

文章编号:1001-4721(2006)03-0029-03

小花盾叶薯蓣离体快繁试验

孙玉琴^{1,2}, 王炳艳^{1,2}, 孔祥能³, 黄天卫^{1,2}, 段承俐^{3,4}, 陈中坚^{1,2}

- (1. 云南省文山州三七研究所, 云南 文山 663000; 2. 文山三七科技创新中心, 云南 文山 663000;
3. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201;
4. 云南农业大学中药材研究所, 云南省中药材规范化种植技术指导中心, 云南 昆明 650201)

摘要: 对小花盾叶薯蓣进行了离体快速繁殖试验。结果表明: 带腋芽的幼茎是最好的芽培外植体, 芽 2 培养基(MS+BA 2.0mg/L+NAA0.5-1.0mg/L)适于芽诱导, 芽诱导率为 72%; 而根 1 培养基(1/2MS+BA 0.5mg/L+NAA 0.5mg/L+KT 0.5mg/L)则适于诱导生根, 诱导率可达 50%。本试验的结果为小花盾叶薯蓣快繁体系的建立奠定了良好基础。

关键词: 小花盾叶薯蓣; 快速繁殖

中国分类号: S632.1; Q943.1 **文献标识码:** A

The Study of the Fast Reproduction on the *Dioscorea praviiflora* C.T.Ting

SUN Yu-qin^{1,2} WANG Bing-yan^{1,2} KONG Xiang-neng³, HUANG Tian-wei^{1,2},
DUAN Cheng-li^{3,4}, CHEN Zhong-jian^{1,2}

- (1. Wenshan Prefecture Sanqi Science and Technology Institute. Wenshan 663000, China;
2. Innovation Center of Wenshan Sanqi Science & Technology. Wenshan 663000, China;
3. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University. Kunming 650201, China;
4. Institute of Chinese Medical Materials, Yunnan Agricultural University, Yunnan Provincial GAP Center of Chinese Medical Materials. Kunming 650201, China)

Abstract: The study of the fast reproduction on the *Dioscorea praviiflora* C.T. Ting had been carried on. The result indicated that the caulicle with axillary bud was the best bud foster explant, bud 2 cultured medium(MS+BA 2.0mg/L+NAA0.5-0.1mg/L)was adequate to bud induce, bud inductivity extend to 72%; and that root1 (1/2MS+BA 0.5mg/L+NAA 0.5mg/L +KT0.7mg/L)cultured medium was adequate to raducation, inductivity could extend to 50%. The eventuate of this experiments would settle a fine foundation of the faster reproduction system for *Dioscorea praviiflora* C.T. Ting

Key words: *Dioscorea praviiflora* C.T. Ting; fast reproduction

小花盾叶薯蓣(*Dioscorea praviiflora* C. T. Ting)是云南特有的薯蓣资源,分布于云南省金沙江、怒江及元江等河谷地区海拔 700~1800m 的稀树灌丛或草丛中,该资源目前在云南省文山州的野生蕴藏量较大。小花盾叶薯蓣与常见的盾叶薯蓣(*Discourage zinqiberensis* C. H. Wright)形态相近,区别在于叶片卵形或卵圆形,花小,蒴果通常长圆形,皂素含量高,达 3.4%~3.9%,是合成甾体激素类药物的理想材

料^[1]。由于多年来对野生资源的破坏性采挖,小花盾叶薯蓣已面临枯竭的危险,故开展本研究。旨在筛选出适宜小花盾叶薯蓣快速繁殖的优化培养体系组合,为人工栽培提供种源保障,也可为该物种将来的品种选育提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

试材采于云南省砚山县者腊乡文山州三七研究

收稿日期:2006-01-17

基金项目:云南省中药现代化专项资助(2002ZY-2)。

作者简介:孙玉琴(1975-),女,助理研究员,主要从事三七栽培育种研究工作。

所的薯蓣基地。经陈中坚副研究员鉴定为小花盾叶薯蓣(*Dioscorea praviiflora* C. T. Ting)。外植体分别为幼叶、幼叶叶柄、带腋芽的幼茎及茎尖。

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒灭菌处理 首先将材料用中性的洗涤剂洗 3~4 次后用流水冲数分钟;再用蒸馏水冲洗 3 次,无菌环境下用 70%的酒精消毒 30s,取出后用无菌水冲洗 2~3 次;再用 0.1%的升汞溶液消毒 10min,用无菌水冲洗 4~6 次,取出用无菌滤纸吸去

表面的水分。

1.2.2 外植体的剪裁 将上述灭菌后的外植体按部位剪裁处理,叶片、茎和叶柄剪切成 1cm 左右的小片段,腋芽或茎尖 0.5~1cm 长(通过最后的情况来看茎尖要把顶芽剥出来)。

1.2.3 快繁培养基 分别选择薯蓣的两种芽培养基和两种生根培养基^[2,3]进行比较,培养基的具体配方见表 1。培养基的 pH 为 5.8、蔗糖 3%、琼脂 0.8%,将上述培养基在 121℃下高压灭菌 20min 后取出备

表 1 快繁培养基配方组成

编号	培养基组成
芽 1	B5 大量母液(50mL/L)+MS 微量母液(1mL/L)+Fe(5mg/L)+ 有机母液(10mL/L)+AgNO ₃ (10mg/L)+BA(1mg/L)+NAA(0.2mg/L)+KT(0.5mg/L)
芽 2	MS+BA(2.0mg)+NAA(0.5~1.0mg/L)
根 1	1/2MS+BA(0.5mg/L)+NAA(0.5mg/L)+KT(0.5mg/L)
根 2	MS+BA(0.5mg/L)+NAA(0.5mg/L)

用。

1.2.4 培养条件 将处理好的上述小花盾叶薯蓣外植体接种于制备好的培养基中,培养温度为 25~27℃,在暗环境下培养 30d 左右,快繁试验组视情况对其给以每天 12h 的光照,30d 以后把绿色的芽转接到生根培养基中进行根诱导培养。

2 结果与分析

2.1 培养基类型对小花盾叶薯蓣芽诱导的影响

表 2 芽诱导培养基对小花盾叶薯蓣不同外植体的诱导影响

项目	芽 1 培养基芽				芽 2 培养基			
	叶	叶柄	带腋芽茎	茎尖	叶	叶柄	带腋芽茎	茎尖
接种数	100	90	95	85	110	95	100	100
出芽数	0	0	40	36	0	0	72	59
芽诱导率(%)	0	0	42.1	42.4	0	0	72	59

部分诱导出愈伤,其余的全部褐化死亡。

两种芽诱导培养基对不同外植体的诱导影响见表 2。结果表明,小花盾叶薯蓣用叶和叶柄不能直接诱导芽;芽诱导培养基对不同外植体的诱导效果不同,芽 2 培养基的诱导率高于芽 1 培养基,带腋芽茎则是最好的芽培外植体,芽诱导率高达 72%,茎尖的诱导效果也比较理想,在芽 2 培养基上芽诱导率为 59%。以上结果说明芽的诱导阶段对激素的要求比较高,高浓度的 BA 及 NAA 更有利于小花盾叶薯蓣芽的诱导,这与盾叶薯蓣的研究结果一致^[2]。

接种后的带腋芽茎和茎尖在暗培养 10d 后就有白色的小突起出现,15d 后就开始长出丛生芽。叶柄和叶不能诱导出芽,培养 10d 左右就在叶的边缘有乳白色的愈伤组织形成,如果继续培养 10d 左右就会在边缘出现黑色的酚类物质,如果不及时转接,酚类物质积累太多,外植体就会死亡。把白色的愈伤组织转接到新的培养基中却生长很快;而叶柄接种以后没有明显的膨大现象,一直到 30d 左右才有一小

2.2 两种根诱导培养基对小花盾叶薯蓣生根的诱导比较

将诱导的小花盾叶薯蓣幼芽接种在生根培养基上,接种 25d 就长出白色的幼根,以后对其生长环境进行严格的控制,40d 左右其根系就完全长成。根诱导培养基对小花盾叶薯蓣的生根影响见表 3。根 1 培

表 3 根诱导培养基对小花盾叶薯蓣生根的影响

培养基	接种数	生根数	诱导率(%)
根 1	50	25	50
根 2	45	11	24.4

培养基的生根效果比根 2 培养基好,生根诱导率为 50%,添加 KT 有利于根的生成,1/2MS+BA (0.5mg/L)+NAA(0.5mg/L)+KT(0.5mg/L)培养基^[2]同样也适于小花盾叶薯蓣的生根培养。

3 讨论

3.1 芽 2 培养基(MS+BA 2.0mg+NAA 0.5~1.0mg/L)较适于小花盾叶薯蓣的芽诱导,带腋芽茎是最好的芽培外植体,芽诱导率可高达 72%;根 1 培养基(1/2MS+BA 0.5mg/L+NAA 0.5mg/L+KT 0.5mg/L)

有较好的生根效果,生根诱导率为 50%。这两种培养基可直接用于小花盾叶薯蓣的快速扩繁中。

3.2 本研究证明利用腋芽增殖是小花盾叶薯蓣种源快速扩繁的一个有效途径,直接诱导出的芽和根生长速度较快,月繁殖系数可达 3~5。晏婴才等的研究表明在培养基中加入椰汁、苹果汁、香蕉汁、水解酪蛋白等有机物有利于培养物的生长和发育^[4]。本试验的结果为小花盾叶薯蓣快繁体系的建立奠定了良好基础。

参 考 文 献

- [1]中国科学院昆明植物研究所.云南植物志[M].北京:科学出版社:716.
[2]孟玲,朱宏涛,等.盾叶薯蓣的快速繁殖[J].天然产物研究与开发,2001,12(6):17.
[3]徐向丽,刘选明,周朴华,等.盾叶薯蓣组织培养及微块茎

- 的离体诱导[J].湖南农业大学学报,2000,26(4):282-285.
[4]晏婴才,林宏辉,带其林,等.盾叶薯蓣组织培养与快速繁殖研究[J].四川大学学报(自然科学版),2002,39(1):136-139.

(上接 28 页)

表 2 不同加工处理对平贝母生物碱含量的影响

处 理	生物碱含量(%)
烘箱 45℃烘干	0.2657
烘箱 50℃烘干	0.2954
烘箱 55℃烘干	0.2556
水洗日晒	0.2367
不洗日晒	0.2454

由表 2 可看出,不同处理加工干品生物碱含量不同。烘箱烘干品中的生物碱含量均比水洗日晒和不洗日晒两个处理高,其中 50℃干燥品生物碱含量最高,为 0.2954%,比不洗日晒 0.2454%高 0.05 个百分点;比水洗日晒 0.2367%高 0.0587 个百分点。

3 小结与讨论

那晓婷等^[2]提到炕干加工平贝母温度在 40℃左右为宜,烘干温度保持在 55~60℃;张宜军等^[3]提到平贝母炕干加工温度为 35~50℃;胡伟建等^[4]提到平贝母烘干加工温度保持在 50~55℃;刘兴权等^[5]提到

平贝母烘干加工温度为 45~55℃,最高不能超过 60℃。

作者为了探索不同加工方法对平贝母折干率和质量的关系,在上述加工温度基础上,进行了日晒和烘干加工方法试验。试验结果表明,烘箱烘干法 3 个温度的干品,其生物碱含量及外观颜色均好于不洗日晒和水洗日晒两种方法加工的干品,其中不同温度间以 50℃烘干为佳,折干率和生物碱含量均好于其他两个温度;不洗日晒虽生物碱含量稍低些,但是从折干率和外观颜色与烘干品相似;水洗日晒虽折干率高些,但是从外观颜色和生物碱含量均不如其他两种加工方法。经不同处理加工的干品进行生物碱含量、折干率、及外观颜色综合分析,可以看出,烘箱烘干加工方法优于不洗日晒和水洗日晒加工方法,不洗日晒优于水洗日晒。有条件的生产单位及平贝母商品的大批量加工以烘干室烘干为好,最佳温度为 50℃;生产中大批量加工可以采用不洗日晒加工方法;水洗日晒加工方法不宜采用。

参 考 文 献

- [1]邢卫,赵勤.不同产地贝母总生物碱含量的比较[J].河北医科大学学报,1998,(19)5:305-306.
[2]那晓婷,等.平贝母的栽培及加工技术[J].中国林副特产,2001,(2):33.
[3]张宜军,等.寒地平贝母丰产栽培技术[J].中国林副特产,

- 1995,(2):14-15.
[4]胡伟建,等.贝母套种栽培及加工技术[J].中国野生植物资源,2002,(21)5:64-65.
[5]刘兴权,等.平贝母细辛无公害高效栽培与加工[M].北京:金盾出版社,2003.