

# 走马胎不同类型材料的继代增殖及生根特征<sup>\*</sup>

郭丽君, 唐凤鸾<sup>\*\*</sup>, 赵 健<sup>\*\*</sup>

(广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西桂林 541006)

**摘要:** 研究走马胎(*Ardisia gigantifolia*)不同类型材料对种苗组培快繁中继代增殖和生根诱导的影响, 为其规模化生产提供科学依据。以茎段萌发腋芽、叶片诱导不定芽和叶片细小茎段为试验材料, 测量记录继代培养的增殖系数、苗高、鲜质量和茎叶生长情况, 以及生根培养的生根率、根系和植株生长情况等, 并采用隶属函数法分析评价走马胎不同类型材料继代增殖和生根培养情况。研究表明: 在走马胎继代增殖和生根培养中, 腋芽培养效果最好, 叶片细小茎段效果最差; 在继代增殖中, 腋芽培养的各项指数基本达到叶片诱导不定芽和叶片细小茎段的 1.5 倍以上, 在生根培养中, 腋芽培养的各项指数也达到其他两类材料的 1.3 倍以上; 综合评价排序均为腋芽 > 叶片诱导不定芽 > 叶片细小茎段。腋芽为最佳培养材料, 可用于走马胎组培苗工厂化生产。

**关键词:** 走马胎 材料类型 增殖培养 生根培养 综合评价

中图分类号: S793.9 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2020)04-0400-06

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20200622.001

## 0 引言

走马胎(*Ardisia gigantifolia*)为紫金牛科(Myrsinaceae)紫金牛属(*Ardisia*)常绿直立小灌木, 是我国传统的中草药, 有消肿止痛、祛风活血等功效<sup>[1-2]</sup>。走马胎富含三萜皂苷类化合物和岩白菜素衍生物等有效成分<sup>[3-5]</sup>, 药效确切, 应用面广, 市场需求大, 但野生资源匮乏<sup>[6]</sup>。采用植物组织培养技术进行走马胎种苗生产, 可同时满足市场需求和资源保

护<sup>[2,7]</sup>两方面的要求。诱导顶芽或侧芽萌发形成再生植株的方式, 能较好地保持亲本材料的优良性状<sup>[8]</sup>, 但繁殖速度可能不及诱导丛生芽; 而通过诱导叶片或愈伤组织可形成大量丛生芽, 大幅提高繁殖速度, 但经过脱分化的培养材料变异风险增加; 同时在植物组织培养过程中, 通常会出现材料生长不一致现象, 导致材料外观形态不同, 这种现象使不同物种的后续培养表现出较大差异。因此, 研究走马胎不同类型材料对增殖和生根的影响, 对促进走马胎组培苗规

<sup>\*</sup> 广西科技计划项目(桂科 AB16380212), 广西植物功能物质研究与利用重点实验室自主研究课题(ZRJJ2018-6)和广西科学院基本科研业务费项目(2019YJJ1008)资助。

### 【作者简介】

郭丽君(1992—), 女, 硕士, 研究实习员, 主要从事植物生理与分子生物学研究。

### 【\*\*通信作者】

唐凤鸾(1978—), 女, 副研究员, 主要从事植物生理及生物技术研究, E-mail: 1251657759@qq.com; 赵 健(1963—), 男, 副研究员, 主要从事植物栽培与技术推广研究, E-mail: 358788030@qq.com。

### 【引用本文】

郭丽君, 唐凤鸾, 赵健. 走马胎不同类型材料的继代增殖及生根特征[J]. 广西科学, 2020, 27(4): 400-405.

GUO L J, TANG F L, ZHAO J. Subproliferation and Rooting Characteristics of Different Types of Materials in *Ardisia gigantifolia* [J]. Guangxi Sciences, 2020, 27(4): 400-405.

模化生产具有重要意义。

已有文献对走马胎组织培养进行了报道。唐凤鸾等<sup>[9]</sup>、蔡时可等<sup>[10]</sup>和王强等<sup>[11]</sup>以走马胎幼苗嫩茎为材料,分别通过腋芽增殖的方式进行腋芽诱导、不定芽诱导和生根培养,前两者筛选出的最适培养基分别为MS培养基、MS培养基和1/2 MS培养基,两者的培养基成分及浓度均有差异,后者筛选出的最适培养基分别为木本植物用培养基(WPM培养基)、WPM培养基和MS培养基。符运柳等<sup>[7]</sup>采用走马胎嫩叶诱导愈伤组织后分化形成的不定芽进行继代增殖和生根培养,均筛选出最适MS培养基,其中愈伤组织诱导培养基与唐凤鸾等<sup>[9]</sup>的腋芽诱导培养基仅6-苄氨基嘌呤(6-BA)和萘乙酸(NAA)的浓度不同;而与蔡时可等<sup>[10]</sup>的腋芽诱导培养基6-BA的浓度相同,但其他植物生长激素和浓度均不同;其MS生根培养基与蔡时可等<sup>[10]</sup>的1/2 MS培养基中激素均为NAA和吲哚乙酸(IBA),但浓度均不同;使用到的其他培养基在成分及浓度上与其均有差异。前人对走马胎组培快繁的研究主要集中在腋芽、不定芽增殖和生根培养的培养基、培养条件筛选及优化,而针对走马胎诱导萌发后,不同类型材料的继代增殖和生根特征研究却未见报道。本研究分析走马胎3种不同类型材料继代增殖和生根培养各指标的特征,然后采用隶属函数法对各指标进行综合评价,进一步丰富走马胎的组织培养技术,为走马胎的种苗繁育及生产提供技术参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

供试材料为以桂林周边地区野生走马胎植株的幼嫩枝条为亲本,经启动、增殖培养获得的无菌瓶苗。以生长健壮、叶片宽厚、色泽纯正的植株茎段即腋芽为材料1;诱导无菌瓶苗健康幼嫩叶片形成的不定芽为材料2;增殖培养过程中出现频率相对较高、叶片细长、叶色偏浅的植株茎段为材料3。将3类材料剪成长2—3 cm、带1—2个腋芽的茎段,继代增殖培养时材料不带叶片,生根培养时材料带1—2片半张叶,备用。

### 1.2 方 法

将材料分别接种于继代培养基(MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA)和生根培养基(1/2 MS+1.5 mg/L IAA+1.0 mg/L NAA)

中,培养基附加30 g/L蔗糖和6.0 g/L琼脂,pH值为5.5—6.0<sup>[9]</sup>,每个处理接种20瓶,每瓶接种15个茎段,平行3次。培养室光源采用光照强度为40—60  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的日光灯,光照时间为12 h/d,培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。

接种50 d后,对继代材料的苗高、鲜质量、茎节长、增殖系数、叶片长和宽,以及生根材料的生根率、主根数、根长、苗高、叶片长和宽等参数进行测量记录。平均苗高=茎长总和/苗数,茎节长选取苗中部1—2节进行测定,增殖系数=增殖后苗数(株)/增殖前苗数(株),生根率(%)=(生根苗数/接种苗总数) $\times 100\%$ ,主根数为苗茎基部长出的根条数,平均根长=主根总长度/总根数。

### 1.3 统计 分析

采用Excel 2013和SPSS 21.0软件对试验数据进行统计分析,用Duncan's新复极差法进行显著性分析。采用模糊数学隶属函数法<sup>[12]</sup>综合评价走马胎不同类型材料对种苗组培中增殖与生根的影响,各指标均采用隶属函数公式计算其函数值,并赋予相同的权重值。隶属函数值 $U(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$ ,式中*i*为测定因子, $i = (1, 2, \dots, n)$ , $X_i$ 为第*i*个因子的测定值, $X_{\max}$ 和 $X_{\min}$ 分别为所有参试材料的第*i*个因子的最大值和最小值。

## 2 结果与 分析

### 2.1 继代增殖特征

走马胎不同类型材料继代增殖培养的各项指标间的差异比较明显。从表1可以看出,苗高度依次为材料1>材料3>材料2,其余指标均为材料1>材料2>材料3。材料1的增殖系数分别是材料2和材料3的1.18倍和1.48倍,苗高为1.86倍和1.78倍,鲜质量为1.98倍和4.74倍,茎节长为1.79倍和1.98倍,叶片长为1.19倍和1.90倍,叶片宽为1.06倍和2.24倍。材料1的增殖系数与材料3差异显著,而材料2和材料3间差异不显著;材料1的苗高、茎节长与其他材料差异显著,3类材料间鲜质量均差异显著;材料3叶片长、宽与材料1、材料2均差异显著,而材料1和材料2差异不显著。材料1的植株茎干粗壮,叶大且多,色泽纯正,生长良好;材料2茎略细,叶较大且较多,茎叶色泽纯正;材料3茎细弱,茎色较浅,叶片细小且少,叶色偏浅(图1)。

表 1 走马胎不同类型材料组培苗继代增殖的各指标比较

Table 1 Comparison on the subproliferation indexes in tissue culture seedlings of *A. gigantiifolia* of different types of materials

材料 Material	增殖系数 Proliferation coefficient	苗高 Height of plantlet (cm)	鲜质量 Fresh weight (g)	茎节长 Length of stem node (cm)	叶片长 Length of leaf (cm)	叶片宽 Width of leaf (cm)
1	2.07±0.04a	7.46±0.30a	1.09±0.07a	1.09±0.03a	2.80±0.20a	1.50±0.11a
2	1.76±0.21ab	4.02±0.42b	0.55±0.07b	0.61±0.07b	2.36±0.24a	1.41±0.16a
3	1.40±0.10b	4.20±0.15b	0.23±0.02c	0.55±0.05b	1.47±0.13b	0.67±0.05b

注:同一指标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )

Note: Different lowercase letters in the same index indicate significant difference ( $P<0.05$ )



图 1 走马胎继代增殖组培苗

Fig. 1 Tissue culture seedlings of subproliferation in *A. gigantiifolia*

## 2.2 生根培养特征

由表 2 可以看出,走马胎不同类型材料组培苗生根率、主根数、叶片长和宽的大小排序均为材料 1>材料 2>材料 3,苗高排序依次为材料 1>材料 3>材料 2,根长排序依次为材料 2>材料 1>材料 3。材料 1 的生根率为 93.89%,分别是材料 2 和材料 3 的 1.39 倍和 1.75 倍,苗高为 1.42 倍和 1.19 倍,主根数为 1.15 倍和 1.26 倍,叶片长为 1.41 倍和 1.63 倍,叶片宽为 1.30 倍和 2.07 倍。3 类材料的生根率和叶片宽均差异显著,材料 1 的苗高和叶片长与材料

2 差异显著,而其叶片长与材料 3 差异显著,但 3 类材料的主根数均差异不显著。

材料 1 的主根多,数量为 3—5 条;侧根较少且较短,数量 2—15 条,长 0.1—2.0 cm;茎粗壮,叶大且多,茎叶色泽纯正。材料 2 的主根较多,数量为 3—4 条;侧根多且较长,数量 6—25 条,长 0.1—3.0 cm;茎略细,叶较大,数量少,茎叶色泽纯正。材料 3 的主根少,数量为 2—3 条;侧根少且短,数量 1—2 条,长 0.1—0.5 cm;茎细弱且茎色偏浅,叶小且较少,叶色偏浅(图 2)。

表 2 走马胎不同类型材料组培苗生根培养的各指标比较

Table 2 Comparison on the rooting culture indexes in tissue culture seedlings of *A. gigantiifolia* of different types of materials

材料 Material	生根率 Rooting rate (%)	苗高 Height of plantlet (cm)	主根数 Number of main root	根长 Length of root (cm)	叶片长 Length of leaf (cm)	叶片宽 Width of leaf (cm)
1	93.89±3.13a	3.79±0.28a	3.37±0.40a	4.78±0.13ab	3.76±0.21a	2.36±0.22a
2	67.59±2.15b	2.67±0.32b	2.92±0.23a	5.20±0.38a	2.66±0.02b	1.81±0.03b
3	53.67±2.33c	3.19±0.11ab	2.68±0.33a	3.14±0.87b	2.31±0.11b	1.14±0.03c

注:同一指标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )

Note: Different lowercase letters in the same index indicate significant difference ( $P<0.05$ )



图2 走马胎生根组培苗

Fig. 2 Tissue culture seedlings of rooting in *A. giganti folia*

### 2.3 增殖与生根的综合评价

3种走马胎材料组培苗增殖与生根的各指标综合评价结果表明,隶属函数平均值排序均为材料1>材料2>材料3,即为综合评价排序。继代增殖各指标

隶属函数值均为材料1最高;生根培养指标除根长的隶属函数值为材料1低于材料2外,其他各指标隶属函数值均为材料1最高。除苗高外,材料3的其他指标隶属函数值均为材料1最低(表3-4)。

表3 走马胎不同类型材料组培苗继代增殖的各指标加权隶属函数值

Table 3 The weighted subordinate function values of the subproliferation indexes in tissue culture seedlings of *A. giganti folia*

材料 Material	增殖系数 Proliferation coefficient	苗高 Height of plantlet	鲜质量 Fresh weight	茎节长 Length of stem node	叶片长 Length of leaf	叶片宽 Width of leaf	平均值 Average value
1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
2	0.543	0.000	0.369	0.669	0.899	0.125	0.434
3	0.000	0.053	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009

表4 走马胎不同类型材料组培苗生根培养的各指标加权隶属函数值

Table 4 The weighted subordinate function values of the rooting culture indexes in tissue culture seedlings of *A. giganti folia*

材料 Material	生根率 Rooting rate	苗高 Height of plantlet	主根数 Number of main root	根长 Length of root	叶片长 Length of leaf	叶片宽 Width of leaf	平均值 Average value
1	1.000	1.000	1.000	0.795	1.000	1.000	0.966
2	0.346	0.000	0.355	1.000	0.241	0.548	0.415
3	0.000	0.465	0.000	0.000	0.000	0.000	0.078

## 3 讨论

组织培养技术已广泛应用于植物种苗繁育。前人主要侧重于快速繁殖体系的建立及培养基的优化<sup>[7-11,13-15]</sup>,对增殖和生根诱导材料的比较研究未见报道。本研究以腋芽、叶片诱导不定芽和叶片细小茎段为培养材料,对走马胎组培苗增殖和生根特征进行研究。结果表明:在走马胎的继代增殖中,腋芽各指标数值均为最大值,为其他材料的1.5倍以上,其中鲜质量和叶片宽分别高达叶片细小茎段的4.74倍和2.24倍。除苗高外,叶片细小茎段的各指标数值均为最小值,说明不同途径诱导形成的材料对走马胎组培苗增殖的影响较大;叶片诱导形成不定芽的苗高、

鲜质量和茎节长均与腋芽差异显著,叶片细小茎段各指标与腋芽均差异显著,且隶属函数法综合评价结果为腋芽最优,与唐凤鸾等<sup>[9]</sup>报道的走马胎腋芽诱导结果相似。

在生根培养中,不同途径诱导形成的材料对走马胎组培苗生根的影响较大。叶片诱导不定芽的根长为最大值,其余各指标的最大值均为腋芽,且为其余两类材料的1.3倍以上,其中生根率和叶片宽分别为叶片细小茎段材料的1.75倍和2.07倍。除苗高外,叶片细小茎段的各指标数值均为最小值。叶片诱导不定芽和叶片细小茎段的生根率均较低,根数较少;叶片诱导不定芽的根长过长,为最大值。评判生根培养是否成功的关键因素是生根率、根数和根长,最好

的生根效果是生根率较高、根数较多和根长适中<sup>[8]</sup>。隶属函数法综合评价的结果为腋芽最优,其次是叶片诱导不定芽,最差的是叶片细小茎段。说明在走马胎组培育苗中,3种材料中腋芽为最佳接种材料,可用于走马胎组培育苗工厂化生产,叶片诱导不定芽和叶片细小茎段不宜作为接种材料,以节省接种用时并提高接种效率和质量。

#### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编写委员会. 中国植物志: 第 27 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 93.
- [2] 魏蓉, 贡建全, 谢思明, 等. 走马胎资源与利用研究进展[J]. 广东林业科技, 2015, 31(5): 94-98.
- [3] 穆丽华, 赵海霞, 龚强强, 等. 走马胎中的三萜皂苷类成分及其体外抗肿瘤活性研究[J]. 解放军药学报, 2011, 27(1): 1-6.
- [4] 穆丽华, 张静, 刘屏. 走马胎三萜皂苷衍生物的生物转化制备及其抗肿瘤活性研究[J]. 中草药, 2018, 49(6): 1266-1271.
- [5] 戴卫波, 董鹏鹏, 梅全喜, 等. 走马胎石油醚提取物抗炎风湿性关节炎的作用机制[J]. 中药材, 2018, 41(2): 459-463.
- [6] 毛世忠, 邓涛, 唐文秀, 等. 广西紫金牛属野生观赏植物的综合评价[J]. 广西植物, 2012, 32(4): 501-506.
- [7] 符运柳, 徐立, 李志英, 等. 走马胎离体培养及植株再生[J]. 北方园艺, 2017(4): 98-101.
- [8] 孙英坤, 胡绍庆, 庞基良, 等. 珍稀濒危物种董叶紫金牛高效快繁体系的建立[J]. 植物学报, 2017, 52(6): 764-773.
- [9] 唐凤鸾, 赵健, 赵志国, 等. 走马胎的组织培养与快速繁殖[J]. 植物学报, 2019, 54(3): 378-384.
- [10] 蔡时可, 梅瑜, 顾艳, 等. 走马胎的离体培养与快速繁殖[J]. 广东农业科学, 2019, 46(10): 7-12.
- [11] 王强, 陈国华, 陈冬怡, 等. 民族药用植物走马胎快繁技术[J]. 农业工程, 2019, 9(4): 104-110.
- [12] 张静, 杨旭东, 郭丽君, 等. 利用隶属函数法分析葛根种质资源品质的研究[J]. 中药材, 2017, 40(6): 1314-1317.
- [13] 白宇清, 王定跃, 谢利娟. 毛棉杜鹃茎段组织培养技术的研究[J]. 北方园艺, 2020(8): 66-73.
- [14] 田亚, 徐志超, 胡开治, 等. 梔子叶片愈伤组织诱导优化研究[J]. 世界中医药, 2020, 15(9): 1275-1278.
- [15] 柯义强, 郭鹏辉, 马洪鑫, 等. 兰州百合组培快繁体系的构建[J]. 浙江农业学报, 2020, 32(6): 1002-1010.

## Subproliferation and Rooting Characteristics of Different Types of Materials in *Ardisia gigantifolia*

GUO Lijun, TANG Fengluan, ZHAO Jian

(Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China)

**Abstract:** We studied the effects of different culture materials on the subproliferation and rooting induction of the rapid propagation in the tissue culture seedlings of *Ardisia gigantifolia* to provide scientific basis for its large-scale production. Axillary buds germinated from stem segments, adventitious shoots induced by leaves and stem segments with thin and small leaves were used as test materials. After subculture, the proliferation coefficient, the height of plantlet, fresh weight and the growth situation of stem and leaf were observed and recorded. After rooting culture, the rooting rate and the growth situation of root and plantlet were determined. At the same time, the situation of the sub-proliferation and rooting culture on different types of materials in *A. gigantifolia* were comprehensively evaluated by the method of subordinate function. The results showed that in the sub-proliferation and rooting culture of *A. gigantifolia*, the effect of axillary bud culture was the best, and the effect of stem segments with thin and small leaves was the worst. The indexes of axil-

lary bud culture were more than 1.5 times of the adventitious shoot materials induced by leaves and the stem segment materials with thin and small leaves in general on the sub-proliferation, the values of the axillary bud materials were also more than 1.3 times of the other two types of materials in general on the rooting culture. The order of comprehensive evaluation was as follows; Axillary buds > adventitious shoots induced by leaves > stem segments with thin and small leaves. Axillary buds were the best inoculating materials, which could be used in factory production of tissue culture seedlings on *A. gigantiifolia*.

**Key words:** *Ardisia gigantiifolia*, material types, proliferation culture, rooting culture, comprehensive evaluation

责任编辑: 陆雁

(上接第 399 页 Continued from page 399)

## Analysis and Evaluation of Dynamic Accumulation of Active Components in Two Kinds of *Camellia* Tea Leaves

PENG Jianling<sup>1,2</sup>, LI Meiling<sup>1,2</sup>, CHAI Shengfeng<sup>1</sup>, ZHU Chenghao<sup>1</sup>, LIU Zhixin<sup>3</sup>,  
DENG Jiagang<sup>4</sup>

(1. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China; 2. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi, 541006, China; 3. Guangxi Guirentang Golden *Camellia* Tea Industry Group Co., Ltd., Fangchenggang, Guangxi, 538021, China; 4. Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Nanning, Guangxi, 530200, China)

**Abstract:** The dynamic accumulation of the main active components in the leaves of *Camellia nitidissima* and *C. euphlebia* was explored to provide a theoretical basis for the reasonable picking of two kinds of *Camellia*. Using the *C. nitidissima* and *C. euphlebia* of Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences as test materials, Spectrophotometric method was used to determine the dynamic changes of the main active components of tea polyphenols, total saponins, total flavonoids, and total polysaccharides during the process from leaves tip to maturity (November to October of the following year), and the comprehensive evaluation was carried out by the method of efficiency coefficient. The comprehensive evaluation score of the four active components of *C. euphlebia* was higher from January to February, with the highest in February. The contents of tea polyphenols, total saponins, total flavonoids and total polysaccharides were 3.387%, 8.382%, 3.779% and 2.786%, respectively. While the comprehensive score of *C. nitidissima* was higher from August to October, with the highest in September. The contents of the four active components were 1.578%, 3.955%, 1.875% and 2.389%, respectively. The suitable harvest period of *C. euphlebia* was from January to February, and February was the best. The suitable harvest period of *C. nitidissima* was from August to October, and September was the best.

**Key words:** *Camellia nitidissima*, *Camellia euphlebia*, active ingredients, dynamic, evaluation

责任编辑: 陆雁