

蛇 莲 离 体 培 养 研 究

林贵美^{1,2}, 李小泉^{1,2}, 李朝生^{1,2}, 牟海飞^{1,2}, 邹瑜^{1,2}, 张进忠^{1,2}

(1. 广西植物组培苗有限公司, 广西南宁 530007; 2. 广西农业科学院, 广西南宁 530007)

摘要:采用不同培养基对蛇莲不同的外植体进行离体培养, 对其组培苗作细胞渗透性分析。结果表明:以 MS 为基本培养基优于 WV 基本培养基; 6-BA ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 利于顶端茎段外植体增殖, 而抑制底端茎段外植体增殖, 各类外植体以顶端茎段为最佳培养材料; 添加 6-BA 的 MS 培养基上的组培苗表现出低的细胞膜渗透率, 更能适应出苗后大田环境生长。

关键词:蛇莲; 离体培养; 组培苗

中图分类号: S 567.23⁺9; S 035.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)11-0184-02

蛇莲 (*Hemsleya sphaerocarpa* Kuang et A. M. Lu), 为葫芦科植物雪胆属植物, 块根入药, 味苦、性寒, 有清热解毒, 抗菌消炎的功能^[1]。在我国以贵州分布较多, 目前市场已有销售, 多用于制药, 如采用蛇莲配方的“小儿百中贴”专适合于婴幼儿定痛止泄、消积导滞、止咳平喘。蛇莲的传统繁殖方法为块根繁殖、扦插繁殖, 但繁殖系数低, 如能采用组培快繁技术, 将大幅度满足市场需求。现探讨蛇莲离体培养最佳增殖体系, 以期为工厂化育苗做好基础。

1 材料与方 法

供试材料蛇莲组培苗、WV 基本培养基及原适合蛇莲继代培养的培养基由广西植物组培苗有限公司提供; 增殖培养基分为: (1) MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (单位下同), (2) WV, (3) WV+6-BA 0.5 , (4) 生根培养基: MS+NAA 0.1 ; (1) 为目前筛选出的较理想的蛇莲继代培养基, 拟观察采用 WV 基本培养基与 MS 作为基本培养基的培养效果差异; 以上培养基各加白糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、琼脂 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; pH 值 5.8, 121°C 高温灭菌 20 min。将外植体分为顶端、中端及底端茎段 3 类外植体, 各外植体含一个腋芽(即 1 节), 应用不同培养基对不同外植体进行培养观察, 统计生长情况; 各处理接种 10~15 瓶, 每瓶 1~3 个外植体, 接种 3 d 后见光培养; 培养温度为 $25 \sim 27^\circ\text{C}$, 光照强度 $30 \sim 40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

不同培养基下经顶端茎段外植体生长成的蛇莲组培苗细胞膜渗透率测定: 剪取(1)、(2)和(3)号培养基上叶

片, 保持各剪取的叶片质量相等, 分装于容量瓶中, 再各加 50 mL 重蒸水, 25°C 浸泡 2 h, 用电导仪(DDS-11A)测定浸出叶的电导度, 随后煮沸 15 min, 待冷却后再次测定电导度, 以煮沸前后的相对电导率(%)表示细胞膜渗透率^[2], 各处理重复 3 次, 取其平均值。

2 结果与分析

2.1 观察结果

接种后第 2 天, 各茎段外植体恢复生长活性; 接种后第 15 天, 茎段明显伸长生长及部分茎段出现分枝生长, 外植体底端出现紧密的圆形颗粒状愈伤组织, 生长状况具体表现为顶端外植体优于其他外植体, 各培养基培养差异不明显; 接种 30 d 后观察, 不同培养基培养的顶端外植体生长状况最佳, 分节多, 节间长, 叶片较大、较密, 底茎段外植体生长最差, 部分保持接种时原样, 叶片发黄, 顶、中段外植体培养材料底端的颗粒状愈伤组织增大, 较紧密, 各培养基中以(1)号培养最佳, 典型生长特征为: 外植体基部有坚硬的愈伤组织, 距基部最近的一节位长出白色、细长的根, 该节位除了旧叶片仍保持活性生长外, 长出 1 根前端 2 分叉的卷须茎及 1 分枝(2 级枝), 在 2 级枝近基部的一节位表现出完全一样的生长情况, 即生长出根、分枝等, 每节基部有 1 复叶, 不同级分枝的节都可作为外植体进行继代培养, 一般而言, 2 级分枝繁殖系数高于其它分枝及主茎。

2.2 不同培养基对不同外植体培养结果分析

表为各外植体的不同离体培养 20 d 后的生长情况, 从表中可看出成熟的蛇莲继代培养基(1)号对顶端茎段外植体具有最佳的培养效果, 增殖系数达到 3.75, 主茎新增生长高度也具最大, (1)号对顶端茎段及(3)号对底端茎段培养效果最差, 其它组合培养效果无较大差别; 两种基本培养基对蛇莲离体培养无显著差异, 但整体上以 MS 培养较好, WV 培养基组分较 MS 有一定的改变, 成分含量低于 MS, 若能以 WV 取代 MS, 将降低培养成

第一作者简介: 林贵美(1953-), 男, 广东人, 副研究员, 广西有突出贡献专家, 从事植物组织培养研究。E-mail: jzhang@scbg.ac.cn。
基金项目: 广西科学研究与技术开发计划资助项目(桂科攻 0424002-2B)。

收稿日期: 2007-05-21

本;从表也可看出激素 6-BA 对离体培养的影响,以 WV 为基本培养基,6-BA 能提高顶端茎段的增殖生长,而抑制底端茎段增殖生长;不同外植体以顶端茎段为最佳培养材料,在 3 种培养基中,顶端茎段增殖系数与外植体新增高度均最高,且对添加 6-BA 的培养基没有生根现象,利于增殖,(2)号培养的中端茎段生根较多,另外底端茎段都表现出不理想的增殖培养;结果表明(1)号培养基与顶茎段组合是蛇莲离体培养的最佳增殖体系。

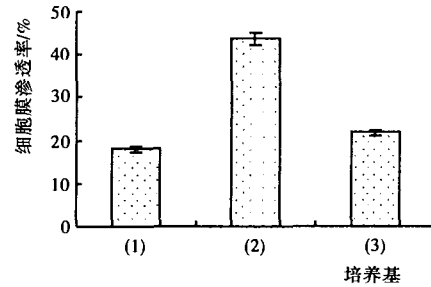
不同培养基培养对不同外植体的培养结果表

培养基	外植体	接种数	增殖系数	主茎新增高度均数/cm	生长状况
(1)	顶茎段	30	3.75	5.59	未生根,茎伸长生长最快,叶生长良好
(1)	中茎段	30	2.10	2.30	部分生根,部分长出腋芽未分枝
(1)	底茎段	30	2.67	4.77	旧根与新根并存,部分叶发黄
(2)	顶茎段	30	2.38	4.37	有生根现象,部分长出分枝,生长较好
(2)	中茎段	30	2.29	4.27	有普遍生根现象,部分长出腋芽未分枝
(2)	底茎段	30	2.33	4.16	旧根与新根并存,部分叶发黄
(3)	顶茎段	30	3.19	4.84	未生根,茎、叶生长一般
(3)	中茎段	30	2.00	3.65	部分生根,部分长出腋芽未分枝
(3)	底茎段	30	1.80	2.94	旧根与新根并存,部分叶发黄,生长较差

2.3 组培苗细胞膜渗透率

细胞膜渗透率是表示膜系统稳定性的重要指标^[2]。由于培养基质的差别会造成组培苗较大的生长差异,特别是对环境的适应性差异;不合适培养基培养出的组培苗即使经过练苗,在大田也会表现出较差的成活率及不良生长状况;在植物体与环境的信息、能源交换中,细胞膜具有调控细胞内外物质运输的屏障作用^[3],当逆境破坏细胞膜系统,细胞内容物外渗,电导率增加^[4],因此测定细胞膜的渗透率可以表示组培苗对环境适应能力。从图中可看出(1)号培养的细胞膜渗透率最低,未添加任何激素的 WV 培养基培养的最高(43.7%), (3)号居中;结果显示(1)号培养出的组培苗将更能适应环境变

化生长,增加外源激素 6-BA 的 WV 培养基能降低细胞膜渗透率。



不同培养基下蛇莲细胞膜渗透率变化图

2.4 生根与移栽

蛇莲组培苗易生根,将继代苗茎段含 1 腋芽的小茎段,接种于生根培养基(4)上。10 d 后,3 种继代培养基组培苗在(4)上都能生根,生根状况以(1)培养的最佳;茎段基部开始膨大隆起,25~30 d 后,植株高度 5~6 cm,长出 2~4 条根,生根率达 100%。将已生根的瓶苗置于荫棚练苗 7~10 d,然后取出,洗净基部培养基,用 0.1% 的多菌灵消毒后清水洗净,再移栽至泥炭土基质中种植;当植株高度长到 8~10 cm 可移栽入大田生长,成活率以(1)号培养基组培苗最高,达到 95%。

参考文献

- [1] 陈俊华. 蛇莲真伪品鉴定[J]. 中国中药杂志, 1984, 9(5):17.
- [2] 林植芳,彭长连,徐信兰,等. 两种浮萍植物的叶绿体超微结构对模拟酸雨的敏感性[J]. 热带亚热带植物学报, 2005, 13(3):217-223.
- [3] 韩雪,孙镜明,刘晓东. 低温胁迫后灯台树的枝、叶、根的细胞膜透性分析[J]. 吉林林业科技, 2006, 35(1):6-9.
- [4] 王丹,须晖,李天来,等. 连续变光对不同品种番茄叶片细胞膜系统的影响[J]. 北方园艺, 2006(4):11-13.

Study on in Vitro Culture of *Hemsleya sphaerocarpa*

LIN Gui-mei^{1,2}, LI Xiao-quan^{1,2}, LI Chao-sheng^{1,2}, MOU Hai-fei^{1,2}, ZOU Yu^{1,2}, ZHANG Jin-zhong^{1,2}

(1. Guangxi Plant Tissue Culture Co. Ltd, Nanning 530007, China; 2. Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract: 3 kinds of *Hemsleya sphaerocarpa* explants have been in vitro cultured with different culture medium, the membrane leakage rate were investigated in the tissue culture seedlings, and the result showed that the basic culture medium of MS excel WV, the top stem segment of optimal explants have high propagation rate by 6-BA(0.5 mg L⁻¹), contrary result for the bottom stem segment, the seedlings that grew under optimal MS with 6-BA have lower membrane leakage rate and fit for field environment more.

Key words: *Hemsleya sphaerocarpa*; In vitro culture; Tissue culture seedlings