

文章编号: 1001-6880(2006)06-0910-04

海巴戟 (*Morinda citrifolia* L.) 组织培养研究黄 骢¹, 何文锦², 叶冰莹², 陈由强^{2*}, 陈如凯³

(1. 福州市农业科学研究所, 福州 350018; 2. 福建师范大学生物工程学院, 福州 350007;

3. 农业部甘蔗生理生态与遗传改良重点实验室, 福州 350002)

摘要:以海巴戟 (*Morinda citrifolia* L.) 种子为试材, 在不剥除种皮的情况下, 在 MS 无激素培养基上播种 1 年内未见发芽, 在剥除种皮的情况下, 在 MS 无激素培养基上发芽率最高, 50 d 内可达 75%。海巴戟子叶和下胚轴均能单独由细胞分裂素 BA 0.7~2.0 mg/L 诱导不定芽发生, 不定芽可直接从外植体发生, 也可从愈伤组织发生, 添加生长素 NAA 0.05~0.1 mg/L 则完全抑制不定芽发生, 同时强烈促进愈伤组织生长和不定根发生。带芽茎段在 BA 1.5 mg/L 配合低浓度生长素时均能通过腋芽萌发和不定芽发生而增殖。芽梢在 NAA 0.1 mg/L、IBA 0.1 mg/L 或 IAA 0.1 mg/L 均有根群发生, 但 NAA 0.1 mg/L 诱导生根时切口愈伤组织较多, 部分不定根由愈伤组织发生, 而 IAA 0.1 mg/L 诱导生根时根群欠发达, 以 IBA 0.1 mg/L 最佳。

关键词:海巴戟; *Morinda citrifolia* L.; 组织培养; 不定芽; 不定根; 分化

中图分类号: Q949.95; R282.71

文献标识码: A

Studies on the Micropropagation of Noni (*Morinda citrifolia* L.)HUANG Qi¹, HE Wen-jin², YE Bing-ying², CHEN You-qiang^{2*}, CHEN Ru-kai³

(1. Fuzhou Institute of Agricultural Sciences, Fuzhou 350018, China; 2. Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China; 3. Key Laboratory of Sugarcane Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The germination of seeds of Noni with whole seedcoat incubated on MS medium did not be observed within one year after the inoculation, but seeds without seedcoat germinated quickly within 50 days on various media. Cotyledons and hypocotyls of Noni showed the ability to regenerate adventitious buds direct from explants or from callus when inoculated on MS media with BA 0.7~2.0 mg/L only, and NAA 0.05~0.1 mg/L inhibited adventitious bud regenerating completely but enhanced intensively adventitious root regenerating. Shoots multiplied by axillary bud germinating and adventitious bud differentiating when stem sections with axillary buds were cultured on media containing BA 1.5 mg/L and some auxins in low concentration. Adventitious roots were induced by NAA 0.1 mg/L, IBA 0.1 mg/L or IAA 0.1 mg/L, and the best rooting medium was MS + IBA 0.1 mg/L.

Key words: Noni; *Morinda citrifolia* L.; *in vitro*; adventitious buds; adventitious root; micropropagation

海巴戟 (*Morinda citrifolia* L.) 是一种茜草科巴戟天属常绿小乔木或灌木。原产地在台湾、海南、亚洲其他热带地区及澳大利亚^[1]。海巴戟的抗逆性极强, 可生长于贫瘠的酸性或碱性土壤。海巴戟既可生长于非常干旱的地区, 也可生长于非常潮湿的地区。波利尼西亚民间把海巴戟应用于医药已经有 2000 多年的历史^[2]。已经发现, 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、 β -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^[3]。已有学者成功克隆了海巴戟脱氧木酮糖-5-磷酸合酶^[4]。鉴于海巴戟的药用价值、食用价值以及在保健品市场的广阔前景, 本研究就海巴戟种子无菌播种、不定芽诱导、芽增殖及壮苗生根进行试验, 初步摸清海巴戟离体快速繁殖的方法, 将有助于解决国内海巴戟资源稀缺的问题。

1 材料与方法

1.1 材料

海巴戟种子引种自夏威夷。

1.2 培养基

以 MS 配方、蔗糖 30 g/L、琼脂 6.0 g/L 为基本培养基。

收稿日期: 2005-08-30 接受日期: 2005-12-07

* 通讯作者 E-mail: yqchen@fjnu.edu.cn

1.3 无菌播种

1.3.1 方法 1

海巴戟种子洗净表面杂物,于含 4%有效氯的次氯酸钠溶液中轻柔振荡 15 min,无菌水清洗 4 遍。

1.3.2 方法 2

海巴戟种子细心剥去种皮,于含 4%有效氯的次氯酸钠溶液中轻柔振荡 15 min,无菌水清洗 4 遍。

经上述表面消毒的种子或种仁接种于无菌播种培养基上,见表 1。于(25±2)℃,200 lx 下培养。

表 1 用于海巴戟无菌播种的培养基

Table 1 Media for Noni seeds' aseptic sowing

培养基编号 No.	培养基配方 Component of medium
1-1	MS 无激素 MS no regulator
1-2	MS+0.1%活性炭 MS+0.1%AC
1-3	MS+BA 0.5 mg/L
1-4	MS+BA 0.5 mg/L+0.1%活性炭 MS+BA 0.5 mg/L+0.1%AC

1.4 不定芽诱导

种子经 1.3 方法 2 培养 1 个月至子叶展平后,将子叶切成约 2 mm×2 mm 小块,下胚轴切成长度约为 2 mm 的小段。接种于不定芽诱导培养基上,见表 2。于(25±2)℃,1000 lx 下培养,30 d 后观察。

表 2 用于海巴戟子叶和下胚轴诱导不定芽的培养基

Table 2 Media for adventitious bud differentiation of Noni's cotyledons and hypocotyls

培养基编号 No.	培养基配方 Component of medium
2-1	MS+BA 0.7 mg/L
2-2	MS+BA 1.0 mg/L
2-3	MS+BA 1.5 mg/L
2-4	MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L
2-5	MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L
2-6	MS+BA 2.0 mg/L

1.5 芽增殖

将按 1.4 方法诱导的不定芽转接到 2-3 不定芽诱导培养基上,于(25±2)℃,1000 lx 下培养 30 d 后,转接到相同的新鲜培养基上,按相同的培养条件再培养 30 d,切取带一个节的茎段,接种于芽增殖培养基上,见表 3。于(25±2)℃,1000 lx 下培养,50 d 后观察结果。

表 3 用于海巴戟芽增殖的培养基

Table 3 Media for Noni' shoot multiplication

培养基编号 No.	培养基配方 Component of medium
3-1	MS+BA 1.5 mg/L+IAA 0.02 mg/L
3-2	MS+BA 1.5 mg/L+IAA 0.1 mg/L
3-3	MS+BA 1.5 mg/L+IBA 0.01 mg/L
3-4	MS+BA 1.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L

1.6 壮苗生根

从按 1.5 方法培养得到的丛芽中,切取长约 1 cm 的带顶芽芽梢,接种于壮苗生根培养基上,见表 4。于(25±2)℃,1000 lx 下培养,培养 30 d 后观察结果。

表 4 用于海巴戟增殖芽生根壮苗的培养基

Table 4 Media for Noni's shoot rooting

培养基编号 No.	培养基配方 Component of medium
4-1	MS+NAA 0.1 mg/L
4-2	MS+IBA 0.1 mg/L
4-3	MS+IAA 0.1 mg/L

2 结果

2.1 无菌播种

无菌播种的海巴戟种子在没有剥除种皮的情况下,在 1 年内未观察到发芽,剥除种皮的种仁消毒、播种后 50 d 内,在供试的各培养基上均有发芽,但发芽率不同,在无激素和活性炭的 MS 基本培养基上发芽率最高,细胞分裂素和活性炭均抑制发芽,见表 5。

表 5 不同培养基对海巴戟消毒种仁发芽率的影响

Table 5 Effect of various media on the germination rate of aseptic seeds

培养基编号 No.	发芽率(%) Germination rate
1-1	75.0 a
1-2	25.0 b
1-3	8.3 b
1-4	16.7 b

2.2 不定芽诱导

海巴戟的子叶和下胚轴很容易发生愈伤组织,细胞分裂素 BA 0.7~2.0 mg/L 范围均能诱导子叶和下胚轴发生不定芽,不定芽可同时从外植体表面

直接发生或从愈伤组织上发生,见图 1。添加低浓度的生长素 NAA 0.05 ~ 0.1 mg/L 则完全抑制不定

芽的发生,愈伤组织的生长量急剧增加,同时不定根大量从愈伤组织上发生,见表 6。

表 6 不同植物生长调节剂组合对海巴戟子叶和下胚轴不定芽分化的影响

Table 6 Effect of various combinations of growth regulators on adventitious bud differentiation of cotyledons and hypocotyls of Noni

培养基编号 No.	外植体类型 Types of explant	外植体数量 Explants	愈伤发生 外植体数 Explants of callus	愈伤组织 诱导率(%) Inducing rate of callus	不定芽发生 外植体数 Explants of adventitious buds	不定芽 诱导率(%) Inducing rate of adventitious buds	不定根发生 外植体数 Explants of adventitious root	不定根 诱导率(%) Inducing rate of adventitious root
2-1	子叶 Cotyledons	8	8	100	3	37.5	0	0
	下胚轴 Hypocotyls	4	4	100	4	100	0	0
2-2	子叶 Cotyledons	6	6	100	2	33.3	0	0
	下胚轴 Hypocotyls	8	8	100	4	50.0	0	0
2-3	子叶 Cotyledons	16	16	100	6	37.5	0	0
	下胚轴 Hypocotyls	15	15	100	10	66.7	0	0
2-4	子叶 Cotyledons	8	8	100	0	0	4	50.0
	下胚轴 Hypocotyls	8	8	100	0	0	6	75.0
2-5	子叶 Cotyledons	8	8	100	0	0	7	87.5
	下胚轴 Hypocotyls	8	8	100	0	0	4	50.0
2-6	子叶 Cotyledons	8	8	100	2	25.0	0	0
	下胚轴 Hypocotyls	8	8	100	5	62.5	0	0



图 1 海巴戟外植体上不定芽发生

Fig.1 Adventitious buds regenerating from explants of Noni

2.3 芽增殖

芽的增殖一方面通过顶端优势解除,腋芽萌出,另一方面不定芽从茎段表面和愈伤组织上发生,见

图 2。添加不同生长素对海巴戟芽增殖倍数没有显著差异,见表 7。

表 7 不同植物生长调节剂组合对海巴戟芽增殖的影响

Table 7 Effect of various combinations of growth regulators on shoot multiplication of Noni

培养基编号 No.	50 d 增殖倍数 Times of breeding in 50 d
3-1	3.00 a
3-2	4.60 a
3-3	4.27 a
3-4	3.45 a

2.4 壮苗生根

在生长素的诱导下,海巴戟不定芽的芽梢在切口附近发生不定根,不定根纤细,短而多分枝,形成密集的根群,见图3。以 NAA 0.1 mg/L 诱导的生根率最高,IBA 0.1 mg/L 和 IAA 0.1 mg/L 次之,见表8。但 NAA 诱导生根在切口处容易发生疏松愈伤组织,部分根系从愈伤组织发生,与茎维管束之间缺乏联系,而 IAA 诱导的根群较不发达,以 IBA 诱导的根群质量最好。



图2 海巴戟芽的增殖

Fig.2 Multiplication of buds of Noni

表8 不同生长素对海巴戟芽梢不定根发生的影响

Table 8 Effect of various auxines on shoot rooting

培养基编号 No.	生根率(%) Rooting rate
4-1	100 a
4-2	83.3 ab
4-3	66.7 bc

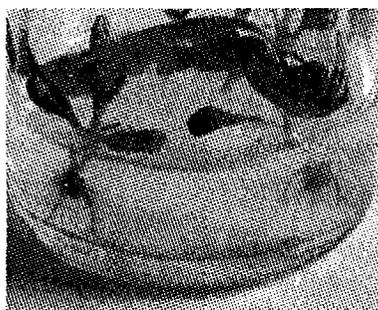


图3 海巴戟芽梢切口处的不定根发生

Fig.3 Rooting of shoots of Noni

3 讨论

海巴戟的种子有气室,可漂浮在水上数月并保持生活力。未经预处理的种子播种后6~12月才能零星发芽,需要伤其种皮才能使其在短时间内发芽^[1]。本研究用完好的种子无菌播种1年内未见发芽,而剥除种皮的种子在50 d内陆续发芽,并不添加细胞分裂素和吸附剂的培养基发芽率最高,这提示种子的休眠可能不是因为抑制物质的存在,而是由于种皮不透水造成的。在无菌条件下,由于缺乏微生物的分解作用,使种皮的完整结构常年得以保持,种子难以萌发。

海巴戟子叶和下胚轴不定芽分化能力强,在添加 BA 0.7~2.0 mg/L 的不定芽诱导培养基上常可见数个到十数个不定芽分布于组织块表面及切口上,但在相同培养基继代,这些不定芽继续发育长大,少见腋芽萌发,新的不定芽形成数量也较少,同时从不定芽切取的带节茎段转移到 BA 1.5 mg/L 添加不同的低浓度生长素培养基上增殖速率也偏低,提示海巴戟不同发育阶段的材料对植物生长调节剂或营养成分的要求可能有较大差异,需要进一步深入研究。

海巴戟不定芽芽梢经生根壮苗培养,发生的不定根根群发达,根细而短,分枝多,质地柔韧,不易折断,叶片厚呈革质不易失水,经初步移栽试验成活容易,管理方便。

参考文献

- 1 Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences(中国科学院植物研究所). *Iconographia cormophytorum sinicorum tomus IV* (中国高等植物图鉴第四册). Beijing: Science Press, 1994. 368.
- 2 Scot C. Nelson. *Morinda citrifolia* L. <http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/Downloads/morinda-species-profile.pdf>.
- 3 Wang MY, West BJ, Jensen CJ, et al. *Morinda citrifolia* (noni): a literature review and recent advances in noni research. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23: 1127-1141.
- 4 Han YS, Roytrakul S, Marianne C, et al. Cloning of a cDNA encoding 1-deoxy-xylulose 5-phosphate synthase from *Morinda citrifolia* and analysis of its expression in relation to anthraquinone accumulation. *Plant Sci*, 2003, 164: 911-917.