

不同植物生长调节剂对“金傲芬”无花果组培的影响

陈 爽, 李金平, 马会勤, 张 文

(中国农业大学 农学与生物技术学院, 果树逆境生理与分子生物学北京市重点实验室, 北京 100193)

摘 要:以无花果“金傲芬”幼嫩带芽茎段为外植体, MS 为基本培养基, 采用常规组织培养方法, 研究了不同植物生长调节剂对“金傲芬”无花果组织培养的影响。结果表明: 2% 的 NaClO 对外植体消毒 6.5 min 能起到较好的消毒效果, 污染率为 28%; 适合“金傲芬”组培的初始培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8.0 g/L(pH 5.8); 壮苗培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+GA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8.0 g/L(pH 5.8); 生根培养基为 MS+IBA 1.0 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8.0 g/L(pH 5.8)。

关键词:无花果; “金傲芬”; 组织培养; 植物生长调节剂

中图分类号:S 482.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)03-0109-03

无花果(*Ficus carica* Linn)为桑科榕属落叶乔木或灌木, 原产阿拉伯南部。果实柔软味甜, 具有较高的营

养价值和药用价值, 是一种特殊的果品。现代科学研究发现, 无花果能抑制癌细胞的蛋白合成, 具有明显的抗癌、防癌、增强人体免疫功能的作用^[1]。正因为无花果的食用、药用价值高, 对其研究也非常广泛^[2-4]。“金傲芬”为黄色鲜食无花果优良品种, 1998 年由美国加利福尼亚州引入我国, 已在山东、河北、四川等地引种栽培。但生产中采用扦插繁殖的繁殖系数低, 季节性强, 现采用无花果“金傲芬”幼嫩的带芽茎段作为外植体, 研究了各个培养阶段适合的培养基, 为苗木的快速繁殖提供理论依据, 满足对标准化苗木生产的需求。

第一作者简介:陈爽(1989-), 女, 在读硕士, 研究方向为果树生理和栽培。E-mail: cspollyanna@yeah.net.

责任作者:张文(1955-), 男, 本科, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为果树生理和栽培。E-mail: zhangwen@cau.edu.cn.

基金项目:北京市都市农业学科群建设资助项目; 北京市园林绿化局计划资助项目。

收稿日期:2012-10-17

[5] Ahn Y J, Chen G Q. *In vitro* regeneration of castor (*Ricinus communis* L.) using cotyledon explants[J]. Hort Science, 2008, 43(1): 215-219.

[6] Sujatha M, Reddy T P. Differential cytokinin effects on the stimulation of *in vitro* shoot proliferation from meristematic explants of castor (*Ricinus communis* L.)[J]. Plant Cell Rep, 1998(7): 561-566.

[7] 张利明, 侯玲玲, 李文彬, 等. 蓖麻组织培养和植株再生的研究[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(2): 253-255.

[8] Alam I, Sharmin S A, Mondal S C, et al. *In vitro* micropropagation through cotyledonary node culture of castor bean (*Ricinus communis* L.)[J]. Australian Journal of Crop Science, 2010, 4(2): 81-84.

Study on Regeneration of Castor Bean *in vitro* Using Hypocotyl Explants

LIU Peng^{1,2}, DONG Yong-yi¹, CHEN Yong-sheng^{2,3}

(1. College of Agriculture, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia 028042; 2. Engineering Research Center of Castor at Universities of Inner Mongolia Autonomons, Tongliao, Inner Mongolia 028042; 3. School of Life Science, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia 028042)

Abstract: Taking cotyledon explants of castor bean as materials, the effect of different species and concentrations of cytokinin on shoot induction and different concentrations of auxin on root induction were studied. The results showed that mature seed-derived hypocotyl explants produced adventitious shoots when placed on MS medium containing 0.5 mg/L 6-BA or 10.0 mg/L ZT. The rate of shoot regeneration was maximal (86.7% and 68.9% respectively). Shoots were transferred to root induction medium (MS+0.2 mg/L NAA), which root regeneration frequency achieved 26.7%.

Key words: castor bean; hypocotyl; *in vitro* regeneration

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试外植体为无花果“金傲芬”幼嫩枝条,取自中国农业大学西校区科学园温室。所用试剂:6-BA(6-苄基腺嘌呤)、NAA(萘乙酸)、IBA(吲哚丁酸)、2%次氯酸钠、75%乙醇。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒处理 取生长健壮的无花果幼嫩枝条,剪去叶片及部分叶柄,剪成带有1~2个腋芽的2~3 cm左右的茎段。将茎段置于广口瓶中,用少许洗涤灵轻轻刷洗干净,在流水下冲洗1 h以上,控干水分。在超净工作台内将茎段置于无菌的广口瓶内,先用75%的酒精浸泡30 s,期间不断摇动广口瓶,无菌水冲洗1次。再用2%的NaClO浸泡5~10 min,期间不断摇动广口瓶,无菌水冲洗5次,用灭菌的吸水纸吸干材料表面的水分。

1.2.2 接种与培养 将消毒好的茎段接种在4种培养基上,每瓶接种1~2株,培养基组成见表1。每隔10 d继代并统计外植体生长情况。培养条件为温度25℃,光照强度3 000 lx,光照时间12 h/d。

表1 初始培养的培养基组成

Table 1 The medium of bud differentiation

编号	MS	6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	蔗糖 /g·L ⁻¹	琼脂 /g·L ⁻¹	pH
M1	全	1.0	0.1	30	8.0	5.8
M2	全	1.2	0.2	30	8.0	5.8
M3	全	1.5	0.2	30	8.0	5.8
M4	全	2.0	0.2	30	8.0	5.8

1.2.3 不定芽的壮苗培养 30 d后,将初始培养基上分化的生长健壮的芽切下接种于壮苗培养基(MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+GA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8.0 g/L,pH 5.8)上进行壮苗培养^[5]。培养条件为温度25℃,光照强度3 000 lx,光照时间12 h/d。

1.2.4 生根培养 30 d后,将生长健壮的无花果组培苗接入生根培养基进行生根培养。培养条件为温度25℃,光照强度3 000 lx,光照时间12 h/d。生根培养基组成见表2。

表2 生根培养的培养基组成

Table 2 The medium of rooting culture

编号	MS	IBA /mg·L ⁻¹	蔗糖 /g·L ⁻¹	琼脂 /g·L ⁻¹	pH
P1	全	0.5	30	8.0	5.8
P2	全	1.0	30	8.0	5.8
P3	全	1.5	30	8.0	5.8

2 结果与分析

2.1 消毒时间的确定

在无花果组培方面,外植体消毒方法大多选择用

0.1%的HgCl₂加吐温进行消毒^[6-8],消毒效果比较理想,但考虑到HgCl₂对环境污染较为严重且对人体有害,该试验采用2%的NaClO溶液对试验材料进行消毒。综合考虑污染率和褐化率,消毒时间采用6.5 min比较理想(针对温室内取材)(表3)。

表3 2%的NaClO消毒时间对外植体的影响

Table 3 Effects of the time of disinfection of 2% NaClO

消毒时间 /min	接种数 /株	真菌污染 数/株	细菌污染 数/株	褐化数 /株	污染率 /%	褐化率 /%
5.0	35	20	0	1	57.2	2.8
6.5	75	20	1	0	28.0	0
10.0	30	10	0	4	33.3	13.3

注:污染率%=[(真菌污染数+细菌污染数)/接种数]×100%;褐化率%=(褐化数/接种数)×100%。

2.2 不同生长调节物质对无花果增殖培养的影响

接种后30 d统计产生丛生芽苗数、不定芽发生率及不定芽生长状况(表4)。M1上只有2株产生芽,但芽不分枝、粗壮且绿,其中1个芽叶片向内卷曲呈盘状结构,与生长素缺失症状相似^[9],故将其转入M4培养基(NAA由原来的0.1 mg/L提高到0.2 mg/L)培养,10 d后产生大量分枝和叶片(图1-A、B),可见较高浓度的NAA是无花果组培中必需的生长调节物质;M2虽有丛生芽但发生率低且生长势弱;M3丛生芽较矮小,生长势中等,不定芽发生率为46.7%(图1-C);M4不定芽发生率较高能够达到73.3%,且不定芽较健壮、浓绿(图1-D)。可见较高浓度的6-BA(2.0 mg/L)也是无花果组培所必需的生长调节物质。

表4 不同培养基对无花果增殖培养的影响

Table 4 Effects of different mediums on shoot multiplication

培养基 编号	接种数 /株	产生丛生芽 苗数/株	不定芽发 生率/%	不定芽生长状况
M1	20	2	10.0	丛生芽粗壮且绿,不分枝,呈盘状结构,叶融合
M2	20	2	10.0	矮小、生长势弱、颜色偏白绿色
M3	30	14	46.7	矮小、生长势中等、颜色绿色
M4	30	22	73.3	较健壮且绿、分枝多

2.3 不定芽的壮苗培养

初代培养长出的不定芽分枝较多且较矮小,为了提高不定芽的高度及其健壮度,将初代得到的不定芽转入壮苗培养基(MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+GA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8.0 g/L,pH 5.8)上进行壮苗培养。先给予茎段较高浓度的6-BA使其产生较多的芽,之后转入较低浓度的6-BA培养基上使其迅速长高,分生的植株切段后再转入较高浓度的6-BA培养基培养,如此反复进行可得到大量的健壮组培苗(图2)。

2.4 生根培养

将生长健壮的小苗移至生根培养基中进行生根培养。培养30 d左右,不同浓度的IBA对根的诱导情况见表5。由表5可知,IBA浓度为1.0 mg/L时生根率较高且根数较多、生长较均匀。

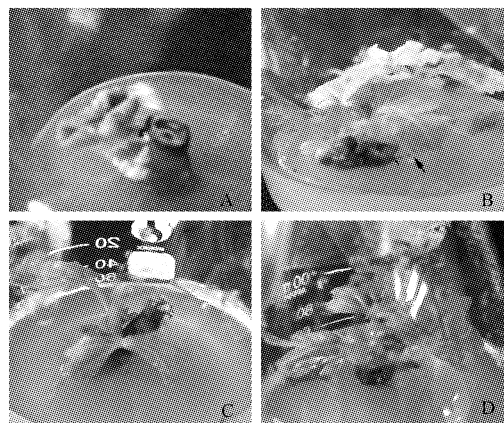


图1 不同培养基对无花果“金傲芬”组培苗生长的影响

Fig.1 Effects of different mediums on the plantlets

注:A:M1培养基长出的芽叶片向内卷曲且呈盘状;B:将M1上的芽转接到M4培养基后产生很多不定芽,箭头所指为原来的盘状结构;C:M3丛生芽较矮小,生长势中等;D:M4上的不定芽较健壮、浓绿。

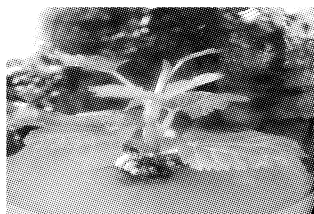


图2 经过壮苗培养基培养后的组培苗

Fig.2 Plantlets on the medium of making bud strong

表5 不同浓度 IBA 对根的诱导效果比较

Table 5 Effects of different rooting mediums on rooting culture

培养基编号	生根率/%	平均根数/个	根生长情况
P1	60.0	3.5	短、细
P2	73.3	4.2	生长较均匀
P3	46.7	4.0	短、细

3 结论与讨论

该试验结果表明,“金傲芬”无花果在 2% 的 NaClO

中浸泡消毒 6.5 min 可得到较好的消毒效果,污染率为 28%。适合“金傲芬”的初代培养基组成为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8.0 g/L (pH 5.8),此培养基可以在 20 d 左右诱导出健壮且绿的不定芽,不定芽发生率达 70% 以上。新生的不定芽大多较矮小,将其转入壮苗培养基 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+GA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8.0 g/L (pH 5.8) 进行壮苗培养是必需的环节。该试验过程中发现无花果基部较易褐化,产生大量的褐色团状物质,影响营养的吸收,故转接时应注意剪去褐色的基部。适宜“金傲芬”生根培养基为 MS+IBA 1.0 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8.0 g/L (pH 5.8)。

该试验与以往组培方法不同的是采用了 2% 的 NaClO 对试材进行消毒,并且取得了较好的效果,同时避免了对环境以及人体的伤害,是一种比较理想的消毒方法。

参考文献

- [1] 纪春艳,薛朝阳,王訔. 6-BA 和 NAA 对无花果组织培养的影响[J]. 北方园艺,2009(12):98-99.
- [2] 赵曼. 无花果的扦插繁殖[J]. 湖南林业,2005(8):16.
- [3] 罗羽涓,解卫华,马凯. 植物激素与果树花芽分化[J]. 金陵科技学院学报,2007(3):7.
- [4] 罗羽涓,马凯. 无花果花芽分化期芽内 ZRs 和 GA₁₊₃ 含量的变化[J]. 中国南方果树,2007,36(1):50-51.
- [5] 余亚白,贾芬,欧阳桐娇. 无花果的组培与快繁技术研究[J]. 福建果树,1994(4):4-6.
- [6] 蒋琴,张洁. 无花果组培技术[J]. 新疆林业,2004(1):46.
- [7] 段新玲,任东岁,赵书珍. 无花果组织培养再生系统的研究[J]. 林业科学研究,2001,14(6):621-627.
- [8] 孙丽娟,关洪斌,赵晶,等. 无花果组织培养中防止外植体褐化的研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(2):535-536.
- [9] Nibau C, De Stilio V S, Wu H M, et al. Arabidopsis and Tobacco SUPERMAN regulate hormone signalling and mediate cell proliferation and differentiation[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(3):949-961.

Effect of Different Plant Growth Regulators on Tissue Culture of *Ficus carica* L. ‘Jin Ao-fen’

CHEN Shuang, LI Jin-ping, MA Hui-qin, ZHANG Wen

(College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Key Laboratory of Beijing Municipality's Stress Physiology and Molecular Biology for Fruit Trees, Beijing 100193)

Abstract: Taking young stems with buds of ‘Jin Ao-fen’ *Ficus carica* Linn as explants, on the basic MS medium, the effects of different plant growth regulators on shoot multiplication were studied. The results showed that the most appropriate time of disinfection of 2% NaClO was 6.5 min. The most appropriate medium of bud differentiation was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 8.0 g/L (pH 5.8); the most appropriate medium of making bud strong was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+GA 0.2 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 8.0 g/L (pH 5.8); the most appropriate rooting culture medium was MS+IBA 1.0 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 8.0 g/L (pH 5.8).

Key words: *Ficus carica* L.; ‘Jin Ao-fen’ (A212); tissue culture; plant growth regulator