

· 技术方法 ·

## 西印度醋栗组培快繁技术初探

李彤<sup>1</sup>, 李楚然<sup>1</sup>, 张芷瑜<sup>1</sup>, 付晓漫<sup>1</sup>, 刘云<sup>1</sup>, 张颖君<sup>2\*</sup>, 杨力颖<sup>3</sup>, 赵平<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>西南林业大学西南地区林业生物质资源高效利用国家林业和草原局重点实验室, 昆明 650224; <sup>2</sup>中国科学院昆明植物研究所植物化学与天然药物重点实验室, 昆明 650201; <sup>3</sup>云南新兴绿化工程有限公司, 昆明 650228

**摘要** 西印度醋栗(*Phyllanthus acidus*)是一种生长于热带地区的乔木, 兼具食用和药用价值, 开展其组培快繁技术研究, 可促进其资源的持续开发与利用。以西印度醋栗茎尖为外植体, 对初代培养、继代增殖培养及生根培养方案进行初步筛选。结果表明, 初代培养最适培养基为MS+2.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA, 外植体诱导萌发率达81.11%; 继代增殖最适培养基为MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> IBA, 增殖系数达1.86; 最适生根培养基为MS+1.5 mg·L<sup>-1</sup> IBA, 生根率达83.00%; 炼苗7天后移栽, 移栽基质为珍珠岩:泥炭土:腐殖质=1:1:1 (v/v/v), 成活率为90%。从接种外植体到获得再生植株约90天。研究结果为西印度醋栗的资源保护与产业化应用提供了技术支持。

**关键词** 西印度醋栗, 组织培养, 快速繁殖

李彤, 李楚然, 张芷瑜, 付晓漫, 刘云, 张颖君, 杨力颖, 赵平 (2025). 西印度醋栗组培快繁技术初探. 植物学报 60, 611–620.

西印度醋栗(*Phyllanthus acidus*)是一种大戟科(Euphorbiaceae)叶下珠属(*Phyllanthus*)热带植物, 原产自马达加斯加岛, 主要分布于泰国、印度、越南和巴西等国家, 在我国云南有引种栽培(Andrianto et al., 2017)。该植物具有较高的药用价值, 在热带、亚热带地区得到广泛应用(罗丹丹等, 2017; Tan et al., 2020)。其叶片可用于治疗发烧、痔疮、天花、瘙痒和牙龈感染, 根可用于退热和治疗皮炎, 茎皮还可以缓解女性月经期间的发热(Longuefosse and Nossin, 1996; Leeya et al., 2010)。此外, 西印度醋栗的果实不仅富含多种营养成分和微量元素, 还具有抗炎和抗氧化作用(罗丹丹等, 2017; Huy et al., 2018; 普天磊等, 2023)。由于其广泛的药理活性, 近年来已对西印度醋栗的化学成分及生物活性进行了深入研究(Chakraborty et al., 2012; 顾晨, 2019; Panda and Mishra, 2021; Shimu et al., 2021; Xu et al., 2023; 侯润庚等, 2023; Zhu et al., 2024)。西印度醋栗含有萜类、黄酮类及生物碱等多种成分, 部分化合物在抗肿瘤细胞毒性、抗乙肝病毒、抗氧化、保肝和抑菌等

多方面表现出显著的生物活性(凌雪等, 2015; Tan et al., 2020; 胥佳等, 2021; Geng et al., 2021)。

西印度醋栗作为开发新药和保健品的重要天然资源, 具有巨大的应用潜力。但在西印度醋栗的繁育过程中仍存在种子萌发率低以及种苗繁育速度慢等问题, 限制了其在食品和医药方面的开发利用(张小斌等, 2018; 陈剑英和邓桂香, 2024)。植物组织培养技术是一种高效、稳定的植物繁殖方法, 已广泛应用于资源植物的快速繁殖。尽管国内外已有关于叶下珠属其它植物组织培养的研究, 但是对于西印度醋栗组培快繁的研究报道较少(张守英等, 2002; 黄雯等, 2017)。因此, 本研究以西印度醋栗茎尖为外植体, 对其组培快繁方法进行探究, 旨在为该植物的种质资源保护提供技术支持, 促进对其进一步综合开发利用。

### 1 植物材料

以西南林业大学人工气候箱内一年生种播西印度醋栗(*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels)苗幼嫩茎尖为试

收稿日期: 2024-07-23; 接受日期: 2024-12-26

基金项目: 国家自然科学基金(No.32270426, No.82074124)

\* 通讯作者。E-mail: zhangyj@mail.kib.ac.cn; hypzhao2022@163.com

验材料,于2023年6月采集外植体,备用。

## 2 培养基成分与培养条件

### 2.1 培养基成分

以MS (Murashige and Skoog, 1962)为基本培养基,添加 $7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂和 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖,调整pH为5.8–6.0。经过 $121^\circ\text{C}$ 高压灭菌20分钟后进行分装,备用。

### 2.2 培养条件

培养温度为 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ ;光照强度为 $1\ 000\text{--}1\ 500\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ;光周期为12小时光照/12小时黑暗。

### 2.3 外植体消毒

选择生长健壮、长度为2–3 cm且带有茎尖的西印度醋栗茎段,在保留一部分叶柄的前提下剪除外植体上的叶片,用含洗洁精的水溶液浸泡30–60秒,流水冲洗1–2小时,用75%乙醇溶液消毒30秒,0.1%升汞溶液消毒15分钟,无菌水清洗4–5次,用无菌纸擦干水分后在超净工作台上切割带有1个茎节点长度为1 cm的茎尖,接种到初代培养基上。

### 2.4 初代培养试验

#### 2.4.1 不同植物生长调节剂配比对西印度醋栗腋芽诱导的影响

采用添加不同质量浓度的6-BA (0.5、1.0和 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )和NAA (0.1、0.2和 $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )配比的培养基进行腋芽诱导。将灭菌后的外植体分别接种于不同植物生长调节剂配比的培养基上,每组处理接种15瓶,重复3次,每瓶接种2个外植体。每次观察间隔5天,培养25天后记录并统计腋芽的诱导情况。

#### 2.4.2 不同基础培养基对西印度醋栗腋芽诱导的影响

经过筛选获得最适合腋芽诱导生长的激素配比后,对比MS、1/2 MS和1/3 MS培养基的诱导效果,共进行3组处理,每组处理接种15瓶,重复3次,每瓶接种2个外植体。每次观察间隔5天,培养25天后记录并统计腋芽的诱导情况。

### 2.5 继代与增殖培养试验

采用不同质量浓度的IBA (0.1、0.2和 $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )和

$1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA配比的培养基。经过腋芽诱导的组培苗生长至2 cm时,将其切割成带有1个腋芽的茎段,并接种到不同植物生长调节剂配比的继代培养基中。每个处理接种15瓶,重复3次,每瓶接种2个茎段。每次观察间隔5天,培养25天后记录并统计丛生芽的增殖情况。

### 2.6 生根培养试验

采用不同质量浓度的NAA (0.5、1.0和 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )和IBA (0.5、1.0和 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )配比的培养基。当继代增殖的组培苗生长至3 cm时,切去其基部的愈伤组织,然后接种到不同处理的生根培养基中,每个处理接种10瓶,每瓶接入1株组培苗,重复3次。每次观察间隔5天,30天后记录并统计生根情况。

### 2.7 炼苗与移栽

当组培苗生长至苗高3–5 cm、根长3 cm时,将其移入温室大棚炼苗,7天后从培养瓶中取出,将根部的培养基洗净,用多菌灵溶液浸泡消毒5–8分钟,然后移栽至消毒的珍珠岩:泥炭土:腐殖质=1:1:1 (v/v/v)的混合基质上培养,共移栽30株。每次观察间隔5天,30天后记录并统计幼苗生长情况。

### 2.8 数据统计分析

相关指标计算公式:腋芽诱导率=(诱导出腋芽的外植体数/外植体总数) $\times 100\%$ ;增殖系数=增殖的丛生芽数/外植体总数;生根率=(生根苗数/接种苗数) $\times 100\%$ ;移栽成活率=(移栽成活数量/初始移栽数量) $\times 100\%$ 。采用Microsoft Excel 2019和SPSS 27.0软件对数据进行处理与统计分析。

## 3 结果与讨论

### 3.1 不同植物生长调节剂配比对西印度醋栗腋芽诱导的影响

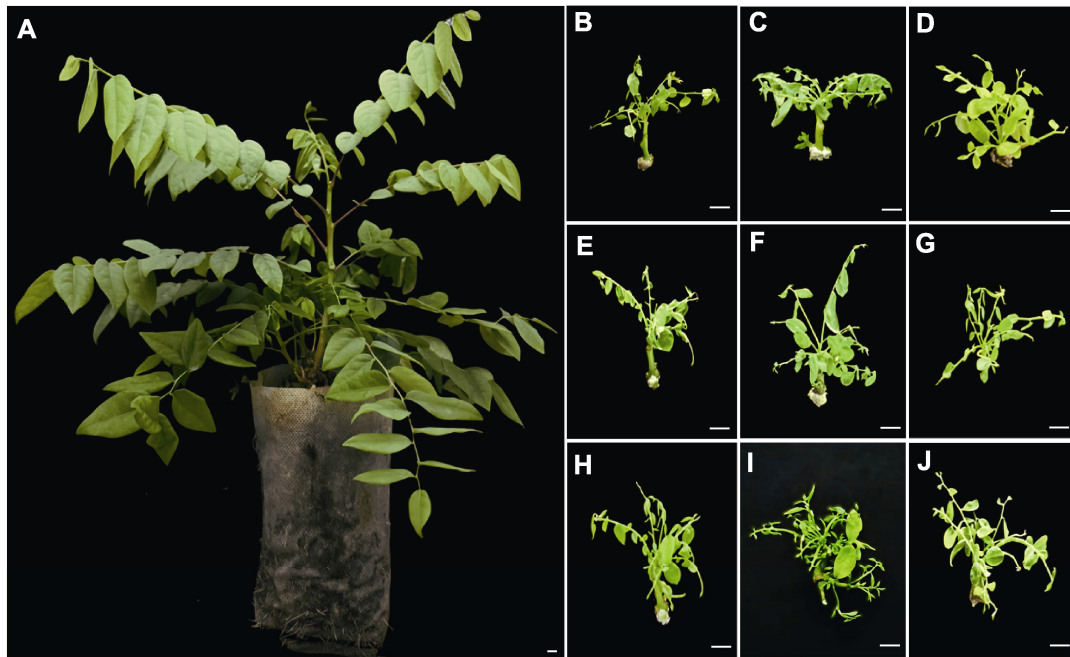
培养2周后,外植体诱导出腋芽。结果表明,不同质量浓度6-BA及NAA配比对西印度醋栗腋芽的诱导效果存在差异(表1;图1)。当6-BA浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,诱导率较低;当6-BA浓度为 $1.0\text{--}2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,诱导率升高;当NAA浓度较高时,叶片变黄,生长受到抑制,NAA浓度为 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对腋芽的诱导效果较好

**表1** 不同植物生长调节剂配比对西印度醋栗腋芽诱导的影响**Table 1** Effects of different proportions of plant growth regulators on axillary bud induction of *Phyllanthus acidus*

Treatments	6-BA ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	NAA ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Number of explants	Adventitious bud induction rate (%)	Growth condition
1	0.5	0.1	90	27.78±1.11 b	++
2	0.5	0.2	90	22.22±4.01 c	++
3	0.5	0.3	90	20.00±1.92 c	+
4	1.0	0.1	90	53.33±7.70 ab	++
5	1.0	0.2	90	62.22±4.00 a	++
6	1.0	0.3	90	70.00±15.28 a	+
7	2.0	0.1	90	66.67±6.67 a	++
8	2.0	0.2	90	76.67±14.53 a	+++
9	2.0	0.3	90	75.56±11.60 a	+

表中数值为3次重复的平均值±标准误, 同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。+: 诱导出的腋芽较少, 叶微黄; ++: 诱导出的腋芽较少, 叶绿; +++: 诱导出的腋芽较多, 叶绿。

Values in the table are means±SE, and different lowercase letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ). +: Fewer induced axillary buds and slightly yellowish leaves; ++: Fewer induced axillary buds and green leaves; +++: Many induced axillary buds and green leaves.

**图1** 不同植物生长调节剂配比对西印度醋栗腋芽诱导的影响

(A) 西印度醋栗植株; (B)–(J) 在不同质量浓度6-BA与NAA配比的培养基中初代培养25天后组培苗的生长状态(B–J中6-BA与NAA浓度配比同表1)。Bars=1 cm

**Figure 1** Effects of different plant growth regulator ratios on axillary bud induction of *Phyllanthus acidus*

(A) *P. acidus* plant; (B)–(J) The growth status of tissue cultured plantlets after 25 days of initial cultivation in different mass concentration ratios of 6-BA and NAA (concentration ratios of 6-BA and NAA in B–J are the same as shown in Table 1). Bars=1 cm

(图1B–J)。因此, 最佳诱导培养基为 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA+ $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA。

### 3.2 不同基本培养基对西印度醋栗腋芽诱导的影响

培养2周后, 外植体诱导出腋芽。结果表明, 不同培养

基对西印度醋栗腋芽诱导的效果存在差异(表2)。当植物生长调节剂配方为 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA+ $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA时,使用MS培养基对腋芽的诱导效率最高,达81.11%,植株生长状况也较好,叶片翠绿,植株粗壮(图2A–C)。因此,西印度醋栗初代培养的最适培养基配方为 $\text{MS}+2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA+ $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA。

### 3.3 继代与增殖培养

培养2周后,外植体分化出丛生芽。当6-BA浓度同为 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,添加不同浓度IBA对西印度醋栗增殖培养的效果存在差异(表3)。当IBA浓度从 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,组培苗的增殖系数呈现出先升高后降低的趋势。当IBA的浓度为 $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,丛生芽数量高于其它浓度处理组,且长势最好;当IBA浓度为 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,组培苗茎短并且细弱,叶微黄,生长受

到抑制(图3A–C)。因此,西印度醋栗丛生芽增殖的最适培养基配方为 $\text{MS}+1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA+ $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IBA。

### 3.4 生根培养

培养3周后,外植体诱导出根系。与IBA相比,NAA处理下西印度醋栗的生根率较低。但在不同浓度处理下,生根率随NAA浓度的升高而降低,而随着IBA浓度的升高而增加。从生根状态来看,NAA处理下,生根数较多,但根长较短,且均随浓度的增加而减少(表4;图4A–C)。从形态上看,NAA处理还使根部诱导出大量愈伤组织,后期甚至出现畸形根(图4A–C)。而IBA处理明显促进了西印度醋栗生根,特别是在高浓度下( $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),其生根率、生根数和根长均较高(表4)。同时,从形态上来看,IBA处理下主根与次根区别明显,较高浓度( $1.0$ 和 $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )下根系较为发达,且

表2 不同基本培养基对西印度醋栗腋芽诱导的影响

Table 2 Effects of different basic media on axillary bud induction of *Phyllanthus acidus*

Treatments	Culture medium	6-BA ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	NAA ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Number of explants	Adventitious bud induction rate (%)	Growth condition
1	MS	2.0	0.2	90	$81.11\pm 2.22$ a	+++
2	1/2 MS	2.0	0.2	90	$58.89\pm 2.94$ b	+
3	1/3 MS	2.0	0.2	90	$52.00\pm 1.17$ b	+

表中数值为3次重复的平均值 $\pm$ 标准误,同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。+: 诱导出的腋芽较少,叶微黄; ++: 诱导出的腋芽较少,叶绿; +++: 诱导出的腋芽较多,叶绿。

Values in the table are means $\pm$ SE, and different lowercase letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ). +: There are fewer induced axillary buds and slightly yellowish leaves; ++: There are fewer induced axillary buds and green leaves; +++: There are many induced axillary buds and green leaves.



图2 不同基本培养基对西印度醋栗腋芽诱导的影响

(A) 外植体在MS培养基中初代培养25天后组培苗的生长状态; (B) 外植体在1/2 MS培养基中初代培养25天后组培苗的生长状态; (C) 外植体在1/3 MS培养基中初代培养25天后组培苗的生长状态。Bars=1 cm

Figure 2 Effects of different basic media on axillary bud induction of *Phyllanthus acidus*

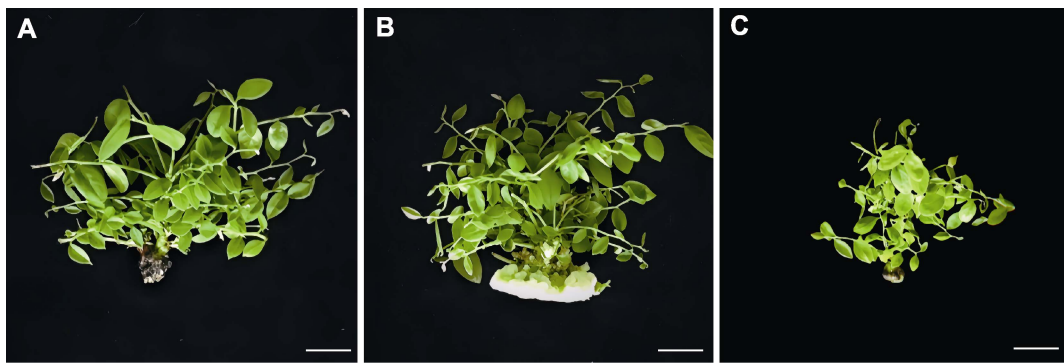
(A) The growth status of tissue cultured plantlets after 25 days of initial cultivation of explants in MS medium; (B) The growth status of tissue cultured plantlets after 25 days of initial cultivation of explants in 1/2 MS medium; (C) The growth status of tissue cultured plantlets after 25 days of initial cultivation of explants in 1/3 MS medium. Bars=1 cm

**表3** 不同植物生长调节剂配比对西印度醋栗继代与增殖的影响**Table 3** Effects of different proportions of plant growth regulators on subgeneration and proliferation of *Phyllanthus acidus*

Treatments	6-BA (mg·L <sup>-1</sup> )	IBA (mg·L <sup>-1</sup> )	Number of explants	Number of buds after proliferation	Multiplication factor	Plant height (cm)	Growth condition
1	1.0	0.1	90	159±0.58 a	1.77±0.13 a	2.71±0.06 b	++
2	1.0	0.2	90	168±1.53 a	1.86±0.20 a	3.34±0.07 a	+++
3	1.0	0.3	90	104±0.33 b	1.16±0.01 b	2.00±0.06 c	+

表中数值为3次重复的平均值±标准误, 同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。+: 诱导出较少的丛生芽, 长势较差, 叶微黄; ++: 诱导出较少的丛生芽, 长势一般, 叶绿; +++: 诱导出较多的丛生芽, 长势良好, 叶绿。

Values in the table are means±SE, and different lowercase letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ). +: Inducing fewer clustered buds, poor growth, and slightly yellowish leaves; ++: Inducing fewer clustered buds, average growth and green leaves; +++: Inducing a large number of clustered buds, good growth and green leaves.

**图3** 不同植物生长调节剂配比对西印度醋栗继代与增殖的影响

(A) 外植体在1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA培养基中继代增殖25天后组培苗的生长状态; (B) 外植体在1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> IBA培养基中继代增殖25天后组培苗的生长状态; (C) 外植体在1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.3 mg·L<sup>-1</sup> IBA培养基中继代增殖25天后组培苗的生长状态。Bars=1 cm

**Figure 3** Effects of different proportions of plant growth regulators on subgeneration and proliferation of *Phyllanthus acidus*

(A) The growth status of tissue cultured plantlets after 25 days of subculture proliferation in 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA medium; (B) The growth status of tissue cultured plantlets after 25 days of subculture proliferation in 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> IBA medium; (C) The growth status of tissue cultured plantlets after 25 days of subculture proliferation in 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.3 mg·L<sup>-1</sup> IBA medium. Bars=1 cm

不易诱导愈伤组织(图4D–F)。植物根部的生长有助于植株对养分的吸收。在NAA处理下, 植株生长状态的变化与生根率的变化趋势相似, 且低浓度的NAA更有助于植株生长(表4; 图4G–I)。而相较于NAA处理, 在IBA处理下, 植株呈深绿色且更为粗壮, 同时也随生根率和根长的增加生长状态更好, 说明高浓度IBA更有利于西印度醋栗生根和植株生长(表4; 图4J–L)。

### 3.5 炼苗与移栽

西印度醋栗组培苗移栽1周后, 开始长出新叶, 并且植株长势良好, 表明移栽成活, 其移栽成活率达90%(图4M)。组培苗移栽初期, 应注意保温保湿; 2–3周

后, 移栽苗长出新根, 此时需适时适量浇水并注意通风; 当移栽苗生长到25 cm以上时, 可以适时施用0.1%磷酸二氢钾肥料, 能有效促进苗木生长。

### 3.6 讨论

植物组织培养是一项能够快速繁殖、生产无菌植株并进行品种改良的技术(唐链和田爽琪, 2022)。在建立植物组织培养体系时, 需要筛选合适的培养基及植物生长调节剂, 并严格执行一系列无菌操作, 以确保植物健康生长和正常发育(张宝华, 2023)。

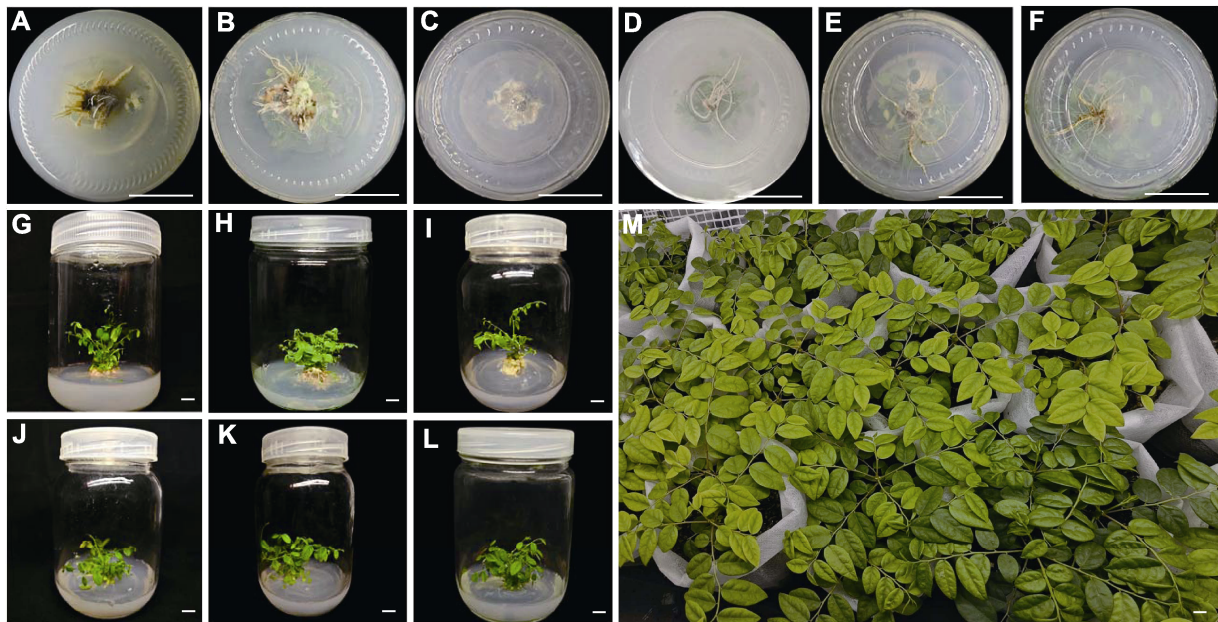
选择合适的基本培养基类型在植物组织培养过程中至关重要(廖焕琴等, 2024)。要根据植物的类型、

**表4** 不同植物生长调节剂对比对西印度醋栗生根的影响**Table 4** Effects of different proportions of plant growth regulators on rooting of *Phyllanthus acidus*

Treatments	NAA (mg·L <sup>-1</sup> )	IBA (mg·L <sup>-1</sup> )	Number of explants	Rooting rate (%)	Rooting number (n)	Root length (cm)	Growth condition
1	0.5	0	30	60.00±11.55 ab	8.40±0.70 a	0.99±0.06 d	++
2	1.0	0	30	66.67±6.67 a	9.00±0.84 a	1.02±0.05 d	++
3	1.5	0	30	33.33±8.82 b	1.50±0.22 d	0.91±0.06 d	+
4	0	0.5	30	76.67±8.82 a	2.70±0.37 d	1.87±0.08 c	++
5	0	1.0	30	70.00±15.28 a	4.80±4.80 c	2.70±0.15 b	+++
6	0	1.5	30	83.33±6.67 a	6.70±0.70 b	3.70±0.15 a	+++

表中数值为3次重复的平均值±标准误, 同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。+: 生根率低, 植株长势较差; ++: 根短, 细弱, 植株长势一般; +++: 根长, 粗壮, 植株长势良好。

Values in the table are means±SE, and different lowercase letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ). +: Low rooting rate and poor plant growth; ++: Short roots, thin and weak, average plant growth; +++: Long roots, robust, and good plant growth.

**图4** 西印度醋栗组培苗的生根与移栽

(A)–(F) 外植体在不同浓度NAA和IBA配比的培养基中生根培养30天后组培苗地下部的生长状态(A–F中NAA与IBA浓度配比同表4); (G)–(L) 外植体在不同浓度NAA和IBA配比的培养基中生根培养30天后组培苗地上部的生长状态(G–L中NAA与IBA浓度配比同表4); (M) 移栽至珍珠岩:泥炭土:腐殖质=1:1:1 (v/v/v)的基质土, 生长30天后的情况。Bars=1 cm

**Figure 4** Rooting and transplanting of *Phyllanthus acidus* plantlet

(A)–(F) The growth status of the explants in the lower part of the tissue culture plot after rooting and culture in the medium with different concentrations of NAA and IBA (concentration ratios of NAA and IBA in A–F are the same as shown in Table 4); (G)–(L) Growth status of the explants in the upper part of the tissue culture site after rooting and culture in the medium with different concentrations of NAA and IBA (concentration ratios of NAA and IBA in G–L are the same as shown in Table 4); (M) Transplanting matrix soil with a volume ratio of perlite, peat soil and humus of 1:1:1 (v/v/v), growth after 30 days. Bars=1 cm

培养的部位以及培养目的来选择不类型的基本培养基, 如波罗蜜属植物组织培养, 多采用MS基本培养基来进行芽诱导与增殖(Ali et al., 2017); 对于报春

花属植物, MS基本培养基更适用于其愈伤组织诱导(李孟悦等, 2021); 紫茉莉属植物组织培养相关报道中, 大多使用MS作为根诱导的基本培养基(黄涛和祝

遵凌, 2024)。在初代培养实验中, 本研究探讨了MS、1/2 MS和1/3 MS基本培养基对西印度醋栗腋芽诱导的影响, 实验结果表明MS培养基能达到较好的诱导效果, 植株长势良好, 叶绿。这一结果与大多数木本植物芽诱导及增殖阶段一般采用MS培养基一致, 因其无机盐和离子浓度较高, 能够满足木本植物的营养和生理需要(姜丽琼等, 2024), 并促进植物茎叶生长(王政等, 2022)。然而, 叶下珠(*P. urinaria*)与西印度醋栗虽同属叶下株属, 但1/2MS培养基更适合叶下珠的腋芽诱导(黄雯等, 2017), 这可能是由于同属植物对无机盐离子的需求有差异(廖焕琴等, 2024)。

植物生长调节剂的选择和用量也是影响植物组织培养效果的重要因素(李佳慧等, 2022; 谢纯刚等, 2023)。在植物组织培养的不同阶段, 不同外植体所需的植物生长调节剂种类和浓度不同(逯锦春等, 2022)。组织培养初期, 在培养基中加入细胞分裂素和生长素, 芽部细胞会进行横向分裂与增殖, 诱导不定芽伸长, 进而促进芽的形成(康敏等, 2024)。6-BA和NAA在组培苗芽诱导及生长发育过程中具有重要作用, 但其浓度过高或过低均会影响外植体的生长(曾成等, 2024)。6-BA和IBA配合使用对器官形成和植株再生起调控作用, 如1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA和0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA配合使用, 能有效提高平邑甜茶(*Malus hupehensis* var. *mengshanensis*)组培苗的增殖系数(黄欣艳等, 2024); 使用1.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA和0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA配比的培养基, 北美豆梨(*Pyrus calleryana*. 'Cleveland')的增殖系数高达5.22(刘玉泽等, 2024)。在初代培养实验中, 本研究选用不同浓度6-BA与NAA组合, 结果表明不同植物生长调节剂浓度对外植体腋芽诱导的效果不同。随着6-BA浓度的增高, 西印度醋栗腋芽诱导率升高, 这与黄雯等(2017)以及任露露等(2023)得出的定芽诱导率呈现先升高后下降的现象不一致, 可能与植物材料的差异性有关。当6-BA浓度一定时, 随着NAA浓度的升高, 西印度醋栗组培苗的叶片变黄, 因此西印度醋栗初代培养的最适植物生长调节剂配比为2.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA, 此时诱导率达81.11%。在继代与增殖培养实验中, 本研究选择以1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA与不同浓度IBA组合, 结果发现当6-BA浓度一定时, 随着IBA浓度的增加, 更容易促进丛生芽的增殖, 但当IBA浓度持续增加, 超出最适浓度后, 增殖系数反而下降。这与黄欣艳等

(2024)的研究结果一致, 可能是由于6-BA/IBA比值降低易诱导产生愈伤组织, 从而抑制丛生芽的增殖。因此, 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> IBA配比的培养基为西印度醋栗最适继代增殖培养基, 增殖系数达1.86。根系在植物获取营养方面发挥重要作用, 与组培苗生长以及后期移栽成活密切相关, 而适量的NAA和IBA能促进植物根系生长(王政等, 2022; 马秀明等, 2024)。在生根实验中, 本研究在生根培养基中添加不同浓度的NAA和IBA, 结果表明与IBA相比, NAA会诱导西印度醋栗的愈伤组织分化, 并增高其畸变率, 这与黄雯等(2017)的研究结果一致。另外, 随着IBA浓度的增加, 西印度醋栗的一系列根系指标显著提高, 且生根后移栽成活率高, 长势健壮, 这可能是由于植物根部的生长有助于植株对养分的吸收。因此, 西印度醋栗的最适生根培养基为MS+1.5 mg·L<sup>-1</sup> IBA。

本研究以栽培的西印度醋栗茎尖为外植体, 通过筛选不同基本培养基及不同植物生长调节剂配比, 初步建立了西印度醋栗组织培养体系, 为西印度醋栗在食品和医药方面的开发利用提供了技术支持。

## 作者贡献声明

李彤: 完成实验、分析数据并撰写论文; 李楚然: 指导实验设计和数据分析; 张芷瑜和付晓熯: 参与实验; 刘云和张颖君: 构思并设计实验; 杨力颖: 提供技术支持; 赵平: 指导论文写作。

## 参考文献

- Ali J, Bantte K, Feyissa T (2017). Protocol optimization for *in vitro* shoot multiplication of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.). *Afr J Biotechnol* **16**, 87–90.
- Andrianto D, Widiarti W, Bintang M (2017). Antioxidant and cytotoxic activity of *Phyllanthus acidus* fruit extracts. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci* **58**, 012022.
- Chakraborty R, Biplab D, Devanna N, Sen S (2012). Anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of *Phyllanthus acidus* L. extracts. *Asian Pac J Trop Biomed* **2**, S953–S961.
- Chen JY, Deng GX (2024). Key technology of raising seedling by sowing of *Phyllanthus acidus*. *Forest Sci Technol* (6), 119–120. (in Chinese)
- 陈剑英, 邓桂香 (2024). 西印度醋栗播种育苗关键技术. *林业科技通讯* (6), 119–120.

- Geng HC, Zhu HT, Yang WN, Wang D, Yang CR, Zhang YJ** (2021). New cytotoxic dichapetalins in the leaves of *Phyllanthus acidus*: identification, quantitative analysis, and preliminary toxicity assessment. *Bioorg Chem* **114**, 105125.
- Gu C** (2019). Study on the Chemical Constituents of *Phyllanthus acidus* from Xishuangbanna. Master's thesis. Kunming: Kunming University of Science and Technology. pp. 1–89. (in Chinese)
- 顾晨** (2019). 西双版纳产西印度醋栗化学成分研究. 硕士学位论文. 昆明: 昆明理工大学. pp. 1–89.
- Hou RG, Ding X, Yang LY, Zhang M, Zhang YJ, Zhao P** (2023).  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity and safety evaluation of branch and leaf extracts of *Phyllanthus acidus*. *Sci Technol Food Ind* **44**, 252–259. (in Chinese)
- 侯润庚, 丁骁, 杨力颖, 张曼, 张颖君, 赵平** (2023). 西印度醋栗枝叶提取物的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性及安全性评价. *食品工业科技* **44**, 252–259.
- Huang T, Zhu ZL** (2024). Advances in rooting of tissue culture of Nyctaginaceae. *Mol Plant Breed* **22**, 6160–6169. (in Chinese)
- 黄涛, 祝遵凌** (2024). 紫茉莉科植物组培生根研究进展. *分子植物育种* **22**, 6160–6169.
- Huang W, Lin LT, Xu CJ, Zheng ZZ, Chen LH, Ming YL** (2017). Tissue culture of *Phyllanthus urinaria*. *Subtrop Plant Sci* **46**, 236–239. (in Chinese)
- 黄雯, 林亮通, 许传俊, 郑志忠, 陈良华, 明艳林** (2017). 叶下珠组培快繁体系研究. *亚热带植物科学* **46**, 236–239.
- Huang XY, Meng XY, Feng JW, Qiao G, Wu YW** (2024). Establishment of *in vitro* rapid propagation system for *Malus hupehensis*. *South China Fruits* **53**(4), 175–181. (in Chinese)
- 黄欣艳, 蒙小玉, 冯建文, 乔光, 吴亚维** (2024). 平邑甜茶离体快繁体系的建立. *中国南方果树* **53**(4), 175–181.
- Huy DT, Hung NH, Tuyet NTA, Hao BX** (2018). Triterpenoids from *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels. *Sci Technol Dev J: Nat Sci* **2**, 71–75.
- Jiang LQ, Huan J, Xu ZP, He ZJ, Li WJ** (2024). Study on tissue culture and rapid propagation technology of tender stem segments of *Olea europaea*. *J Sichuan Forest Sci Technol* **45**(4), 20–25. (in Chinese)
- 姜丽琼, 浣杰, 徐志萍, 何周建, 李文俊** (2024). 油橄榄幼嫩茎段组培快繁技术研究. *四川林业科技* **45**(4), 20–25.
- Kang M, Zhang MY, Qi XS, Tong NN, Li Y, Shu QY, Liu ZA, Lü CP, Peng LP** (2024). Establishment of a fast breeding system for Itoh hybrid 'He Xie' in tissue culture. *Chin Bull Bot* **59**, 441–451. (in Chinese)
- 康敏, 张美莹, 齐秀双, 佟宁宁, 李旻, 舒庆艳, 刘政安, 吕长平, 彭丽平** (2024). 伊藤杂种‘和谐’组培快繁体系的建立. *植物学报* **59**, 441–451.
- Leeya Y, Mulvany MJ, Queiroz EF, Marston A, Hostettmann K, Jansakul C** (2010). Hypotensive activity of an n-butanol extract and their purified compounds from leaves of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels in rats. *Eur J Pharmacol* **649**, 301–313.
- Li JH, Ye WY, Zhu PJ, Pang XH, Zhang J, Tang YW, Wei QY** (2022). Establishment of a sterile short shoot tissue culture and rapid propagation system for *Clerodendranthus spicatus*. *Chin J Trop Crops* **43**, 2063–2070. (in Chinese)
- 李佳慧, 叶维雁, 朱鹏锦, 庞新华, 张继, 唐毓玮, 韦俏宇** (2022). 猫须草无菌短枝组织培养与快速繁殖体系的建立. *热带作物学报* **43**, 2063–2070.
- Li MY, Liu L, Liu Y, Zhang XM** (2021). Establishment of tissue culture system for axillary bud regeneration of *Primula × pubescens*. *Chin Bull Bot* **56**, 732–739. (in Chinese)
- 李孟悦, 刘柳, 刘艳, 张晓曼** (2021). 毛报春(*Primula × pubescens*)腋芽再生组织培养体系的建立. *植物学报* **56**, 732–739.
- Liao HQ, Yang XH, Xu F, Yang HX, Chen XY, Xu B** (2024). Tissue culture and rapid propagation system of *Barthea barthei*. *Guangxi Forest Sci* **53**, 501–506. (in Chinese)
- 廖焕琴, 杨晓慧, 徐放, 杨会肖, 陈新宇, 徐斌** (2024). 棱果花组培快繁体系建立. *广西林业科学* **53**, 501–506.
- Ling X, Zhang D, Yan XL, Pu SB** (2015). Research progress on chemical constituents and physiological activities of *Phyllanthus acidus*. *Chin Wild Plant Resour* **34**(6), 40–43. (in Chinese)
- 凌雪, 张迪, 严雪龙, 濮社班** (2015). 西印度醋栗化学成分及活性研究进展. *中国野生植物资源* **34**(6), 40–43.
- Liu YZ, Wang YF, Ren WZ, Li H, Lu B, Lu BS, Yu XY** (2024). Establishment of immature embryo rescue and regeneration system for *Pyrus calleryana* cv. 'Cleveland'. *Chin Bull Bot* **59**, 800–809. (in Chinese)
- 刘玉泽, 王一菲, 任威蕻, 栗浩, 路斌, 路丙社, 于晓跃** (2024). 北美豆梨杂种幼胚挽救及再生体系的建立. *植物学报* **59**, 800–809.
- Longuefosse JL, Nossin E** (1996). Medical ethnobotany survey in Martinique. *J Ethnopharmacol* **53**, 117–142.
- Lu JC, Cao LN, Tong GJ, Wang XY, Zhang LY, Yu X, Li HF, Li YH** (2022). Establishment of callus induction and regeneration system of *Anemone silvestris*. *Chin Bull Bot*

- 57, 217–226. (in Chinese)
- 逯锦春, 曹丽娜, 佟冠杰, 王鑫颖, 张利英, 喻铨, 李荟芳, 李彦慧 (2022). 大花银莲花愈伤组织诱导及再生体系的建立. *植物学报* **57**, 217–226.
- Luo DD, Gu T, Li XW, Duan BZ (2017). Analysis of varieties and standards of *Euphorbiaceae* medicinal plants used in *Dai* medicine. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* **28**, 692–698. (in Chinese)
- 罗丹丹, 顾婷, 李西文, 段宝忠 (2017). 傣医学药用大戟科植物药材品种与标准的现状分析. *中药新药与临床药理* **28**, 692–698.
- Ma XM, Hu YC, Miao J, Zhang S, Wang JF, Shi SC (2024). Establishment of *Lilium* 'Trenor' *in vitro* rapid propagation system. *Northern Hortic* (4), 42–48. (in Chinese)
- 马秀明, 胡云超, 缪军, 张庶, 王俊峰, 石少川 (2024). 亚洲百合 '穿梭' 组培快繁体系的建立. *北方园艺* (4), 42–48.
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**, 473–497.
- Panda J, Mishra AE (2021). A short review on pharmacological properties of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels. *Int J Bot Stud* **6**, 403–405.
- Pu TL, Jin J, Ma KH, Yuan JM, Luo HY, Zhao QL (2023). Determination and analysis of phenotypic characteristics and nutritional components of *Phyllanthus acidus* (Linn.) Skeel. *Chin J Trop Agric* **43**(11), 47–51. (in Chinese)
- 普天磊, 金杰, 马开华, 袁建民, 罗会英, 赵琼玲 (2023). 西印度醋栗表型性状及营养成分测定分析. *热带农业科学* **43**(11), 47–51.
- Ren LL, Zhang YZ, Huang KL, Wan XC, Zhang ZL, Zhu ML, Wei CL (2023). An efficient system for regenerating adventitious buds in stem segments of tea plants. *Chin Bull Bot* **58**, 308–315. (in Chinese)
- 任露露, 张有泽, 黄克林, 宛晓春, 张照亮, 朱木兰, 韦朝领 (2023). 茶树茎段不定芽高效发生体系的建立. *植物学报* **58**, 308–315.
- Shimu AS, Miah M, Billah M, Karmakar S, Mohanto SC, Khatun R, Reza MA, Hoque KMF (2021). A comparative study of biological potentiality and EAC cell growth inhibition activity of *Phyllanthus acidus* (L.) fruit pulp and seed in Bangladesh. *Saudi J Biol Sci* **28**, 2014–2022.
- Tan SP, Tan ENY, Lim QY, Nafiah MA (2020). *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels: a review of its traditional uses, phytochemistry, and pharmacological properties. *J Ethnopharmacol* **253**, 112610.
- Tang L, Tian SQ (2022). Progress in the application of plant tissue culture technology. *Contem Hortic* **45**(18), 24–26. (in Chinese)
- 唐链, 田爽琪 (2022). 植物组织培养技术的应用进展. *现代园艺* **45**(18), 24–26.
- Wang Z, Zhang CL, He SL, Shang WQ, He D, Shen YX, Liu YN, Song YL, Sun YK (2022). Effects of different LED reflecting and lighting methods on the growth of tissue culture seedlings of *Gerbera jamesonii*. *J Henan Agric Sci* **51**(4), 120–129. (in Chinese)
- 王政, 张春玲, 何松林, 尚文倩, 贺丹, 申玉晓, 刘艳楠, 宋盈龙, 孙宇科 (2022). LED不同反光及照光方式对非洲菊组培苗生长的影响. *河南农业科学* **51**(4), 120–129.
- Xie CG, Liu Z, Zhang SS, Hu HT (2023). Establishment of *in vitro* regeneration system of *Citrus australasica*. *Chin Bull Bot* **58**, 926–934. (in Chinese)
- 谢纯刚, 刘哲, 章书声, 胡海涛 (2023). 手指柠檬茎段离体再生体系建立. *植物学报* **58**, 926–934.
- Xu J, Li N, Zhu HT, Yang WN, Wang D, Yang CR, Zhang YJ (2021). Research progress on chemical constituents and pharmacological activity of *Phyllanthus acidus*. *Guizhou Sci* **41**, 1784–1793. (in Chinese)
- 胥佳, 李娜, 朱宏涛, 杨慰农, 王东, 杨崇仁, 张颖君 (2021). 西印度醋栗的化学成分及药理活性研究进展. *广西植物* **41**, 1784–1793.
- Xu J, Xin Y, Zhu HT, Kong QH, Yang WN, Wang D, Yang CR, Zhang YJ (2023). Flavonoids from the fruits of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels with anti- $\alpha$ -glucosidase activity. *Nat Prod Res* **37**, 1986–1992.
- Zeng C, Mo HP, Pang QL, Lou BH, Deng GZ, Zhang S, Li BL, Su YQ (2024). Induction and *in vitro* regeneration of *Siraitia grosvenorii* tubers. *South China Fruits* **53**(5), 95–100. (in Chinese)
- 曾成, 莫海萍, 庞秋凌, 娄兵海, 邓光宙, 张松, 李伯林, 苏玉卿 (2024). 罗汉果组培块茎诱导及离体再生. *中国南方果树* **53**(5), 95–100.
- Zhang BH (2023). Research on plant tissue culture technology and its application. *Mod Agric Res* **29**(12), 90–93. (in Chinese)
- 张宝华 (2023). 植物组织培养技术及应用探究. *现代农业研究* **29**(12), 90–93.
- Zhang SY, Yao XH, Ren HD, Wang KL (2002). A preliminary study on rapid propagation *in vitro* of emblic. *Forest Res* **15**, 116–119. (in Chinese)
- 张守英, 姚小华, 任华东, 王开良 (2002). 余甘子离体快速繁殖技术的初步研究. *林业科学研究* **15**, 116–119.
- Zhang XB, Lei YN, Chen SC (2018). Effects of different

ecological conditions on seed germination of *Phyllanthus urinaria*. *Shaanxi J Agric Sci* **64**(10), 40–42. (in Chinese)  
张小斌, 雷艳妮, 陈书存 (2018). 不同生态条件对叶下珠种子萌发的影响研究. *陕西农业科学* **64**(10), 40–42.

Zhu GY, Luo D, Zhao YQ, Xiang ZR, Chen C, Li N, Hao XJ, Ding X, Zhang YJ, Zhao YH (2024). Pacidusin B isolated from *Phyllanthus acidus* triggers ferroptotic cell death in HT1080 cells. *Nat Prod Bioprospect* **14**, 34.

## A Preliminary Study on Tissue Culture and Rapid Propagation Technology of *Phyllanthus acidus*

Tong Li<sup>1</sup>, Churan Li<sup>1</sup>, Zhiyu Zhang<sup>1</sup>, Xiaoman Fu<sup>1</sup>, Yun Liu<sup>1</sup>, Yingjun Zhang<sup>2\*</sup>, Liying Yang<sup>3</sup>, Ping Zhao<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of State Forestry and Grassland Administration on Highly-Efficient Utilization of Forestry Biomass Resources in Southwest China, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Phytochemistry and Natural Medicines, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

<sup>3</sup>Yunnan Xinxing Greening Engineering Co., Ltd., Kunming 650228, China

**INTRODUCTION:** A preliminary tissue culture system for *Phyllanthus acidus* was established.

**RATIONALE:** In this study, the stem tips of *P. acidus* were used as explants, and the schemes of primary culture, secondary proliferation culture and rooting culture were screened.

**RESULTS:** The results showed that the optimal medium for primary culture was MS+2.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA, and the induced germination rate of explants reached 81.11%. The optimal medium for subculture was MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> IBA, and the proliferation coefficient was 1.86. The optimal medium for rooting was MS+1.5 mg·L<sup>-1</sup> IBA, and the rooting rate reached 83.00%. After 7 days of cultivation, the plantlets were transplanted with perlite, peat soil and humus=1:1:1 (v/v/v), and the survival rate was 90%.

**CONCLUSION:** The most suitable medium for primary culture using the stem tip of *P. acidus* as explant was MS medium and the phytohormones were 2.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA and 0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA; the optimal phytohormones for subculture were 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA and 0.2 mg·L<sup>-1</sup> IBA; the optimal phytohormone for rooting culture was 1.5 mg·L<sup>-1</sup> IBA.

**Key words** *Phyllanthus acidus*, tissue culture, rapid propagation

Li T, Li CR, Zhang ZY, Fu XM, Liu Y, Zhang YJ, Yang LY, Zhao P (2025). A preliminary study on tissue culture and rapid propagation technology of *Phyllanthus acidus*. *Chin Bull Bot* **60**, 611–620.

\* Authors for correspondence. E-mail: zhangyj@mail.kib.ac.cn; hypzhao2022@163.com

(责任编辑: 朱亚娜)

### 通讯作者团队简介

**张颖君团队:** 以中国西部地区特色药用、食用及茶用植物为研究对象, 对其化学成分及生物活性(抗感染、抗肿瘤以及保肝、心血管和神经系统疾病治疗活性)展开研究, 为创新药物以及健康保健产品的研制提供科学依据。此外, 利用生物、化学和物理转化以及组织培养等生物技术手段, 开展珍稀、资源植物的标准化及可持续利用关键技术研究。

**赵平团队:** 以西南地区林源药食同源特色植物和微生物资源为研究对象, 对其化学成分及生物活性(抗氧化、降血脂、抗炎、酪氨酸酶抑制、农林病害菌抑制活性等)展开研究, 为大健康产品、生物农药等的研发提供科学依据。此外, 利用组织培养和化学生物学等技术手段, 开展特色林木良种的组培快繁体系构建及野生植物资源可持续利用关键技术研究。