

橡皮树组织培养快繁体系的建立

赵海清, 王晓军 (中国科学院新疆理化技术研究所, 新疆乌鲁木齐 830011)

摘要 [目的]利用组培快繁技术培育橡皮树,以满足花卉市场对该植物的需求。[方法]以橡皮树茎尖为外植体,选择不同培养基和激素配比,初步建立橡皮树组培快繁体系,并进行对比试验。[结果]结果表明,愈伤诱导和芽分化培养基为:MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L,丛生芽增殖培养基为:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L,最佳生根培养基为 1/2 MS+0.01 mg/L NAA+0.5 mg/L IBA。[结论]该研究为橡皮树的规模化生产提供了实践基础,但橡皮树的体细胞胚的诱导及萌发技术仍需改进。

关键词 橡皮树;茎尖外植体;组织培养;快速繁殖

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)01-0074-02

Establishment of Tissue culture and Rapid Propagation System in *Ficus elastica*

ZHAO Hai-qing et al (Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Science, Urumqi, Xinjiang 830011)

Abstract [Objective] The aim of the research was to breed *Ficus elastica* by using tissue culture and rapid propagation technologies and meet the demands of flower market to this plant. [Method] With shoot tip of *Ficus elastica* as explants, different medium and hormone combinations were selected to set up the tissue culture and rapid propagation system of *F. elastica* preliminarily and make a comparative test. [Result] The medium for callus induction and bud differentiation was MS+1.0 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA, the medium for the propagation of clumpy buds was MS+2.0 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA and the optimum rooting medium was 1/2 MS+0.01 mg/L NAA+0.5 mg/L IBA. [Conclusion] This research provided practical basis for mass production of *F. elastica*. But the induction and germination technologies of somatic embryo still need to be improved.

Key words *Ficus elastica*; Shoot tip explants; Tissue culture; Rapid propagation

橡皮树(*Ficus elastica*)为桑科榕树属常绿大乔木。是高档观叶花卉,又是常见的庭园树或盆栽观叶植物,它的结果习性和无花果基本相似,在原产地生长的大树可长出隐头花序,然后在叶腋间结成成对的小浆果,种子细小,播种较困难,因此一般采用扦插繁殖方法,而且繁殖时地温不能低于 15℃^[1-3]。扦插繁殖速度缓慢,且繁殖率低,使橡皮树发展受到极大限制,很多城市园林建设需每年从外地引进大批橡皮树苗,耗费大量资金。笔者通过组织培养快繁技术每年可向花卉市场提供几十万株橡皮树苗,既满足花卉市场需求,又能获得好的经济效益。

1 材料与方法

1.1 材料 橡皮树幼苗由中国科学院新疆理化技术研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒。摘取温室盆栽橡皮树的茎尖,先用自来水冲洗干净,置无菌水中,在超净台上用 75%酒精灭菌 30 s,再用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒灭菌 10 min,无菌水冲洗 3~5 次,切成 1~2 cm 小段,进行接种^[4]。

1.2.2 愈伤诱导、出芽和芽的增殖。将消毒后的外植体接种至 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 培养基上进行愈伤诱导和出芽;丛生芽继续在增殖培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 上进行扩繁。

1.2.3 生根。生根培养基分别选用 MS 和 1/2MS 为基本培养基,添加不同浓度的 NAA 和 IBA,共计 10 个处理,每处理 10 瓶,每瓶 5 个重复。

1.2.4 炼苗与移栽。当幼苗根长到一定程度、形体已显健壮时,将幼苗取出,在清水中洗净附着在根上的培养基(严格洗净,防止烂根),将洗净的幼苗排好,用清水喷湿,然后以珍珠岩和蛭石为基质进行炼苗^[5];炼苗第 1 周要覆盖塑料薄

膜,第 2 周逐渐增加透气,以便使组培苗尽快适应外部环境;炼苗后,将幼苗移栽入营养土:蛭石为 1:1 的基质中。

2 结果与分析

2.1 不同激素对愈伤诱导的影响 将接种好的培养基置于培养室中培养,经过 30 d 可以观察到茎尖基部有致密坚硬的愈伤产生,大多愈伤表面还有一层白色疏松物质,到 40~50 d 就会在大部分的致密坚硬愈伤块表面出现绿色芽点,还有一些出现少量丛生芽。通过长期试验发现,致密坚硬的愈伤能很好地分化出丛生芽(图 1A),而白色疏松愈伤则很少出芽,但白色疏松愈伤内部有时可以生出米粒状的致密坚硬颗粒,这种颗粒也能直接出芽。

2.2 芽的继代快速繁殖 将上述诱导出愈伤并带有芽点或少量丛生芽培养物转接至 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 继代培养,使其快速增殖,每 40 d 转接 1 次^[6],继代培养增殖率可达 1:2 左右(表 1)。

表 1 继代培养增殖率的变化

Table 1 Changes of subculture proliferation rate

选项 Items	继代次数 No. of subculture			
	1	2	3	4
转接前 Before transferred//瓶	70	150	230	514
转接后 After transferred//瓶	170	280	551	949
增殖比 Proliferation ratio	1:2.4	1:1.9	1:2.4	1:1.8

2.3 不同激素浓度培养基生根情况 分别选用 NAA 及 IBA 的不同组合进行生根试验,结果如表 2 所示,低浓度的 NAA 配合一定浓度的 IBA 最有利于幼苗的生根,且得到的生根苗健壮,有利于进一步的炼苗试验。最终选择生根培养基为:1/2 MS+0.01 mg/L NAA+0.5 mg/L IBA,生根情况,如图 1B 所示。

2.4 炼苗与移栽 炼苗期间每天用水喷洒叶面 2~3 次,室温保持在 25~30℃,湿度在 60%~80%^[7],橡皮树生长很快,每周长出 1 片新叶。用此法炼苗得到满意效果,成活率达 98% 以上(图 1C)。

基金项目 中科院西部行动高技术项目(KGCX2-SW5-06)。

作者简介 赵海清(1975-),男,新疆乌鲁木齐人,助理研究员,从事生物化学研究。

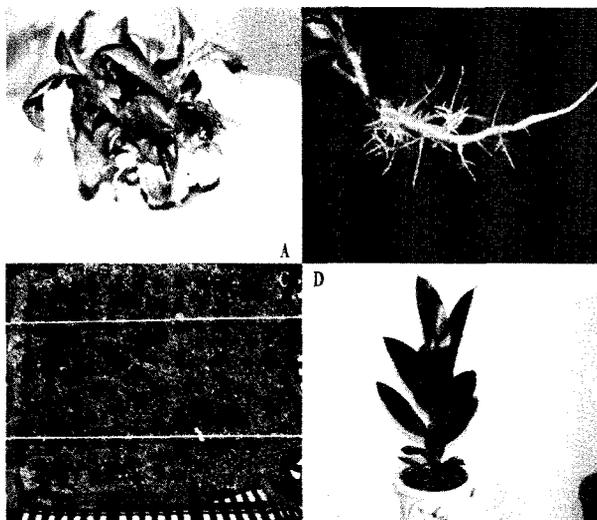
收稿日期 2007-08-10

炼苗 25~30 d 后即可进行移栽,苗床土要做消毒处理,将硫酸亚铁按用量 750 kg/hm² 粉碎后均匀施入,或用 20~30 g/kg 的高锰酸钾水溶液均匀喷洒消毒。喷药后浅翻 2~3 遍,以保证消毒均匀^[3],在营养土:蛭石为 1:1 的基质中,移栽成活率达 100% (图 1D)。

表 2 不同生长素浓度对幼苗生根率的影响

Table 2 Effects of different concentrations of growth hormones on the rooting rate of *Bergenia purpurascens*

基本培养基 Basic medium	NAA//mg/L	IBA//mg/L	生根率 Rooting rate//%	健壮度 Robust degrees
1/2MS	0	0.2	100	+++
1/2MS	0	1.0	100	++
1/2MS	0.2	0	83.3	+
1/2MS	0.5	0	57.1	-
1/2MS	0.01	0.5	100	++++
MS	0	0.2	100	+++
MS	0	1.0	91.7	+++
MS	0.2	0	88.9	++
MS	0.5	0	83.3	+++
MS	0.01	0.5	100	++



注: A: 愈伤诱导和出芽; B: 生根; C: 炼苗; D: 移栽。

Note: A: Callus induction and buds; B: Rooting; C: Hardening - seedling; D: Transplanting.

图 1 橡皮树组培快繁的不同阶段

Fig. 1 Different stages of tissue culture and rapid propagation in *Ficus elastica*

2.5 成品苗的管理 在温室大棚种植的橡皮树需使温度保持在 25~30℃,因橡皮树叶片大而繁茂,呼吸蒸腾作用强,所以要经常用清水喷淋叶面,夏季温度高时要每天向叶面喷水 3~5 次,冬天温度低时每天向叶面喷水 1~2 次。另外橡皮树由于生长迅速,栽培时应追加一定量的肥料,夏季应给予充足光照,也可用啤酒擦洗,可起到增肥作用,使叶片油绿光亮。始终保持小苗的旺盛生长,保持叶片油绿光亮才更能赢

得市场青睐。

3 讨论

(1)对橡皮树组培苗继代培养发现,经过长期在 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 培养基上从生继代繁殖,会造成分裂素积累现象^[8],主要表现在继代的组培苗从生能力特别强,而株高不够,这会给后期生根移栽带来不便,当出现这种情况时要适当调节培养基的激素配比,以便在出苗时得到适宜生根的优良组培苗,其方法是降低 6-BA 浓度^[9],浓度范围在 0.5~1.0 mg/L,提高 NAA 浓度,浓度范围在 0.03~1.0 mg/L,实践经验得知组培苗主茎段在 2~5 cm 高时,既便于瓶内丛生快繁,又有利于生根、炼苗、移栽。

(2)在继代增殖培养转接时,需将丛生芽切成若干小块,会有许多愈伤脱落浪费,将这部分愈伤块收集,去除表面白色疏松部分,将致密坚硬的愈伤块切成 2~3 mm 的小块,切忌过分刮伤表层部分,然后置于 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 液体培养基做摇瓶培养^[10],培养 10~20 d 就可以看到小芽长出,待丛生芽长到 1~3 cm 即可以转接到固体培养基上,其生长状况和其他苗一样健壮。在对橡皮树丛生苗基部愈伤块再出苗的液体培养过程中,发现适当大小致密坚硬的愈伤块,在液体培养中更能迅速增殖,原因是液体培养更利于营养吸收。但其关键注意两点:一是当愈伤块出苗后,液体培养基的用量不宜过多,300 ml 三角瓶装 60 ml 培养基为宜,以保证充分通氧;二是苗长到 3 cm 左右时及时转接至固体培养基上。

(3)在试验中为橡皮树规模化生产,力求低成本、高产,还尝试了橡皮树的体细胞胚的诱导及萌发,以便有更好、更快的改进。

参考文献

- [1] 潘锦堂. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1992.
- [2] ESPY S C, KEASLING J D, CASTILLÓN J, et al. Initiator-independent and initiator-dependent rubber biosynthesis in *Ficus elastica*[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2006, 448(1/2): 13-22.
- [3] 妙学军, 李海涛. 橡皮树塑料大棚快繁技术[J]. 甘肃农业科技, 2000(3): 47-48.
- [4] 蒋红东, 何敬焜, 崔百明, 等. 橡皮树的茎尖快繁的研究[J]. 石河子农学院学报, 1994, 12(3): 49-52.
- [5] 田英翠, 袁雄强. 郁金香组培快繁技术研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(2): 227-227.
- [6] 杨振英, 薛光荣, 苏佳明, 等. 橡皮树的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(4): 311-312.
- [7] 陶季冬, 李康, 杨秀文, 等. 橡皮树组织培养及快繁技术研究[J]. 新疆农业科学, 1996(6): 279-281.
- [8] 张振霞, 郑玉忠. 番荔枝组织培养初步研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(14): 4110-4111.
- [9] 曹受金. 碧玉兰的组培快繁技术研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(21): 5519-5520.
- [10] GUSEV M V, KOL'CHUGINA I B, MARKAROVA E N. Preparation of autotrophic tissue culture of *Ficus elastica*: Dependence of growth, pigment accumulation and photosynthesis upon the carbohydrate and 6-benzylaminopurine content in the medium[J]. Vestnik Moskovskogo Universiteta Seriya XVI Biologiya, 1992, 3: 29-33.