

文章编号: 1008-3464 (2002) 02-0108-03

箭根薯的试管繁殖

何惠英, 兰芹英, 张艳军

(中国科学院 西双版纳热带植物园, 云南 勐腊 666303)

摘要: 本实验用箭根薯成熟种子为材料, 培育出无菌幼苗, 再用幼叶、叶柄进行试管繁殖。经实验得出各阶段适宜的培养基分别为: (1) 种子萌发: $MS + 6-BA\ 1\text{ mg/L}$ (单位下同) + $NAA\ 0.1$; (2) 诱导愈伤组织: $MS + 6-BA\ 1 + 2, 4-D\ 1.5 + KT\ 0.2$; (3) 丛芽诱导: $MS + 6-BA\ 0.5 + NAA\ 0.5$; (4) 生根培养: $1/2MS + NAA\ 0.5$ 。

关键词: 箭根薯; 萌发; 愈伤组织; 丛芽

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A

In vitro propagation of *Tacca chantrieri*

HE Hui-ying, LAN Qing-ying, ZHANG Yan-jun

(Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences,
Mengla 666303, China)

Abstract: *Tacca chantrieri* bear many seeds, but only few of the seeds (about 12%) can germinate, so tissue culture would be a good means for multiplying plants of *T. chantrieri*. In this experiment, young leaves and leaf stalks, obtained from mature *T. chantrieri* seeds, were used as explants for in vitro propagation. The appropriate media for respective culture stages were as follows. The medium of seed germination was $MS + 6-BA\ 1\text{ mg/L} + NAA\ 0.1\text{ mg/L}$, that of callus inducing was $MS + 6-BA\ 1\text{ mg/L} + 2, 4-D\ 1.5\text{ mg/L} + KT\ 0.2\text{ mg/L}$, that of shoot inducing was $MS + 6-BA\ 0.5\text{ mg/L} + NAA\ 0.5\text{ mg/L}$, that of rooting was $1/2MS + NAA\ 0.5\text{ mg/L}$.

Key words: *Tacca chantrieri*; germination; callus; buds

箭根薯 (*Tacca chantrieri* Andre) 又叫老虎须, 为箭根薯科 (Taccaceae) 多年生常绿草本植物, 其叶大 (长可达 60 cm, 宽 20 cm), 深绿色, 花暗紫色, 花果期 4~11 月, 生长于海拔 170~1300 m 的热带雨林林下、水边、山谷阴湿处。箭根薯的根状茎味苦、性凉, 药用有清热解毒、消炎止痛的功效, 治刀伤、胃及十二指肠溃疡、肝炎、高血压、胃痛、烧烫伤、疮痍。箭根薯花形独特, 小苞片线形且长长的下垂, 尤为优美。箭根薯集观叶、观花、药用于一身, 其野生资源越来越少, 现已被列为国家三级保护植物。因此, 用组织培养方法对其进行快速繁殖和离体种质保存是必要的。

1 材料与方法

材料取自西双版纳热带植物园阴生植物区。将成熟的箭根薯果实洗净, 用 75% 的酒精泡 2~3 min,

收稿日期: 2001-08-20

基金项目: 中国科学院生物分类区系学科发展特别支持项目 (980302)

作者简介: 何惠英 (1970-), 女, 云南宣威人, 中国科学院西双版纳热带植物园研究实习生。

然后在超净工作台上用 0.1% HgCl₂ 灭菌 5~ 6 min 后用无菌水洗 3~ 4 遍, 用吸水纸吸干水后再用解剖刀开果实 (一个果实有数十粒种子), 取出种子接种于种子萌发培养基 MS+ 6-BA 1 mg/L (单位下同) + NAA 0.1 上。待种子发芽长成 3~ 4 cm (2~ 3 片叶) 的小苗后, 取叶片、叶柄为外植体接种于诱导愈伤组织培养基 MS+ 6-BA 1+ 2, 4-D 1.5+ KT 0.2 上。愈伤组织转在丛芽诱导培养基 MS+ 6-BA 0.5+ NAA 0.5 上, 丛芽多次继代即能大量增殖。小苗达 3~ 4 cm 便可转入生根培养基 1/2 MS+ NAA 0.5 上生根。

除生根用 1/2 MS 为基本培养基外, 其它是 MS 为基本培养基, 所有培养基均加 3% 蔗糖, 7% 琼脂, pH 6.4。培养条件: 温度 26~ 28℃, 光照 10 h/d, 光强 2000 lx。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织诱导

种子接种 1 个月左右才萌发, 萌发率低。萌发后经 2 个星期便可长成 1~ 2 片叶的小苗。在超净台上将小苗的叶片剪成 0.5 cm × 0.5 cm 的小块, 叶柄长 0.5 cm 的小段接种在 4 种不同浓度激素的培养基上诱导愈伤组织。经实验证明 MS+ 6-BA 1+ 2, 4-D 1.5+ KT 0.2 最好, 愈伤组织诱导率为 55.6% (见表 1)。接种后 50 d 左右外植体即产生愈伤组织, 叶片上分化的愈伤组织为绿色, 叶柄上分化的为浅绿色。

表 1 四种不同培养基对愈伤组织的诱导率

Table 1 Callus induction rate on four media

培养基 Media/mg · L ⁻¹	接种外植体数 No. of inoculums	产生愈伤组织数 No. of induced explants	愈伤组织诱导率/% Callus induced rate
MS+ 6-BA 1+ 2, 4-D 0.5+ KT 0.2	10	3	30.0
MS+ 6-BA 1+ 2, 4-D 1+ KT 0.2	9	2	22.2
MS+ 6-BA 1+ 2, 4-D 1.5+ KT 0.2	9	5	55.6
MS+ 6-BA 1+ 2, 4-D 2+ KT 0.2	12	3	25.0

2.2 丛芽的诱导

挑选大小基本一致、在愈伤组织诱导程度也较一致的愈伤组织块每组 3 块 (3 块愈伤组织都开始分化丛芽), 每瓶 1 块, 接种于 4 种不同 6-BA 浓度的培养基上诱导丛芽。实验表明 MS+ 6-BA 0.5+ NAA 0.5 对丛芽增殖和小苗生长都较好, 如表 2 所示。接种 20 d 左右愈伤组织开始分化丛芽, 绿色愈伤组织分化出绿色细小的丛芽, 成苗稍快; 浅绿色的愈伤组织分化出白色球状、较大的芽, 芽的数量少, 成苗慢, 但苗大而壮。经多次继代可得到大量小苗, 在继代过程中若培养基中加入香蕉 (捣碎, 50 g/L) 对小苗生长无明显影响, 但能增加繁殖倍数。此外在继代培养中叶片上能长出没有明显愈伤组织阶段的细小丛芽。

表 2 丛芽增殖及芽增长情况

Table 2 Callus induced and buds grew up on four media

培养基 Media/mg · L ⁻¹	接入时愈伤 组织数/块 No. of placed callus	接入时芽数/个 No. of placed buds	30 d 后芽数/个 No. of buds 30 d later	诱导芽数/个 No. of inducing buds	接入时芽长 Placed buds Length /cm	30 d 后芽长 30 d later buds Length /cm
MS+ 6-BA 0.5+ NAA 0.5	3	17	38	21	0.55	1.10
MS+ 6-BA 1+ NAA 0.5	3	14	22	8	0.43	0.70
MS+ 6-BA 2+ NAA 0.5	3	18	41	23	0.60	0.66
MS+ 6-BA 3+ NAA 0.5	3	14	28	14	0.46	1.30

2.3 生根培养

从丛生芽块上切下长约3 cm的增殖芽转在生根培养基上生根。半个月后开始生根,继续培养1个月,小苗高可达6~7 cm,具数条白色的根,展开叶片3~4片。在激素相同的情况下,用 $1/2MS$ 较用 MS 好。实验得出用 $1/2MS+NAA 0.5$ 最好。

2.4 移栽

把达到移栽标准(苗高6~7 cm,3~4片叶)的小苗放在室内,打开封口膜炼苗2 d(若冬季可炼苗3~4 d,雨季则不能超过2 d,高温高湿环境炼苗3 d培养基就会生霉)便可移栽。移栽基质可用河沙与肥土比为1:1。移栽后浇水要适量,太多易烂根,太少会旱死。另外,要尽量移栽到静风处。如条件适合,移栽成活率可达80%。

3 讨论

箭根薯在组织培养过程中,从野外采回的嫩叶片接种未能诱导出愈伤组织,用野外自然生长的嫩叶片作材料进行组织培养的技术和方法有待进一步研究。

从移栽的过程中看出,箭根薯对生境的要求很严,已成活的苗若被微风连续吹5~6 d就会死亡。而作为其自然栖息地的热带雨林环境正由于林分的减少、林下的过度利用而发生较大的改变,林分内日趋空旷,其自然更新能力将受到严重挑战。加之不合理的开发利用,野外自然生长的个体数量已越来越少,箭根薯的生存受到严重威胁,因此对其进行种质保存显得十分必要。组织培养技术的发展为人们寻求种质保存提供了新的途径。笔者于1998年7月开始进行箭根薯的组织培养和离体保存工作,1999年8月移栽第一批苗,其余的组培苗已作为其离体保存的材料在 $15^{\circ}C$ 下保存,用普通培养基半年继代一次。若在培养基中加入生长抑制剂,降低保存温度则可延长继代的时间间隔,减缓小苗的生长速度,成功有效地进行箭根薯的种质资源保存。种质资源保存途径随着生物科学的发展越来越多,但现在常用的是种子保存和离体保存。最近笔者在对箭根薯种子保存的进一步研究中发现,箭根薯种子不同种批(来源地和采集时间不同)的发芽率不同,用于做组织培养的这批种子于1997年7月采自西双版纳热带植物园阴生植物区,发芽率仅12%,而1999年10月采于思茅的发芽率高达90%以上,今后笔者将对箭根薯种子的萌发和贮藏特性进行报道。

参考文献:

- [1] 田郎,谭海燕,张霖 金边富贵竹的茎段培养及试管繁殖[J] 园艺学报,1999,26(2):133~134
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会 中国植物志[M] 第十六卷第一分册 北京:科学出版社,1985
- [3] 中国科学院昆明植物研究所 西双版纳高等植物名录[M] 昆明:云南民族出版社,1996 555
- [4] 伊华林,邓秀新 植物种质离体保存技术研究进展[J] 植物学通报,1999,16(5):574~581

(责任编辑 梁健)