

圆叶娃儿藤离体组织培养的快速繁殖研究

邓锡青 梁学金 凌征柱

(广西药用植物园)

提要 圆叶娃儿藤实生苗的上胚轴在 H+6-BA 2 毫克/升的培养基上可产生大量不定芽,并发展成无根苗。当无根苗转至 1/2 MS+NAA 0.25 毫克/升的培养基上 10 天后即可生根获得完整再生植株并移栽成活。通过这一实验程序已可使组织培养这一方法成功地作为圆叶娃儿藤快速繁殖的一种手段。

通过组织培养对一些有经济价值的植物进行快速繁殖的研究,以往已有不少报道^[1, 2, 3, 4, 7]。其中有些植物的组织培养工作达到在生产上应用的程度。从而使这一方法有可能成为加速繁殖及培养优良单株无性系的一种新的有效的手段。

圆叶娃儿藤为广西地区常用的一种野生中草药,在临床上有良好的镇痛作用,长期以来由于采集过度和人工繁殖缓慢等问题,以致造成药源贫乏,为临床和科研用药带来很大困难,为此,我们进行圆叶娃儿藤组织培养的研究,获得大量完整的再生植株和移栽成活。为圆叶娃儿藤的快速繁殖提供新的途径。

材料与方 法

圆叶娃儿藤 (*Tylophora trichophylla* Tsiang) 为萝藦科多年生草本植物。种子经 0.1% 升汞消毒后,用无菌水清洗三次,再接种于 1/2MS 基本培养基上,待种子发芽,幼苗出现了 3—4 对真叶时,分别切取大小为 0.5cm 的上胚轴及子叶接种于 H^(*) 附加不同浓度 6-BA 1—5 毫克/升的基本培养基上培养,及在 H 或 MS 培养基附加不同激素的培养基上继代培养和生根,培养材料培养于 25±1℃ 的培养室中,每日用日光灯照光 8 小时,光强度为 1500 勒克斯。

试 验 结 果

一、不定芽的诱导和植株再生

圆叶娃儿藤无菌苗的不同外植体,在不同培养基上培养 10 天后,除体积稍有增大外,在形态上均未见明显变化。接种后约两周,上胚轴在靠近子叶基部开始发生丛生的苗芽,继之

* 参加本项工作的有吴其芳、罗伟英、李月梅等同志。本项研究工作得到桂耀林先生热情帮助,谨致谢意。

靠子叶一端的上胚轴表面直接出现大量黄色颗粒状突起,以后突起亦增大变绿而成为丛生的芽状,随着黄色突起的增生和绿芽的扩大,外植体增殖为大小约为 $1.5 \times 1.5 \text{cm}$ 的芽块,并从子叶叶腋部位的芽丛中首先伸出明显的幼苗(图1),稍后,其他芽点亦伸长成为明显的小苗(图2)。经一月后统计,其结果如表1所示。

表1 不同浓度6-BA对圆叶娃儿藤上胚轴诱导不定芽诱导影响

组别	培养基(毫克/升)	接种数	产生丛生芽块数	诱导频率(%)	每块外植体上的苗数	苗的生长情况
I	H+BA1	12	8	66.7	6-17	茎粗壮,节间长,叶大
II	H+BA2	25	21	84.0	6-20	茎粗壮,节间长,叶大
III	H+BA5	16	16	100.0	11-32	茎细弱,节间短,叶小

从表1可以看出,在不同浓度的BA对不定芽的发生均有较好的作用,而且随着浓度的增高效果也越好。但从苗的生长状况看,在组I、II中苗生长较为健壮,而组III中的苗丛生而瘦弱,似有轻度的抑制影响,特别从继代培养中也发现,只有第II组H+BA2毫克/升组合的材料生长最好,用芽团切割成小块进行继代培养,以每月继代一次计算,其增殖力约为原外植体的10倍,且在继代10次以后,其再生力仍未见减弱。

继代培养所用培养基仍H或MS+BA2毫克/升为最好。当增高或降低BA浓度时,常引起芽块褐化及造成外植体死亡。

对于下胚轴或子叶的材料,在各培养基上一直未见分化。

二、苗的生根与移栽

为了使芽块上小苗不断正常生长,当其中有些伸长3cm左右及3对叶片时,可从其基部切下并转入含不同生长素的MS培养基上生根,其结果列于表2。

表2 不同浓度生长素对圆叶娃儿藤生根的影响

培养基(毫克/升)	接种材料数(条)	生根的材料株数	生根频率(%)	平均每株上的生根条数
MS+NAA0.5	63	53	84.1	1.6
MS+IBA0.5	26	23	88.5	4.6
$\frac{1}{2}$ MS+NAA0.25	63	49	77.8	9.5

在 $\frac{1}{2}$ MS+NAA0.25毫克/升的培养基上,生根效果最为理想,当接种后约一周,茎的基部开始膨大并出现少量节结,约10天左右就可以从茎基部或节结上伸出白色的根,如果将此等生根植株转移至不含激素的减半MS培养基上,则可使根系更为强壮和发达(图3),且在移栽时更易成活。

根系生长良好的小植株经去掉棉塞锻炼3-5天后,移于碎塘泥和细沙各半的花盆中(图4)或直接栽于苗圃(图5)。目前已有6批组织苗移入土中。移栽时间最长的已达11月之久。并且今春又发出了新枝。

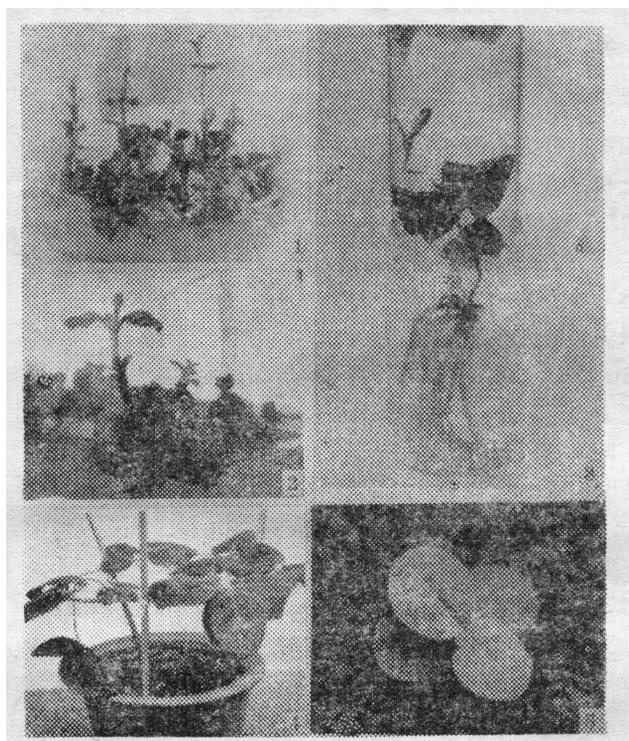


图 1—2 由上胚轴表面及子叶叶腋处产生的丛生芽和小苗

图 3 小苗在 $1/2 MS + MAA 0.25$ 毫克/升培养基上生根又转入 MS 培养基

图 4 为移栽在花盆中 11 个月后的圆叶娃儿藤

图 5 为移栽在土中一月后的圆叶娃儿藤

讨 论

关于药用植物圆叶娃儿藤的离体上胚轴的组织培养研究，以往还未见有报道。该属植物中，仅见印度Rao等〔8,9〕曾对印度娃儿藤作过一些形态发生的观察。从我们的实验结果看来，由圆叶娃儿藤上胚轴诱导不定芽发生的方式与山楂胚培养及苹果下胚轴培养〔3,6〕产生不定芽丛的方式十分相似，由于这种培养方式具有较大的增殖不定芽潜力，看来只要生根和移栽这两个程序相应解决，就很有希望付诸实际应用。

从圆叶娃儿藤上胚轴离体培养所得实验数据看来，由上胚轴诱导苗产生至生根移栽，前后约经一个半月时间，加上每个外植体产生的芽数众多，这些条件都为快速繁殖提供了重要前提，若是以这种速率计算。在理论上一个外植体一年就可产生上万株苗，这表明这一实验程序可为建立圆叶娃儿藤的实验基地提供大量种苗，也有希望使这一方法作为快速繁殖手段成为可能。

参 考 文 献

- [1] 罗士韦, 1979: 植物组织培养在花卉上的应用。植物生理学通讯, 3: 1—9。
- [2] 桂耀林, 1979: 猕猴桃离体茎段愈伤组织的诱导和植株再生。植物学报, 21(4): 339—344。
- [3] 毋锡金等, 1977: 幼胚下胚轴及子叶上植株的诱导。遗传学报, 4(2): 140—45。
- [4] 陈维伦、王洪新、杨善英、崔澈等, 1979: 使组织培养方法快速繁殖山新杨 (*Populus davidiana* × *Populus bolleana* Louene) 的初步研究。科学通报, 16: 758。
- [5] 中国科学院植物研究所, 1972: 单倍体育种。16—18页, 科学出版社。
- [6] 王玉英、高新一, 1982: 山楂胚培养及其苗的快速繁殖。植物杂志, 2: 封4。
- [7] Rao, A.N. 1977: Tissue culture in the orchid industry. In "Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture." J. Reinert and Y. P. Bajaj, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 40—69。
- [8] Rao, P.S., Narayanaswami, S., Benjamin, B.D. 1970: Differentiation ex-ovo of embryos and plantlets in stem tissue culture of *Tylophora indica*, *Physiol. Plantarum*, 23: 140—144。
- [9] Rao, P.S., and Narayanaswami, S., 1972: Morphogenetic investigations in callus cultures of *Tylophora indica*. *Physiol. Plant*, 27: 271—276。

STUDIES ON RAPID PROPAGATION OF TYLOPHORA TRICHOPHYLLA TSIANG THROUGH TISSUE CULTURE

Deng Xi-qing Liang Xue-jing and Ning Zheng-zhu
(Guangxi Medicinal Botanical Garden)

Abstract

Tylophora trichophylla Tsiang were cultured in vitro, clustered buds and shoots were obtained on H basic medium supplemented with 6-BA 2 mg/l. The stem of shoots was cut off when it reached 3—4 cm in height and had 2—3 pairs of leaves, then the excised stem was transferred onto medium with 1/2 MS+NAA 0.25 mg/l for rooting. Plantlets had been successfully transferred into pots or soil.

It is possible that the technique obtained whole plantlet by tissue culture provides an effective method for the rapid propagation of *Tylophora trichophylla* Tsiang.