

海巴戟天的离体快速繁殖(简报)

陈雄庭 张秀娟 王 颖 吴坤鑫

中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海口 571101

摘 要 从多果无病虫害的母树中选取的幼嫩侧枝,经表面消毒后切取侧芽并接种到 MS 基本培养基,附加蔗糖浓度 30 g/L,BA 2 mg/L,NAA 0.1 mg/L 初代培养基上,培养 40 d 后,侧芽萌发率达 80 % 以上。增殖培养基与初代培养基相同,以 40~50 d 为一增殖周期,增殖系数达 2~3 倍。当新芽增殖到足够数量时,切取 2~3 cm 的新芽接种到 1/2MS 大量元素,全量微量元素,蔗糖浓度为 30 g/L,IBA 1 mg/L,活性炭 1 g/L 的生根培养基生根培养基上,生根率高达 100 %,植株在沙床的移栽成活率均达 95 % 以上。30 cm 高的植株便可种植到大田。

关键词 海巴戟天 组织培养 快速繁殖

中图分类号 S667.9 Q813.1²

海巴戟天(*Morinda citrifolia* Linn.)为茜草科巴戟天属的一种(热带海岸)植物,原产于东南亚。起源于波利尼西亚的塔希提岛,在上世纪,塔希提岛的人们就发现了海巴戟天的果汁有益健康,以后海巴戟天被引到太平洋其他岛屿。目前海巴戟天主要分布在斯里兰卡、印度、中南半岛、印尼、菲律宾、澳大利亚、波利尼西亚、台湾和西沙群岛。海巴戟含有茛菪亭、多种萜类化合物、多种蒽醌类化合物、多种生物碱、B-谷甾醇、多种黄酮糖苷、茜素、芸香苷等药用成分,现代药理实验揭示海巴戟有抗细菌、抗病毒、抗真菌、抗肿瘤、抗寄生虫、镇痛、降血压、消炎和提高免疫力的活性等效果。此外,海巴戟天的叶子、根、皮和未成熟的果实对糖尿病、心脏病、皮肤病和伤口感染均有疗效^[1-4]。海巴戟天的主要收获部分是果实,海巴戟天果实产量株间差异大,选择优良单株快速繁殖很有必要。目前主要通过种子繁殖和扦插繁殖,但海巴戟天种子萌发慢、发芽率低^[1]。取 1~2 年生的茎干或侧枝进行扦插试验,成活率为 8 %~40 % 不等^[5]。国内曾有以海巴戟天种子为外植体进行离体繁殖的报导^[6,7]。本文报导以成龄植株枝条侧芽为外植体进行离体繁殖海巴戟天植株的结果。

1 材料与方法

1.1 材 料

从成龄结果多无病虫害的母树中选择侧芽作为外植体材料。

1.2 方 法

从无病虫害母树中选择生长正常的嫩枝,切去嫩枝上的叶子,并将嫩枝切成 4~5 cm 长的切段,每段至少带有 1 个腋芽,切段用洗洁精和自来水冲洗减少表面的微生物。外植体用 70 % 酒精表面消毒 1 min,然后在加几滴吐温 20 的 0.2 % HgCl 溶液中浸泡消毒 25 min,再用无菌水冲洗 4~5 次。切除外植体受伤的部分,外植体大小为 1~1.5 cm,当茎段太大时,可以将其纵切开来,使每个外植体只带动 1 个侧芽。带有侧芽的茎段作为外植体被接种到无菌的培养基上,20 d 左右便有侧芽萌发。当新抽的侧芽达 2~3 cm 时,被切下来接种到新的培养基上进行继代培养,每 40~50 d 继代 1 次。当增殖芽达到一定数量时,切取 2~3 cm 高的芽接种到生根培养基上诱导生根。把生根的完整植株移栽到有蔽荫条件的砂床中,约 50~60 d 即可把这些植株移栽到装有土的塑料袋中。株高 20~30 cm 的袋装苗便可定植到大田。培养温度白天为(26±2)℃,白天用日光灯补充光照 9 h,空气潮湿时,用空气除湿机降低培养室的湿度。

1.3 观测记录

在组织培养过程中对增殖芽的生长和诱导生根状况。

2 结 果

2.1 6-BA 浓度对培养初代侧芽萌发的影响

把原始外植体接种到附加不同浓度 6-BA 和相同的生长素、相同的蔗糖浓度的 MS 培养基上,个别材料在接种后 20 d 左右就开始萌发新芽,大部分材料在接种后 30 d 左右萌发新芽。试验结果表明:不同浓度 6-BA 对侧芽的萌发率影响大,结果见表 1。当 6-BA 浓度为 2~3 mg/L 时,促进侧芽的萌发,当其浓度为 1 mg/L 时,侧芽萌发率较低。



图 1 增殖芽

表 1 培养基中不同 6-BA 浓度对培养初代侧芽萌发和新芽增殖、生长的影响

6-BA 浓度	接种外植体数	萌发外植体数	萌发率 /%	增殖芽个数	新芽高度 /cm
1	20	7	35	23	4.5
2	20	17	85	45	3.8
3	20	15	75	67	2.3

说明:MS 基本培养基,蔗糖浓度均为 30 g/L, NAA 均为 0.1 mg/L。

2.2 6-BA 浓度对新芽增殖及生长的影响

把从原始外植体萌发并生长到 2~3 cm 高的新芽切成 1~1.5 cm 带有侧芽的切段,将该切段接种到附加不同浓度 6-BA 和相同的生长素、相同的蔗糖浓度的 MS 培养基上,50 d 观察新增殖芽的生长状况(见图 1、表 1)。试验结果表明:不同浓度 6-BA 对侧芽的萌发数量和高生长影响大,随着 6-BA 浓度的提高,增殖芽的数量增加,6-BA 浓度为 1 mg/L 的处理与 6-BA 浓度为 3 mg/L 的处理达极显著差异($t=3.005 > t_{0.01}=2.845$),但随着 6-BA 浓度的提高,新芽的高生长受到抑制。

2.3 蔗糖浓度对侧芽增殖倍数的影响

当新芽长到 2~3 cm 高时,将他们切下来接种到继代培养基上进行增殖。试验表明,当增殖培养基中的蔗糖浓度分别为 10, 20, 30 和 40 g/L 时,增殖倍数分别为 2.5, 2.9, 3.1 和 2.8 倍。所以增殖培养基的蔗糖浓度以 30 g/L 为宜。每 30~40 d 继代 1 次,经多次继代培养,增殖倍数保持在 2~3 倍左右,增殖芽长势好。

2.4 蔗糖浓度对生根率的影响

长到 2~3 cm 高的增殖芽,可被切下来扦插到生根培养基上,试验表明:在试验的各种浓度蔗糖的培养基中插条均能生诱导生根,生根率均为 100%,说明海巴戟天是扦插容易生根的植物(见表 2)。但是,蔗糖浓度太低时,植株生长不健壮,其中以 30 g/L 的蔗糖浓度的处理植株生长最健壮(见图 2、表 2)。



图 2 生根植株

表 2 蔗糖浓度生根率的影响

蔗糖浓度 /g·L ⁻¹	总插条数	生根插条数	生根率 /%	植株长势
10	20	20	100	弱
20	20	20	100	强
30	20	20	100	最强
40	20	20	100	强

2.5 大量元素用量对生根率的影响

试验采用不同用量的 MS 基本培养基大量元素,全量 MS 微量元素,全量 MS 铁盐和维生素物质,附加 IBA 1 mg/L,活性炭 1 g/L,蔗糖浓度为 30 g/L 的生根培养基。试验结果表明,1/4MS 和 1/2MS 大量元素的生根诱导率都很高,只有 MS 全量大量元素的处理生根诱导率稍低(见表 3),15 d 左右就有部分扦插条长出根系,大部分扦插条在 20 d 左右长出根系,40~50 d 可达移植标准,3 个处理的生根率基本无差异,但以 1/2MS 大量元素苗的长势最好。

表 3 大量元素用量及不同生长素对生根率的影响

		总插条数	生根插条数	生根率 /%
大量元素用量	1/4MS	60	60	100
	1/2MS	60	60	100
	MS 全量	60	58	97
生长素及用量(mg/L)	IBA 1	40	40	100
	NAA 1	40	40	100
	IAA 1	40	37	92.5

2.6 不同生长素对生根率的影响

试验采用 1/2MS 基本培养基大量元素,全量 MS 微量元素,全量 MS 铁盐和维生素物质,附加活性

炭 1 g/L, 蔗糖浓度为 20 g/L, 分别附加 IBA、NAA 和 IAA 1 mg/L 的生根培养基。试验结果以 IBA、NAA 生根效果都很好, 而 IAA 生根效果稍差(见表 3), 3 个处理的生根率差异不显著。但试验进一步证实了 IBA 对海巴戟的生根效果。

2.7 植株的移栽

把长有根系和叶片的完整植株移栽在能挡雨遮荫条件下的沙床中, 植后喷洒 0.1%~0.2% 多菌灵, 然后用透明塑料薄膜遮盖保湿, 示天气的状况决定淋水的多少, 高温天气时候每天淋水 1~2 次, 阴雨天少淋水, 植株成活率可达 90% 以上(见图 3)。1 个月以后, 成活的植株被移植到装有泥土中的塑料袋中, 生长在塑料袋中的植株很少死亡, 当植株长到 30~40 cm 高时, 可将其搬到阳光下练苗 1~2 周后便可把植株移植到大田, 所有植株当年开花结果。



图 3 移植在沙床的小植株

3 讨论

海巴戟天叶子、树皮和根都含有药用成份, 但主要收获部分是果实。选择果多、果大的植株为供体, 通过组织培养方法, 获得的植株可以保持其供体的遗传特性, 可培育出生长整齐而高产的种苗。本研究结果表明: 侧芽的繁殖系数、插条的生根率和植株移栽成活率都很高, 因此, 组织培养是海巴戟天有效的无性繁殖技术, 根据生产需要能在短期内培育出大量的种苗。从成龄结果植株的枝条取侧芽作为外植体, 采用离体培养的方法培育的植株, 其童期大大缩短, 植后 4~5 个月就开花结果, 有些植株甚至还未定植到大田就已经开花。因此, 生产上推广该技术繁殖的种植材料可以缩短非生产期, 提早获得收益。该项技术为海巴戟天的规模化生产及开发利用打下了基础, 并已在生产实践中得到证实。

参考文献

- 1 甘炳春, 何明军. 海巴戟的栽培及其利用[J]. 中国林副特产, 2004, 69(2): 7~9
- 2 Wang M Y, West B J, Jensen C J, et al. *Morinda citrifolia*(noni): a literature review and recent advances in noni research[J]. Acta Pharmacol Sin, 2002, (23): 1 127~1 141
- 3 Will Meclatchey. From Ploynesian healers to health food stores: Changing perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae)[J]. Integrative Cancer Therapies. 1(2): 110~120
- 4 吕燕宁译. 海巴戟中一种具有抗癌活性的免疫调节性多糖物质[M]. 国外医学中医中药分册, 2000, 22(6): 341~342
- 5 何明霞, 杨 清. 海巴戟的引种栽培及发展前景[J]. 中国热带农业, 2006(4): 28~29
- 6 黄 骐, 何文锦, 叶冰莹, 等. 海巴戟组织培养研究[J]. 天然产物研究与发展, 2006(18): 910~913
- 7 韦丽君, 吕 平, 苏文潘. 海巴戟组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(2): 475

Rapid Propagation of *Morinda citrifolia* Linn. in vitro

Chen Xiongtong Zhang Xiujuan Wang Ying Wu Kunxin

Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology CATAS Haikou Hainan 571101

Abstract Young branches from the mother tree of *Morinda citrifolia* Linn. that bears plenty of fruits without pest and disease were collected as study material. The axillary buds from the branches were cut as the explants and inoculated onto the MS medium supplemented with BA 2 mg/L, NAA 0.1 mg/L and sucrose 30 g/L. The explants were then cultured for 40 days, and over 80 % of axillary buds were burgeoned. The subculture medium was the same as the first medium. A cycle of multiplication was 40~50days, and the multiplication rate was 2~3 times. The new shoots 2~3 cm high were cut and inoculated onto the rooting medium which was 1/2MS macro-element, total MS micro-element, IBA mg/L, sucrose 30 g/L and active carbon 1 mg/L. The rooting rate was 100 % and over 95 % of plants survived after transplanted onto the sand bed. The young plants 30 cm high were planted to the field.

Key words *Morinda citrifolia* Linn. tissue culture rapid propagation