

大黄藤茎尖快繁研究

葛晓改¹, 陈芳², 陆斌², 杨南¹, 徐荣¹, 李晓瑾¹

(1. 西南林学院, 云南 昆明 650224; 2. 云南省林业科学院, 云南 昆明 650204)

摘要:以大黄藤茎尖为外植体, 通过组织培养的方法使茎尖不经愈伤直接诱导分化成苗, 重点研究了大黄藤增殖和生根的最适培养条件, 旨在探明大黄藤茎尖组织快繁的最佳条件, 为 大黄藤工厂化育苗提供技术支撑。结果表明: 芽增殖的最佳培养基组合为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + IAA 0.5 mg/L + ZT 0.1 mg/L, 生根最佳培养基组合为 1/2 MS + IBA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L, 移栽成活率可达 92% 以上。此结果对大黄藤优良无性系的快速繁殖、提供种苗和技术推广等方面有重要的参考价值。

关键词: 大黄藤; 快繁; 组织培养

中图分类号: S 687.304⁺.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)01-0053-05

大黄藤 (*Fibraurea Recisa* Pierre) 为防己科 (Menispermaceae) 天仙藤属 (*Fibraurea*) 的多年生藤本植物。天仙藤属植物有 5 种, 分布亚洲热带、亚热带地区。我国仅大黄藤 1 种, 主要分布在海拔 180~1 000 m 云南、广东、广西的热带、亚热带山野沟谷中^[1]。大黄藤是珍稀名贵中草药, 在治疗妇科炎症, 外科感染, 菌痢, 肠炎, 呼吸道感染, 眼结膜炎等方面有重要药用价值^[2]。历来云南红河屏边苗族自治县民间就用大黄藤治疗外伤感染, 疮毒引起的慢性溃疡, 疗效好, 无明显不良反应^[3]。此外, 大黄藤所含的掌叶防己碱是生产镇痛药的重要原料。中药制药工业以采集和消耗大量野生植物资源大黄藤为代价, 使药用植物资源大黄藤急剧减少, 濒于枯竭。

目前, 人工种植栽培的大黄藤多是实生苗、扦插苗和压条苗等, 但是这些方法繁殖大黄藤成本相对较高、繁殖效率低且受季节限制, 而用组织培养技术可以实现工厂化生产, 在较短时间内解决种苗稀缺问题, 降低大黄藤小苗生产成本, 解决目前市场上对药用植物大黄藤供不应求的矛盾。赵元潘等对大黄藤的组织快繁条件进行摸索并得到组培苗, 但是并没有报道各个阶段的组培条件 (培养基配方和激素配比), 并且是通过诱导愈伤分化成苗。通过不同激素成分及配比的梯度试验, 发现茎尖在培养条件为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + IAA 0.5 mg/L + ZT 0.1 mg/L 增殖效果较好; 增殖的小芽在培养

条件为 1/2 MS + IBA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L 能有效促进生根, 且组培苗的移栽成活率可达 92% 以上。更重要的是该研究的外植体大黄藤茎尖不经过愈伤的诱导而直接分化出丛芽, 方法简洁, 更有利于工厂化生产。试验还对大黄藤茎尖外植体的消毒条件进行试验, 发现添加 0.5% 活性炭 + 2% PVP 不但能很好的防止褐化, 而且能提高不定芽诱导率。该试验中, 发现大黄藤小芽生根困难且所生的根多为粗大的主根须根较少。而添加 0.5% 的活性炭, 能提高生根效率, 且能使主根变细须根增多, 根毛也相应的增多, 为后来的移栽成活奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用外植体为大黄藤幼嫩茎尖, 取自云南省林业科学院温室。植物生长调节物质购自上海源森园艺用品有限公司, 消毒剂购自北京拜尔迪生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 外植体的处理 大黄藤幼嫩茎尖用自来水冲洗干净后, 用洗涤剂水洗 3~5 min, 流水冲洗 5 min, 之后对其进行消毒处理。在消毒处理时首先对报道的 5 种常规的消毒方法: 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 15 min、2% 的次氯酸钠消毒 30 min、饱和漂白粉消毒 20 min、2% 的 H₂O₂ 消毒 25 min、0.25% 的新洁尔灭消毒 20 min 进行消毒效果的对比, 每瓶接 5 个茎尖, 3 个处理, 5 次重复, 接种后 15 d 统计污染率及成活率; 然后对合适的消毒剂设置 5、10、15、18、30 min 5 个梯度, 每瓶接 5 个茎尖, 3 个处理, 5 次重复, 15 d 后统计污染率及成活率。在消毒处理后用无菌水冲洗 4~5 次, 剪去多余的叶片, 再用无菌水冲洗 1 次, 最后用无菌滤纸吸干表面水分, 用无菌的解剖

第一作者简介: 葛晓改(1982-), 女, 河南漯河人, 硕士, 研究方向为林木遗传育种。
通讯作者: 陈芳。E-mail: chenfang65@sohu.com。
基金项目: 云南省“十五”科技攻关资助项目。
收稿日期: 2008-08-10

剪切成 0.5~1.0 cm 长的单芽茎段, 先接种于无激素的 MS 培养基上进行初代培养。

1.2.2 芽的增殖培养 以 MS 为基本培养基, 蔗糖浓度为 30 g/L, 琼脂 6 g/L, 添加不同的植物激素后, 调 pH 到 5.8, 121℃下高温高压灭菌 15 min。增殖培养条件为: 温度 24~28℃, 光照强度 2 000~4 000 lx。该试验设计 3 组 6-BA 单独使用浓度, 3 组 6-BA 与 NAA 配比浓度, 3 组 6-BA 与 IAA 配比浓度, 3 组 6-BA 与 KT 配比浓度, 3 组 6-BA 与 NAA、IAA 配比浓度, 3 组 6-BA 与 NAA、IAA、和 KT 配比浓度, 进行激素种类、浓度、配比对大黄藤诱导、增殖的影响的对照试验, 每瓶接 5 个茎尖 3 次处理, 5 次重复。培养 45 d 后统计诱导率及长势。使用 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基附加不同的抗褐化剂, 设计 6 组试验: 附加 2% PVP, 20 mg/L VC, 0.5% 的活性炭, 2% PVP+20 mg/L VC, 2% PVP+0.5% 的活性炭, 2% PVP+20 mg/L VC+0.5% 的活性炭, 每瓶接 5 个芽丛, 3 次处理, 5 次重复, 培

养 15 d 后统计褐化率。

1.2.3 芽苗的生根培养 将长至 1.5 cm 以上的芽, 从芽丛中切离, 接种于生根培养基中进行生根诱导。诱导培养基为 1/2 MS 和 MS, 分别附加浓度 0.0~3.0 mg/L 的 IBA、0.0~3.0 mg/L 的 NAA、0.0~3.0 mg/L 的 IAA 及蔗糖 15 g/L, 琼脂 6 g/L, 将 pH 值调至 5.8, 每瓶接种 8 个芽, 3 次处理 5 次重复。5 周后统计生根率。

1.2.4 植株移栽 植株移栽参照祁芳斌的试验方法^[7]。

表 1 不同消毒剂的消毒效果

Table 1 The disinfecting effect of different disinfectors					
消毒处理 Disinfection treatment	接种数 Inoculation number/个	污染数 Pollution number/个	成活数 Survive number/个	污染率 Pollution rate/%	
0.1%HgCl ₂	15 min	50	10	40	20
2%次氯酸钠	30 min	50	25	25	50
饱和漂白粉	20 min	50	35	15	70
2%H ₂ O ₂	25 min	50	40	10	80
0.25%新洁尔灭	20 min	50	38	12	76

表 2 0.1% HgCl₂ 不同消毒时间的消毒效果

Table 2 The disinfecting effect of different disefcing time by 0.1% HgCl ₂							
消毒时间 Disinfectiontime/ min	接种数 Inoculation number/ 个	污染数 Pollution number/ 个	死亡数 Death number/ 个	成活数 Survive number/ 个	污染率 Pollution rate/ %	死亡率 Death rate/ %	成活率 Survive rate/ %
5	50	50	0	0	100	0	0
10	50	30	3	17	60	6	32
15	50	5	3	42	10	6	84
18	50	2	5	43	4	10	86
30	50	1	35	23	2	70	48

表 3 不同激素种类及配比对不定芽诱导的影响 mg/L

Table 3 Influence of different hormone category and combination to adventitious buds induced						
处理编号 Treatment number	激素种类及配比 Hormone types and propotion	接种数 / 个	不定芽形成数 Adventitious buds number/ 个	不定芽诱导率 / %	不定芽长势 Adventitious buds growth	备注 Remarks
1	MS+6-BA 0.5	50	30	60	++	a
2	MS+6-BA 1.0	50	45	90	++++	b
3	MS+6-BA 2.0	50	44	88	+++	b
4	MS+6-BA 1.0+NAA 0.1	50	47	94	++++	b
5	MS+6-BA 1.0+NAA 0.5	50	50	100	+++++	b
6	MS+6-BA 1.0+NAA 1.0	50	48	96	++++	b
7	MS+6-BA 1.0+IAA 0.5	50	50	100	+++++	b
8	MS+6-BA 1.0+IAA 1.0	50	46	92	++++	b
9	MS+6-BA 1.0+IAA 2.0	50	40	80	+++	a
10	MS+6-BA 1.0+KT 0.1	50	50	100	+++++	b
11	MS+6-BA 1.0+KT 0.5	50	49	98	++++	b
12	MS+6-BA 1.0+KT 1.5	50	38	76	+++	b
13	MS+6-BA 1.0+NAA 0.5+IAA 0.1	50	50	100	+++++	b
14	MS+6-BA 1.0+NAA 0.5+IAA 0.5	50	35	70	++	a
15	MS+6-BA 1.0+NAA 0.5+IAA 1.0	50	25	50%	+	c
16	MS+6-BA 1.0+NAA 0.5+IAA 0.5+KT 0.1	50	42	84	+++	b
17	MS+6-BA 1.0+NAA 0.5+IAA 0.5+KT 0.5	50	23	46	+	c
18	MS+6-BA 1.0+NAA 0.5+IAA 0.5+KT 1.5	50	20	40	+	c

注+++++表示长势或速度最好,++++表示长势或速度较好,+++表示长势或速度一般,++表示长势或速度差,+表示长势或速度较差。下表同,a表示淡绿,b表示翠绿,c表示黄绿。

2 结果与分析

2.1 不同消毒剂的消毒效果

由表 1、2 可知,0.1%HgCl₂ 具有较好的消毒效果,消毒成功率达 86%,而其他 4 种饱和漂白粉、2%H₂O₂、

2%次氯酸钠、0.25%新洁尔灭消毒效果均不理想,消毒不彻底,污染率高,成活率低(表1);使用0.1% HgCl₂消毒18 min 效果最好,低于15 min 的处理污染率较高;高于18 min 的处理污染率虽降低,但死亡率明显上升。因此,较好的消毒剂为0.1% HgCl₂,适宜时间为18~20 min。

2.2 生长调节剂对芽增殖的影响

由表3可知,当加入相同浓度的生长素,随着细胞分裂素浓度的增高,芽增殖的数量也增多,但芽的长度则下降;当浓度达到某值时,芽增殖的数量表现为最高值,然后相对地下降。腋芽数由芽的数量和长度综合决定,培养基中加入相同浓度的细胞分裂素时,受生长素类型、生长素浓度的影响都不大,不存在显著的差异。

表4 茎尖诱导增殖芽的数量、长度的极差分析

Table 4 Variance analysis of number and length of bud multiplication induced from stem apex					
试验		激素及其浓度		结果 Results	
编号	Hormone and concentration		平均芽数	平均芽长	芽长芽数
Experiment number	6-BA /mg * L ⁻¹	ZT /mg * L ⁻¹	Average buds number/个	Average buds length/cm	之和 Sun of buds length and buds number/cm
1	0.5	0.0	1.50	4.48	5.98
2	0.5	0.1	2.85	5.36	8.21
1	0.5	0.2	3.20	3.27	6.47
4	0.5	0.5	3.70	2.24	5.94
5	1.0	0.0	3.20	3.11	6.31
6	1.0	0.1	3.80	4.59	8.39
7	1.0	0.2	4.65	4.32	8.97
8	1.0	0.5	5.35	2.31	7.66
9	2.0	0.0	3.05	3.54	6.59
10	2.0	0.1	3.70	3.27	6.97
11	2.0	0.2	4.30	2.65	6.95
12	2.0	0.5	4.15	1.98	6.13
13	5.0	0.0	2.90	2.56	5.46
14	5.0	0.1	3.10	1.99	5.09
15	5.0	0.2	2.54	1.46	5.00
16	5.0	0.5	1.65	0.97	2.62
K ₁	26.90	24.64	Σ53.64	Σ48.19	Σ101.83
K ₂	31.33	28.66			
K ₃	26.64	27.39			
K ₄	18.17	22.35			
x ₁	8.97	8.21			
x ₂	10.44	9.55			
x ₃	8.88	9.13			
x ₄	6.06	7.45			
R(极差)	4.38	2.1			

注:此分析方法参照南京农业大学田间试验和统计方法^[4]。

2.2.1 不同类型生长调节剂对芽增殖的影响 在第1次试验中对6-BA和KT进行测试,结果表明,在所有的处理中,加入6-BA和KT的培养基,芽的增殖数明显增多。加入IAA和NAA的培养基,芽增殖差异不显著。由表4可知,第1因素(6-BA)的极差最大(4.38),说明6-BA对茎尖外植体诱导芽及长度的影响大于ZT对其影响。从平均值看,第1因素的第2水平最好,第2因

素的第2水平最好。也就是说,两种因素的最好搭配是A₂B₂,即6-BA用1.0 mg/L,ZT用0.1 mg/L最好^[4]。

2.2.2 不同浓度生长调节剂对芽增殖的影响 表3中1~3号试验提高了细胞分裂素的浓度,结果显示所有茎尖外植体都形成了芽丛,每个茎尖外植体产生芽的数量因6-BA的浓度而有所不同,每个外植体产生的芽数为1.50~5.35个(表4)。在表3里4~9号试验中,6-BA在同一浓度下,芽增殖数随IAA、NAA浓度的增加而减少;但当6-BA超过1.0 mg/L,芽增殖数尽管增多,但叶芽生长不正常,茎肿胀,发生畸形;在添加ZT后,芽的数量随6-BA浓度由低(0.5 mg/L)到高(2.0 mg/L)增加,浓度5.0 mg/L时最高为5.35个,以后反而下降,浓度5.0 mg/L时为1.65个。

芽的长度受到细胞分裂素浓度的影响,芽的长度随着细胞分裂素浓度的升高而降低。由表4知,6-BA浓度0.5 mg/L时,芽长度达到最高值,随着浓度的增高,芽的长度则变短;6-BA浓度为1.0 mg/L和2.0 mg/L时差异不显著;6-BA浓度0.5 mg/L时芽长为5.36 cm,长度最高,与其他浓度的差异显著。ZT的加入有利于芽的伸长,浓度过高反而抑制芽的伸长,浓度为0.1 mg/L时芽的长度最长,但芽长度又按浓度0.5、1.0 mg/L依次下降;没有加入和加入ZT浓度为0.1 mg/L的有明显差异。6-BA浓度超过2.0 mg/L时,添加ZT浓度超过0.1 mg/L,试管苗发生畸形。

综上所述,在生长素的试验中,由于浓度及种类对芽的增殖、长度影响都不明显,从经济角度考虑,选用IAA浓度为0.5 mg/L较为合适。根据综合分析结果,在所有的组合中以MS为基本培养基,附加6-BA浓度1.0 mg/L、ZT 0.1 mg/L、IAA 0.5 mg/L,芽的增殖、伸长及试管苗形态等方面表现较好。因此,该试验研究结果MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L+ZT 0.1 mg/L是大黄藤茎尖培养芽增殖比较合适的培养基。

表5 抗褐化剂对不定芽诱导的影响

Table 5 The effect of anti-browning agents on the induction of adventitious buds				
抗褐化剂	接种苗数	褐化苗数	褐化率	出苗率
Anti-browning agents	Inoculation number/个	Browning number/个	Browning rate/%	Emergency rate/%
0.5%活性炭	50	10	20	50
20 mg/L Vc	50	36	72	30
2% PVP	50	20	40	38
0.5% 活性炭+20 mg/L Vc	50	15	30	60
0.5% 活性炭+2%PVP	50	6	12	88
20 mg/L Vc+2% PVP+0.5% 活性炭	50	8	16	80

2.3 抗褐化剂对不定芽诱导的影响

由表5可知,2% PVP及0.5%活性炭均能较好地减轻大黄藤的褐化作用,但不定芽的诱导率不高,

20 mg/LVc对大黄藤的褐化有减轻作用,但效果甚微,而在0.5%活性炭+2%PVP培养基上不定芽诱导率较高。

2.4 芽的生根

由表6可知,当试管苗长至1.5~3.0 cm时接入生根培养基,4周后开始生根,生根率随IBA的浓度和培养基中各成分浓度的不同而异,经培养6周后,IBA在大黄藤的生根过程中影响效果比较明显,随着IBA浓度的增加,生根率提高,以浓度为1.0 mg/L生根率最高,达到90%,但浓度为3.0 mg/L时反而会明显的抑制根的形成。当附加不同浓度生长素与IBA 1.0 mg/L组合培养

时,生根率除了最高浓度3.0 mg/L的相等外,NAA略优于相同浓度的IAA;在生长素种类和浓度同等条件下,大量元素减半的1/2MS培养基比MS培养基生根率高。在试验过程中发现大黄藤生根时间比较长,根系相对较粗,每苗分支比较多,少则两根,多则3~5根,根肉质,粗1 mm左右,但根毛少;而添加0.5%的活性炭,能提高生根效率,且能使主根根变细,须根增多,根毛也相应的增多,为后来的移栽成活奠定基础。因此,研究得出的1/2MS+IBA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L是大黄藤诱导生根培养较合适的培养基。

表6 大黄藤在不同激素配比诱导下的生根情况

Table 6 The rooting situation of different hormone category and combination induced							
实验编号	IBA	IAA	NAA	接种数	生根数	生根率	根的形态
Experiment number	/mg·L ⁻¹	/mg·L ⁻¹	/mg·L ⁻¹	Inoculation number/个	Rooting unnumber/个	Rooting rate/ %	Root morphology
1	0.0	0.0	0.0	50	0	0	无根形成
2	0.0	0.5	0.5	50	5	10	有根形成生根率低 独根+
3	0.0	1.0	1.0	50	25	50	有根形成++
4	0.0	2.5	2.5	50	15	30	有根形成++
5	0.5	0.0	0.5	50	7	14	有根形成+
6	0.5	0.5	1.0	50	25	50	有根形成+++
7	0.5	1.0	2.5	50	14	18	有根形成++
8	0.5	2.5	0.0	50	28	56	有根形成+++
9	1.0	0.0	1.0	50	45	90	有根形成+++++
10	1.0	0.5	2.5	50	35	70	有根形成+++++
11	1.0	1.0	0.0	50	40	80	有根形成+++++
12	1.0	2.5	0.5	50	30	60	有根形成++++
13	3.0	0.0	2.5	50	8	16	有根形成+
14	3.0	0.5	0.0	50	21	42	有根形成+++
15	3.0	1.0	0.5	50	8	16	有根形成++
16	3.0	2.5	1.0	50	5	10	有根形成+

2.5 植株移栽

诱导生根的小苗,用镊子小心地把小苗取出试管,注意不要把幼苗的根碰断,用水洗净根部的培养基,栽入塑料袋或盆中,置适当遮荫的地方,喷雾保湿,成活率达92%以上,在温室里温度不低于10℃的条件下,生长正常^[5]。15 d后可恢复正常生长,现有移栽成活小苗,生长发育正常。

3 讨论

外植体消毒的过程中发现,0.1% HgCl₂消毒18 min的效果较好,成功率达90%以上。以大黄藤优良单株幼嫩枝条切离的茎尖作为外植体,建立茎尖培养技术,MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+ZT 0.1 mg/L的培养基对茎尖的增殖和伸长效果较好。大黄藤增殖培养过程中褐化严重要及时转瓶,一般每20 d左右转接1次。以1/2MS培养基附加IBA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L对根的诱导生根率最高;小苗移栽成活率达92%以上。大黄藤生根较难,因此生根培养基的筛选比较重要。特别是生长素的组合比较重要,因为生长素的生理作用主要是促进细胞的伸长生长和细胞的分裂,促进生

根,其中IBA的生根作用比较显著。若先用1/2MS培养基附加IBA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L进行诱导,15 d后转接在1/2 MS培养基附加IBA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L上进行生根,并附加0.5 mg/L活性炭,在弱光下培养,25 d后生根率得到提高,生根效果更佳。未加活性炭的生根培养基诱导的根:根系相对较粗,每苗分支比较多,少则两根,多则3~5根,根肉质,粗1 mm左右,但根毛少,不易移栽;加活性炭后根明显变细,有利于移栽。

大黄藤茎尖诱导和生根过程中组织褐化严重,原因是木本植物含单宁和色素较高,容易发生褐变。活性炭能较好地吸附组织块切口分泌的多酚类及醌类物质,从而有效地减轻褐化作用对外植体的伤害,但同时也吸附了植物激素及其它有机物,因此在诱导过程中掌握活性炭的浓度也是关键之一。表5中0.5%活性炭+2%PVP培养基上不定芽诱导率较高,能有效的减轻褐化作用。试验结果对大黄藤优良无性系的快速繁殖和推广以及进一步提取防己碱的细胞培养等方面研究有重要的参考价值。



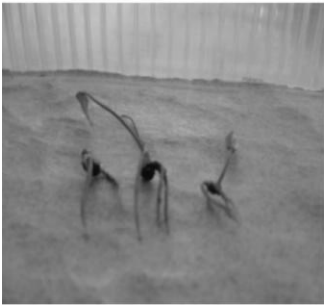
初代培养
Primary culture



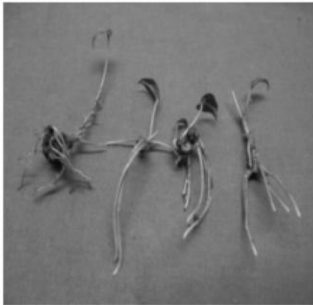
继代培养
Subculture



均为未加活性炭的生根苗
Rooted plant with no active carbon



均为未加活性炭的生根苗
Rooted plant with no active carbon



添加活性炭的生根苗
Rooted plant added with active carbon



移栽苗
Transplant seedling

参考文献

[1] 赵元藩, 冯沙克. 药用植物大黄藤的人工培育技术研究[J]. 林业调查规划, 2007, 32(5): 127-130.
[2] 戚育芳, 高丽, 符德欢, 等. 大黄藤的研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2005(3): 56-57.
[3] 高丽, 符德欢, 戚育芳, 等. 云南药用植物大黄藤的资源现状及保护意见[J]. 药品评价, 2005(2): 7-22.
[4] 南京农业大学. 田间试验和统计方法[M]. 北京: 农业出版社, 1994.

[5] 陈芳, 陈子牛, 陆斌, 等. 印楝茎尖组织培养的研究[J]. 云南林业科技, 2003, 9(3): 8-11.
[6] 梅兴国, 董妍玲, 潘学武. 活性炭对红豆杉细胞褐变的抑制[J]. 海峡药学, 2001(2): 51-53.
[7] 郭勇, 崔堂兵, 谢秀祯. 植物细胞培养技术与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 203-211.
[8] 潘瑞炽. 植物组织培养[M]. 广州: 高等教育出版社, 2003: 7.

Rapid Propagation Study of Stem Apex of *Fibraurea Recisa* Pierre

GE Xiao-gai¹, CHEN Fang², LU Bin², YANG Nan¹, XU Rong¹, LI Xiao-cui¹

(1. Southwest Forest College, Kunming, Yunnan 650244, China; 2. Yunnan Academy of Forest, Kunming, Yunnan 650204, China)

Abstract: This study used stem apex of *Fibraurea recisa* Pierre as explants tissue culture, it was induced and differentiated to plant not by callus, and focusing studied the optimal culture of proliferation and rooting. It finally aimed to explore the most optimal condition on rapid propagation of stem apex of *Fibraurea recisa* Pierre and provided technical support for industrialized nursery. The studied indicated that optimum preparations of bud multiplication and rooting were MS+6-BA 0.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L+ZT 0.1 mg/L and 1/2 MS+IBA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L respectively, and the survival ratio of transplantation could achieve more than 92%. The results had important reference value to the experiment of rapid propagating of *Fibraurea recisa* Pierre excellent clones, provision seed and technical promotion and so on.
Key words: *Fibraurea recisa* Pierre; Rapid propagation; Tissue culture