

野葛的组织培养和植株再生*

于树宏 李玲

(华南师范大学生物系, 广州 510630)

Tissue culture of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi and plantlet regeneration Yu Shuhong, Li Ling (Department of Biology, South China Normal University, Guangzhou, 510630), *J. Plant Resour. & Environ.* 1999, 8(1): 63~64

The tissue culture of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi leaf and stem explants are successful for callus induction, and the mature leaf is the best one for forming callus. The combination of NAA 1.0 mg/L and BA 3.0 mg/L as an induced medium is optimum for the formation of the calli. The suitable medium for bud formation is MS medium added BA 2.0 mg/L, AgNO₃ 4.24 g/L and 4-PU 0.5 mg/L; 1.0 mg/L NAA is effective to induce root; PP₃₃₃ can promote the growth of test-tube plantlets *in vitro*.

关键词 野葛;组织培养;脱分化;试管苗

Key words *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi; tissue culture; dedifferentiate; test-tube plantlets

野葛 [*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi] 为豆科多年生缠绕藤本植物, 分布遍及全国, 主产南方^[1], 可药食两用, 其块根肥厚, 富含淀粉、蛋白质、钙、磷、铁及脂肪酸等, 还含有多种异黄酮类化合物, 对治疗心绞痛、高血压、冠心病, 抑制肿瘤等效果显著^[2,3], 在国内外市场上销路很好。

目前人们对野葛的开发利用还主要来自于野生资源, 虽然有部分地区进行人工栽培, 但规模较小, 不能满足市场需求。关于野葛的组织培养国内外尚无报道, 为此进行了野葛的组织培养研究, 旨在为野葛的快速繁殖提供理论及实践依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 取野外健壮生长的野葛幼叶、成熟叶及茎段作外植体。

1.2 培养基配方 以 MS 为基本培养基, 附加蔗糖 30 g/L, 琼脂 8 g/L, pH 5.8~6.0。(I) 诱导愈伤组织培养基: MS + NAA 1.0 mg/L + BA 3.0 mg/L; (II) 丛生芽诱导培养基: MS + BA 2.0 mg/L + AgNO₃ 4.24 g/L; 芽增殖培养基 MS + 4-PU 0.5 mg/L; (III) 生根培养基: MS + NAA 1.0 mg/L; (IV) 壮苗培养基: MS + PP₃₃₃ 1.0 mg/L。

1.3 培养条件 温度: 25±1℃; 光照: 1 500 lx 左右, 12 h/d。

1.4 培养过程 叶片和茎段用含少量 Tween-80 的洗涤剂浸泡 10 min, 自来水洗净后, 分别用 70% 乙醇表面消毒 30 s 和 0.1% 升汞液消毒 10 min, 无菌水冲洗 5~6 次。将叶片剪成 5 mm 小块, 茎段切成 1 cm 的小段, 分别接种到诱导培养基上。当愈伤细胞团长到 8~10 mm 大小时, 转移到丛生芽培养基上, 愈伤细胞团再分化成丛状不定芽; 丛生芽成苗至 5~6 片叶, 苗高 3~4 cm 时, 转入生根培养基中诱导不定根, 经 PP₃₃₃ 处理 2 周后, 苗叶色变深, 根系发达, 生长健壮, 移出室外栽培。

* 广东省重点科技攻关项目资助课题

于树宏: 女, 1973 年 5 月生, 硕士生, 细胞工程及其应用专业。

收稿日期 1998-12-14

2 结果与讨论

2.1 愈伤组织的诱导 已消毒的幼叶、成熟叶及茎段分别接种于培养基 I 上, 4~5 d 后愈伤组织开始萌动, 2 周后已有明显愈伤组织发生(图 1)。3 种外植体的愈伤组织形成率分别为 20.9%、94.7% 及 89.3%, 说明成熟叶片最适于诱导愈伤组织, 其次为幼嫩的茎段。愈伤组织多发生于叶片边缘及中脉处, 颜色嫩绿, 质地较松散。

2.2 丛生芽的诱导与增殖 切取由成熟叶片诱导形成的嫩绿松脆的愈伤组织(培养 2 周)并转入培养基 II, 25 d 左右出现鲜绿色芽点, 最高分化率达 44.1%。随着培养时间的延长, 愈伤组织逐渐褐化, 外周出现白色絮状松散物, 内部则为实硬块状, 难以再进行分化。分化形成的不定芽继而转入增殖培养基中, 1 周后芽迅速生长成幼苗, 茎秆细长, 叶色绿。且每株幼苗又增生许多不定芽, 平均繁殖系数为 5~8。切取新生芽(0.5~1 cm)再接入该培养基中, 又可增殖出大量的不定芽, 因此在增殖培养基上反复继代培养, 可获大量所需的幼芽及嫩苗。

2.3 不定根的诱导 切取株高 2~3 cm 的无根苗移入浓度分别为 0、0.1、0.5、1.0、5.0、10.0 mg/L 的 NAA 生根培养基中, 7、14 和 21 d 后观察生根情况。结果表明, 无根苗在 NAA 1.0 mg/L 的培养基中生长 21 d 后, 生根效果最好, 生根率 100%, 诱根频率 10.09, 根系旺盛, 分支多而细长。

2.4 壮苗及移栽 当再生苗长至 2~3 cm 高时, 移入培养基 IV 中, 1 周后叶色变为深绿, 鲜叶片叶绿素含量达 1 081.72 $\mu\text{g/g}$; 根短粗, 浅褐色, 密集生长, 平均每株 10~15 条; 株型紧凑, 矮小。培养基中添加 1.0 mg/L 生长延缓剂 PP₃₃₃ 后使得再生苗生长更加健壮, 活力更高。待小苗长至 4~5 cm 时即可出瓶移栽。此试管苗不需炼苗, 取出后移栽于装有经过消毒的河沙的花盆中, 置于半阴处, 每天浇透水 1 次^[4], 成活率达 100%, 经 20 d 左右可完全露地生长(图 2)。

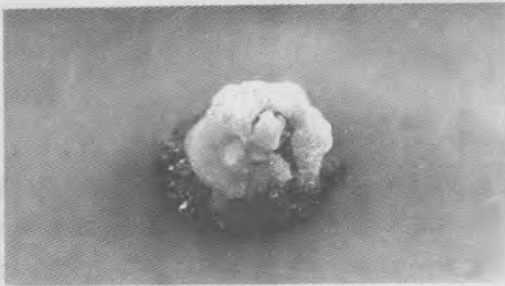


图 1 从野葛成熟叶片外植体诱导形成的愈伤组织
Fig 1 Callus from the mature leaf explants of *Pueraria lobata*



图 2 移栽成活的野葛再生植株
Fig 2 The survival plantlets of *Pueraria lobata*

参 考 文 献

- 1 冯瑞芝, 陈碧珠, 连文球, 等. 葛根的资源调查. 中国药学杂志, 1993, 28(5): 273~275.
- 2 郭建平, 孙其荣, 周 全. 葛根药理作用研究进展. 中草药, 1995, 26(3): 163~165.
- 3 Koichi Takeya, Hideji Itokawa. Isoflavonoids and the other constituents in callus tissues of *Pueraria lobata*. Chem Pharm Bull, 1982, 30(4): 1496~1499.
- 4 黎玉才. 葛根的经济价值及栽培加工技术. 国土与自然资源研究, 1994, 3: 40.