育良好,具有1片以上成熟绿叶,在适宜的移栽条件下,假植成活率可达90%以上。采用河沙介质成活率虽高,但需要进行2次移栽,育苗环节成本高,因此,以干净塘泥或掺少量河沙作育苗介质较为理想。

表4 不同介质对菊叶薯蓣组培生根苗假植成活率的影响

假植介质	假植株数(株)	成活株数(株)	成活率(%)
干净河沙	205	194	94.6
塘泥	200	180	90.0
1/2河沙+1/2塘泥	200	185	92.5

### 3 结论与讨论

3.1 菊叶薯蓣曾采用播种、薯块及扦插等方法繁育种苗,但效果不甚理想,难以满足生产需要。组培快繁的应用能为菊叶薯蓣的规模化种植提供充足的优质种苗。

3.2 在菊叶薯蓣茎段离体培养中,宜采用6-BA、KT、NAA和IBA等植物生长调节剂配比,启动培养适宜的激素水平是6-BA 0.1~0.5mg/L,KT 0.5~1.5mg/L,NAA 0.01~0.05mg/L;继代培养适宜的激素水平是6-BA 0.5~1.5mg/L,NAA 0.1~0.5mg/L;生根培养适宜的激素水平是IBA 1.0~2.0mg/L,NAA 0.1~0.5mg/L。

3.3 组培大批生产时,用自来水代替蒸馏水,效果和用蒸馏水并没有明显的区别,还可以减少琼脂、白砂糖的使用量等以降低成本。今后还可以进一步探索更有效、实用、简化、低成本的培养基配方和组培生产工艺路线。

3.4 在菊叶薯蓣组培苗假植育苗方面,用河沙+塘泥作假植介质,组培生根苗成活率高,生产成本降低。

3.5 在菊叶薯蓣组织培养的各个阶段,因为不同植物生长调节剂浓度的影响,易造成启动与继代、继代与生根之间驯化周期长,需摸索更配套的培养基配方;由于温度、光照、培养基配方等因素的影响,会造成组培苗玻璃化、黄化及生根率低等问题,需进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 李国林,杜晓英,付艳华,齐迎春,汪晓春,胡中立. 菊叶薯蓣的快速繁殖研究[J]. 氨基酸和生物资源,2004,26(4):20~22.
- [2] 唐德英,王云强,李学兰,姜红英,李荣英,管艳红. 菊叶薯蓣组织培养及快速繁殖[J]. 热带农业科技,2003,26(1):16~18.
- [3] 郑惠兰. 菊叶薯蓣生长发育研究[J]. 云南植物研究,1990,12(1):75~79.

(责任编辑 麻小燕)