

巴戟天的组织培养及快速繁殖^①陈 伟^② 徐 立 李志英 李克烈

(中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所 海南儋州 571737)

摘 要 以巴戟天苗的叶片、茎尖、茎段为外植体,通过诱导出不定芽进行快速繁殖。比较了不同外植体在添加不同浓度 BA 和 NAA 培养基上的诱导效果,结果表明:带节的茎段在 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 上的不定芽诱导率为 95%,不定芽在不添加任何激素的 MS 培养基上生根率为 85%,移栽成活率为 90%。

关键词 巴戟天;组织培养;快速繁殖

分类号 Q949.95; Q831

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Morinda officinalis* How

CHEN Wei XU Li LI Zhiying LI Kelie

(Tropical Crops Genetic Resources Institute, CATAS, Danzhou, Hainan 571737)

Abstract The leaf, shoot tips and stem of *Morinda officinalis* How were used as explants to induce adventitious buds on culture medium for rapid propagation. The effects of different combinations of BA and NAA on inducing of the adventitious buds were analyzed. The results showed that the inducing rate of adventitious buds was the highest (95%) on medium MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L by using nodular stem as explants. The adventitious buds were rooted 85% on the MS medium without any hormone, and 90% of the rooted shoots survived after transplantation.

Keywords *Morinda officinalis* How; tissue culture; rapid propagation

茜草科(Rubiaceae)巴戟天属(*Morinda* Linn.)多年生藤本植物巴戟天(*Morinda officinalis* How),为我国四大南药之一,具有补肾壮阳、强筋骨、祛风湿的功效,为重要的出口创汇药材。但巴戟天易感染枯萎病,严重影响其产量和质量,迫切需要培育抗病、质优的新品种^[1]。对巴戟天组培快繁的研究不仅大大缩短了常规繁殖成苗时间,而且为其遗传转化工作的开展及转化效率的提高创造了条件。本研究通过对巴戟天的组织培养,建立了一套系统的巴戟天再生体系,为其遗传转化的研究及商业化育苗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

采自本所苗圃,取巴戟天幼嫩的叶片、茎尖、

带节的茎段、无节的茎段为外植体。

1.2 方法

1.2.1 培养基和培养条件

① 培养基成分 试验所用培养基配方见表 1。

② 培养条件

温度 25~30℃,
光照 2 000 lx ×
10 h/d。

1.2.2 外植体

处理

先用洗涤剂

清洗,然后用自

来水冲洗 20 min。在超净工作台上,用 70%(体积分数)的酒精处理 30 s;用 1 g/L 的升汞(HgCl₂)并加 1~2 滴吐温消毒 15 min;用无菌水冲洗 4~5 次;接

表 1 培养基配方

培养基 编号	基本 成分	附加成分/(mg·L ⁻¹)	
		6-BA	NAA
①	MS	0.5	0.8
②	MS	1.0	0.5
③	1/2 MS		0.2
④	1/2 MS		0.5
⑤	1/2 MS		1.0
⑥	MS		

① 收稿日期:2006-02-21

责任编辑/孙继华

<http://rdnk.chinajournal.net.cn/>

E-mail: rdnk@chinajournal.net.cn

② 联系电话:(0898)2330 6945(办);E-mail: lxtzz@126.com。

种于培养基①和②上。

1.2.3 巴戟天苗的增殖培养

将从生芽切成小块接种于②号培养基上进行继代增殖培养。

1.2.4 生根培养

取经增殖培养长成的无根苗,接种于③~⑥号培养基上进行生根培养。

1.2.5 移栽

经生根培养长出完整植株后,打开培养瓶瓶盖炼苗3d,用自来水冲洗掉培养基后将其移栽至苗床,移栽后注意遮阴保湿。



图1 巴戟天的丛生芽与根系培养

2 结果与分析

2.1 不定芽的诱导情况

外植体接种25d后,茎尖和带节的茎段上有不定芽的发生,而子叶片和无节茎段的两端切口处逐渐膨大出现少量的愈伤组织;随着培养时间的增长,叶片和无节茎段两端切口处的愈伤组织不断膨大,但形成的是结构致密的非胚性愈伤组织,未能分化不定芽。不同外植体的不定芽诱导率见表2。

由表2可知,巴戟天不同外植体分化出芽的能力有很大的差异,只有茎尖及带节的茎段有分化出芽的能力,且不定芽的诱导率以茎段高于茎尖,所以带节的茎段是最好的外植体。在培养基①和②中不定芽的诱导率没有明显差异,②稍高于①。故培养基②是继代增殖最适宜的培养基。

表2 不同外植体的不定芽诱导率

培养基 编号	不定芽诱导率/%			
	叶片	茎尖	带节 茎段	无节 茎段
①	0	70.2	90.5	0
②	0	74.5	95.0	0

2.2 继代增殖培养

培养25d后,带节的茎段基部不断膨大并有少量的丛生芽长出,将其切块转接在培养基②上,每瓶接3~4块并均匀摆放,20d转瓶1次,继代3次后,丛生芽繁殖系数达到5(见图1a)。

2.3 生根和移栽

不定芽在增殖培养基中长至3~4cm时,将其切下转入培养基③~⑥上进行生根培养,20d左右可以长出不定根(见图1b)。不定芽在不同培养基上的生长情况见表3。

表3 不定芽在培养基③~⑥中的生长情况

培养基 编号	生根情况		生根时 间/d
	生根率/%	生根数/条	
③	60	3~4	25
④	70	5~6	25
⑤	40	2~3	28
⑥	85	6~8	20

由表3可知,培养基⑥是最适宜巴戟天生根的培养基;培养基③和④虽然也能生根,但生根情况不如培养基⑥,并且在生根时根茎部分带有少量的愈伤组织;培养基⑤中(当NAA的浓度为1.0mg/L时),根茎交接处形成较大的愈伤组织块,不利于移栽成活。这与贺红等用巴戟天茎尖诱导出芽实验所观察到的结果一致^[4]。将生根后的壮苗移入椰糠+细沙+泥炭(2:1:1)的混合基质中,遮阴、保湿,1周后即可发新根成活,移栽成活率达90%(见图2)。



图2 巴戟天移栽成活

(下转第13页)

蛋白总量却低于 $A_1B_5C_5$ 处理; $A_2B_3C_4$ 处理牧草产量只有 23.754 t/hm^2 , 而粗蛋白产量达到 1.548 t/hm^2 ; $A_1B_2C_2$ 处理牧草产量为 15.883 t/hm^2 , 粗蛋白产量为 1.512 t/hm^2 。从粗蛋白产量来看, $A_1B_5C_5$ 、 $A_5B_1C_5$ 、 $A_2B_3C_4$ 、 $A_1B_2C_2$ 等处理是较优组合。

3 结论

5种臂形草干草产量三因素五水平正交试验结果表明, 刈割周期在三因素中为主要因素, 品种和施肥量对牧草产量的影响小于刈割周期, 三因素对牧草产量影响顺序为: 刈割周期 > 品种 > 施肥量。诸因素的最优组合为: 品种杂交臂形草; 施肥量 30 t/hm^2 ; 刈割周期 90 d 。牧草品种及栽培方式的选择不仅要看牧草产量, 还要参考牧草年粗蛋白生

产总量, 尽量选两者都高的组合, 且应以参考后者为主进行选择。

参考文献

- 1 周自玮, 钟声, 奎嘉祥, 等. 臂形草属牧草的分类及种质资源. 云南农业大学报, 2005, 20(2): 247~251
- 2 袁福锦, 奎嘉祥, 李淑安, 等. 不同施氮水平对俯仰臂形草生产性能的影响. 草业科学, 2005, 22(2): 48~51
- 3 刘国道, 白昌军, 王东劲, 等. 热研6号珊状臂形草选育研究. 草地学报, 2002, 10(3): 217~220
- 4 白昌军, 刘国道. 臂形草属牧草产草量及饲用价值研究. 草地学报, 2001, 9(2): 110~116
- 5 方萍. 实用农业试验设计与统计分析指南. 北京: 中国农业出版社, 2000. 125~135

(上接第9页)

3 结论与讨论

本试验以巴戟天的不同材料为外植体, 用2种不同浓度激素的诱导培养基和4种不同浓度激素的生根培养基组合进行对比试验。通过分析, 不同外植体的分化出芽能力各不相同, 其中带节的茎段分化能力最强, 茎尖次之。筛选出诱导不定芽的最佳培养基为 $MS+6-BA 1.0 \text{ mg/L}+NAA 0.5 \text{ mg/L}$, 诱导率为95%。生根的最佳培养基为 MS 。已经报道的巴戟天组织培养是通过外植体诱导愈伤组织, 再经愈伤组织的器官发生再生植株, 但诱导出芽率低, 且时间较长。本试验通过直接诱导出芽的方式, 获得了较高的不定芽诱导率; 同时增殖培养的增殖系数达到5, 大大缩短了常规繁殖成苗时间, 增大了繁

殖系数; 建立了巴戟天组织培养的再生体系, 为其迅速繁殖及大规模的工厂化育苗发挥了积极的作用, 为其遗传转化工作的开展及转化效率的提高创造了条件。

参考文献

- 1 贺红, 肖省娥, 冼建春, 等. 巴戟天离体培养及植株再生的研究. 广州中医药大学学报, 2000, 17(4): 353~354, 373
- 2 王卫平. 巴戟天化学成分和药理作用研究概况. 时珍国医国药, 2000, 11(7): 665~666
- 3 李任珠, 刑振聪, 邱海平. 海南中草药材鸡屎藤离体培养的研究. 海南大学学报(自然科学版), 2000, 18(3): 281~286