

激素水平对福建道地瓜蒌组培快繁的影响

郑向丽^{1,2}, 叶花兰^{1,2}, 徐国忠^{1,2}, 陈敏健^{1,2}

(1. 福建省农业科学院农业生态研究所, 福建 福州 350013;
2. 福建省丘陵地区循环农业工程技术研究中心, 福建 福州 350013)

摘要: 以福建道地瓜蒌带腋芽的茎段为外植体, MS为基础培养基, 研究不同激素水平对福建道地瓜蒌组织培养的影响, 探讨福建道地瓜蒌快速繁殖的有效途径。结果表明: 瓜蒌带腋芽的茎段接种于MS+1.0 mg·L⁻¹6-BA蔗糖培养基上, 15 d后外植体出现许多绿色的小芽点, 芽点健壮; 30 d后, 诱导出的丛生芽数平均达6.5个, 长势快, 平均出芽率达81.25%。分离正常的幼芽在MS+0.4 mg·L⁻¹NAA的生根培养基上, 效果最好, 15 d后长出不定根, 再生成完整的瓜蒌植株, 平均生根5条, 根系粗壮、发达, 生根整齐, 生根率达100%。通过瓜蒌带腋芽茎段的组织培养, 可以对瓜蒌种苗进行脱毒和品种更新复壮, 解决瓜蒌以种子繁育雌雄比例不协调的问题, 可在短期内大量繁殖瓜蒌雌雄种苗, 具有成本低, 效益高的特点。

关键词: 福建; 瓜蒌; 组织培养; 激素水平

中图分类号: S 567

文献标识码: A

Effect of Hormone on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Trichosanthes kirilowii* Maxim

ZHENG Xiang-li^{1,2}, YE Hua-lan^{1,2}, XU Guo-zhong^{1,2}, CHEN Min-jian^{1,2}

(1. Fujian Engineering and Technology Research Center for Hilly Prataculture, Fuzhou, Fujian 350013, China; 2. Fujian Engineering and Technology Research Center for Recycling Agriculture, Fuzhou, Fujian 350013, China)

Abstract: Effect of hormone application on tissue culture of *Trichosanthes kirilowii* Maxim was investigated. Stems with axillary buds were used as explantlet, and MS for the basic medium. Available methods for the rapid propagation to clone *T. kirilowii* Maxim are reviewed. In the experiment, the young adventitious buds continuously appeared for 15 days in the culture medium of MS + 1.0 mg·L⁻¹ BA. In 30 days, the average number of shoots was 6.5, and the average shoot ratio was 81.25%. The excised plantlets could produce root 15 days after inoculation on the MS + 0.4 mg NAA L⁻¹ medium. They continued to gradually develop into normal plants. A single plant had an average of 5 roots. The average rooting percentage was 100%. This rapid propagation method for *T. kirilowii* Maxim appeared to offer many benefits at low cost.

Key words: Fujian; *Trichosanthes kirilowii* Maxim; tissue culture; hormone application

瓜蒌 *Trichosanthes kirilowii* Maxim 亦称栝楼、吊瓜、药瓜等, 为葫芦科栝楼属多年生攀援草本植物, 雌雄异株。瓜蒌的果实、根均可入药, 果壳中药名为瓜蒌皮, 种子中药名为瓜蒌仁, 根中药名为天花粉^[1]。全瓜蒌入药有清热散结、润肺化痰、养胃生津等作用。

瓜蒌是我国传统常用大宗中药材, 应用历史悠久, 瓜蒌作为福建省特色的道地药材, 在国内外享有较高的知名度。福建省福州市尤其是闽侯县的瓜

蒌, 以个大质优在国内外久负盛名, 福州是福建省较大的瓜蒌种植区, 且近年来面积不断扩大, 但由于种苗繁育技术的制约, 优良种苗有着较大的缺口, 导致选育的一些新品种推广滞缓^[2]。瓜蒌传统育苗方式多采用瓜蒌籽直播育苗或地下块根(天花粉)切成小段进行催芽育苗, 由于瓜蒌雌雄异株, 开花前无明显的形态差异, 难以分辨。瓜蒌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

收稿日期: 2011-07-07 初稿; 2011-09-06 修改稿

作者简介: 郑向丽(1978—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事植物组培及牧草育种研究(E-mail:hhuadi@163.com)

通讯作者: 陈敏健(1957—), 男, 副研究员, 主要从事规范化种植和农业生态循环应用研究(E-mail:cnj038@126.com)

基金项目: 福建省农业科学院科技创新团队建设基金项目(STIF-Y01); 福建省农业科学院“双百行动”计划项目(sbmb1104-1); 福州市科技计划项目(2011-S-76)

益^[3-4]。块根切块育苗则需要较多的地下块茎, 尤其是新品种推广缓慢, 同时该育苗方式繁育的种苗质量受块根质量影响, 容易因病毒积累造成种性退化。植物组织培养具有繁殖系数大、快速、去病复壮等优点^[5-8], 瓜蒌组培快繁研究已有报道^[9-12], 但有关福建道地瓜蒌的组培研究却鲜有报道。本研究以福建道地瓜蒌为材料, 拟建立一个操作简便、可重复性强、遗传性稳定、培养周期短和再生率高的福建道地瓜蒌再生体系, 并探讨外源激素对福建道地瓜蒌组培的影响, 为其遗传改良提供参考数据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料采自福建省农业科学院农业生态研究所的保种田。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒 于晴天的中午采瓜蒌1年生的枝条, 剪取带腋芽的茎段, 先用流水冲洗干净后, 于超净工作台用70%乙醇处理表面, 再用0.1%HgCl₂灭菌10 min, 无菌水冲洗3~4次。用无菌滤纸吸干水分, 接种于不同培养基中。

1.2.2 培养基和培养条件 丛生芽的培养基试验设5个处理: ① MS+0 mg·L⁻¹6-BA; ② MS+0.5 mg·L⁻¹6-BA; ③ MS+1.0 mg·L⁻¹6-BA; ④ MS+1.5 mg·L⁻¹6-BA; ⑤ MS+2.0 mg·L⁻¹6-BA。

生根培养基试验设3个处理: ⑥ MS+0.2 mg·L⁻¹NAA; ⑦ MS+0.4 mg·L⁻¹NAA; ⑧ MS+0.6 mg·L⁻¹NAA;

以上培养基含有蔗糖浓度30 g·L⁻¹, 琼脂7 g·L⁻¹, pH 5.8。接种材料在(25±1)℃, 光照12~14 h, 光强3 000 Lx, 相对湿度(60±10)%的培养室中培养, 保持室内温度平稳。

1.3 试验测定

每5 d 观察统计1次外植体的生长状况, 除去污染外, 测定出芽数、出芽率、丛生芽数、生根数、生根率以及观察生根培养后无菌苗生长情况。以腋芽、不定芽高1 cm为标准, 接种30 d后为标准统计腋芽出芽数和出芽时间, 计算外植体的出芽率, 出芽率=出芽的外植体/接种外植体总数; 以有新生成为标准统计生根数, 接种15 d后计算生根率, 生根率=生根的外植体/接种外植体总数; 以有新叶长出移栽28 d后统计移栽成活数, 成活率=成活的外植体/移栽的生根植株。

2 结果与分析

2.1 外源激素6-BA对瓜蒌丛生芽诱导的影响

为保持福建道地瓜蒌优良遗传特性, 采取腋芽直接诱导丛生芽的快速增殖方法, 将消毒过的带腋芽的茎段外植体转至丛生芽培养基上。15 d后, 在添加0.5~1.0 mg·L⁻¹6-BA的培养基上外植体出现许多绿色的小芽点, 芽点健壮(图1-A), 21 d后, 在添加1.5~2.0 mg·L⁻¹6-BA的培养基上外植体才出现许多绿色的小芽点。从表1、表2可见不含生长素的培养基中腋芽几乎不生长, 培养基MS+1.0 mg·L⁻¹6-BA中带腋芽的茎段可分化出5~8株无根瓜蒌幼苗(图1-B), 出芽率达81.25%, 平均丛生芽数6.5个, 较高浓度的6-BA也可诱导出丛生芽, 但过高浓度的6-BA不利于抽茎, 从而造成丛生芽生长缓慢, 适宜的6-BA浓度可促进出芽率, 得到生长健壮的无根小苗。因此, 诱导丛生芽最适宜培养基是③ MS+1.0 mg·L⁻¹6-BA。

表1 不同激素水平对瓜蒌腋芽出芽时间的影响

Table 1 Effect of hormone application on time of bud differentiation from axillary buds of *T. kirilowii Maxim*

培养基代号	出芽时间 (d)	不定芽状态
①	—	—
②	15	芽点健壮且较多
③	15	芽点健壮且多
④	21	芽点少, 生长慢
⑤	21	芽点更少, 生长慢

表2 不同浓度6-BA对瓜蒌丛生芽诱导的影响

Table 2 Effect of 6-BA on multiple shoot of *T. kirilowii Maxim*

培养基代号	接种数	分化丛生芽的组织数	出芽率(%)	平均丛生芽数	生长状态
①	16	0	0.00	0.0	—
②	16	12	75.00	6.1	++++
③	16	13	81.25	6.5	++
④	16	8	50.00	5.3	++
⑤	16	8	50.00	5.0	+

注: “—”表示不生长; “++++”表示丛生芽生长较快; “++”表示丛生芽生长正常; “++”表示丛生芽生长较慢; “+”表示丛生芽生长缓慢。

2.2 外源激素 NAA 对瓜萎不定根诱导的影响

将无根苗转到诱导生根培养基中培养, 15 d 后的生根情况见表 3。结果表明, 处理⑥、⑦的无根苗均长出不定根, 生根率达 100%, 处理⑧生根率达 50%。其中处理⑦无根苗可长 4~8 条的不定根, 根系粗壮、发达, 生根整齐 (图 1-C); 处理⑥可长出 2~6 条的不定根, 根数较少较粗壮; 处理⑧可长 1~5 条的不定根, 根数少且根较细。因此选用⑦MS + 0.4 mg · L⁻¹ NAA 培养基作为生根培养基。

2.3 炼苗与移栽

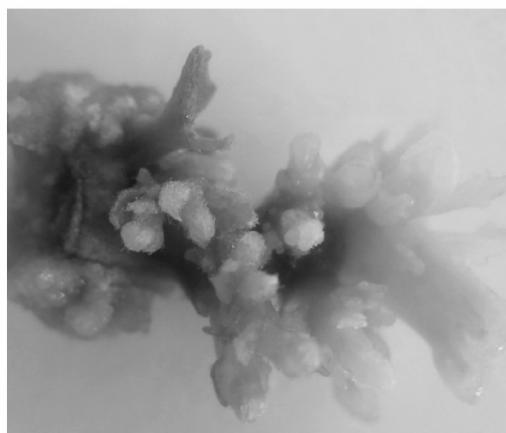
当无菌苗根长到 1.5~2.0 cm 时, 进行炼苗, 然后取出洗净根部的培养基, 移栽于温室内砂壤土

中, 室内温度保持在 15~25℃, 适当保湿, 每天早晚喷水 1 次, 可生长发育成正常的瓜萎植株 (图 1-D), 移栽成活率达 80%。

表 3 不同浓度 NAA 对瓜萎不定根诱导的影响

Table 3 Effect of NAA on plantlet rooting of *T. kirilowii Maxim*

培养基代号	接种数	生根苗数	生根率 (%)	平均根数(条)	生长状态
⑥	18	18	100	2.6	根数较少, 较粗壮
⑦	18	18	100	5.0	根数多、粗壮, 长根整齐一致
⑧	18	9	50	2.3	根数少, 粗细不均



A、芽点



B、丛生芽



C、苗根



D、再生植株

图 1 瓜萎组培再生过程

Fig. 1 Regeneration process of *T. kirilowii Maxim* tissue culture

3 讨论与结论

3.1 本试验采用福建道地瓜萎的腋芽为外植体,

MS 为基础培养基, 通过添加不同浓度的生长素与细胞分裂素, 结果表明: 腋芽在 MS + 1.0 mg · L⁻¹ 6-BA 培养基上能形成丛生芽, 分化出的丛生芽数

多，长势快。从生根试验中可看出，在 $MS + 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 培养基上可达到较好的生根效果，移栽成活率高。

3.2 本研究是基于解决福建道地瓜蒌的生产问题，通过腋芽组织培养可以对瓜蒌种苗进行脱毒和品种更新复壮，也可以解决瓜蒌以种子繁育雌雄比例不协调的问题。采用组培快繁的目的是降低瓜蒌种苗繁育成本，加速种苗繁育进程。

3.3 瓜蒌为多年生植物，生长年代长，地下块茎营养积累多有利于瓜蒌的坐果，从而提高产量。瓜蒌苗定植后通常第3年达到高产，但瓜蒌组培苗、块茎苗、种子苗在生产中的坐果习性、抗性、生长势等方面差异性还有待进一步研究。

参考文献：

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 52, 104—105.
- [2] 郑向丽, 陈敏健, 韩海东, 等. 福建道地瓜蒌的特征特性及栽培技术 [J]. 福建农业科技, 2010, (3): 47—48.
- [3] 杨晓伶, 金关荣, 杨端鹏, 等. 栝楼的组培快繁技术研究 [J]. 中药材, 2006, 29 (11): 1129—1130.
- [4] 林贵美, 李小泉, 韦华芳, 等. 栝楼组织培养与快繁研究 [J]. 广东农业科学, 2010, (2): 32—33.
- [5] 谢利娟, 韩蕾, 钱永强. 爆仗竹组培快繁 6-BA 与 NAA 组合浓度配比优化分析 [J]. 核农学报, 2005, 19 (3): 181—185.
- [6] 王小敏, 梁呈元, 李维林. 留兰香组织培养及快速繁殖条件的优化 [J]. 植物资源与环境学报, 2007, 16 (4): 38—40.
- [7] 林江波, 戴艺民, 邹晖, 等. 福建铁皮石斛人工繁育技术研究 [J]. 福建农业学报, 2010, 25 (5): 606—609.
- [8] 肖哲丽, 柳金凤. 植物组织培养的研究进展及新技术应用 [J]. 宁夏农林科技, 2011, 52 (01): 13—14, 47.
- [9] 廖华俊, 董玲, 江芹, 等. 栝楼组织培养及非试管苗快繁技术研究 [J]. 中国瓜菜, 2006 (3): 4—7.
- [10] 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.
- [11] 郑树松, 范华毅, 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—423.
- [12] 兰伟, 蔡健, 朱茂英, 等. 栝楼的组织培养与快速繁殖 [J], 植物资源与环境学报, 2006, 15 (4): 73—74.
- [13] 吴艺东. 金线莲组织培养及栽培技术研究 [J]. 安徽农学通报, 2009, 15 (15): 210—211.
- [14] 张静, 林毅, 蔡永萍, 等. 激素水平对 84K 杨组培快繁的影响 [J]. 激光生物学报, 2005, 14 (3): 233—237.
- [15] 马伶俐, 柳小妮, 刘晓静, 等. 甘农 4 号紫花苜蓿组培再生体系的建立 [J]. 草业科学, 2008, 25 (12): 67—70.

(责任编辑: 黄爱萍)