

特油作物蓖麻组织培养关键技术研究初报

谭德云¹, 陈祥梅², 王光明¹, 岳 霆¹, 李敬忠¹, 孙丽娟¹, 刘宏光¹, 陈 军¹(¹ 淄博市农业科学研究院, 淄博 255033; ² 黑龙江八一农垦大学植物科技学院, 大庆 163319)

摘 要: 以蓖麻成熟种子为材料建立无菌系, 研究了不同播种方式、不同培养基、不同外植体、不同激素比对愈伤组织诱导的影响。结果表明: 蓖麻种子剥去种皮在以纱布为支持物的培养基上出芽, 污染率低, 出芽时间提前了 27d, 幼苗长势也均好于其它培养基; 愈伤组织的诱导以叶片为外植体最佳, 最适培养基为: MS+2,4D1.0+6-BA0.5+NAA0.02, 愈伤组织诱导率达 93%, 愈伤长势正常。

关键词: 蓖麻; 组织培养; 培养基; 愈伤组织

中图分类号: S565.6; Q819 **文献标识码:** A

Study on Tissue Culture Key Technology on Castor-oil Plant of Special Oil Crop

Tan Deyun¹, Chen Xiangmei², Wang Guangming¹, Yue Ting¹, Li Jingzhong¹,Sun Lijuan¹, Liu Hongguang¹, Chen Jun¹(¹ Zibo of Agricultural Science and Research Academy, Zibo 255033;² Heilongjiang August First Land Reclamation University, Plant Science College, Daqing 163319)

Abstract: Aseptic line was obtained from ripe seed of castor-oil plant and the influences of different way of seeded, different basic medium, different explant, different proportion of incration on callus inducement were studied. The results showed that seeds of castor-oil plant pullulated with lower infection in basic medium supported by gauze. Pullulation was ahead of schedule 27d, and young seedlings grewed more better than planted in other basic medium. Leaf used as explant was the best way to induce callus, and substrate 'MS+2,4D1.0+6-BA0.5+NAA0.02' was the most appropriate basic medium. The percent of callus inducement reached 93%, and the callus grewed normally.

Key words: castor-oil plant, tissue culture, basic medium, callus

蓖麻 (*Ricinus communis* L.) 在分类学上属于大戟科 (Euphorbiaceae) 蓖麻属 (*Ricinus*), 原产于非洲东部, 在温带地区属一年生草本植物, 而在热带和亚热带地区, 蓖麻呈灌木或乔木状。俗称红麻、大麻子、牛蓖等^[1]。种植蓖麻具有较大的改善大气污染的能力, 可吸收大气中的二氧化碳、二氧化硫。种籽可榨油, 其含油率达 40.0%~58.8%, 蛋白质为 20%, 可溶性糖 3%, 纤维素 25% 左右。蓖麻油有许多用途, 油粘度高, 凝固点低, 既耐严寒又耐高温, 在 -8~-10℃ 不冰冻, 在 500~600℃ 不凝固和变性, 可用作飞机、轮船、汽车和

高速机床的高级润滑剂, 皮革整修的软化剂等。可广泛用于纺织业助染、农药的乳化剂、医药上的缓泻剂, 而且还是许多芳香物质的原料^[2]。叶可用来养殖蓖麻蚕, 茎秆是优质的纤维板和造纸原料。油粕可作肥料、脱毒后可以作饲料以及活性炭和胶卷的原料, 蓖麻中提取的毒素可以生产生物杀虫剂, 是一种用途广泛, 性状良好的经济植物。

由于近代航空航天工业高速发展, 对高级润滑油需求的增加, 以及化学工业对癸二酸、十二羟基硬脂酸等原料的大量需求, 对蓖麻油的需求量日益增大, 刺激

基金项目: 国家星火计划重点资助项目“蓖麻新品种大面积推广种植技术开发”(2001EA740005); 山东省良种产业化工程重点资助项目[鲁科农字(2006)90号]。

第一作者: 谭德云, 男, 1972 年出生, 黑龙江萝北人, 淄博市农业科学研究院经济作物研究所副所长, 高级农艺师, 从事杂交蓖麻育种工作。通信地址: 255033 山东省淄博市张店区商场西街 197 号淄博市农科院, E-mail: chenxiangmei1126@126.com。

通讯作者简介: 王光明, 1964 年生, 山东淄博人, 淄博市农业科学研究院总农艺师, 研究员, 兼经济作物研究所所长, 蓖麻课题组首席专家, 硕士导师, 山东理工大学兼职教授, 中国农业工程学会蓖麻经济技术分会副理事长, 中国作物学会特作分会常务理事, 长期从事杂交蓖麻育种及适应性栽培研究工作。

收稿日期: 2007-10-11, **修回日期:** 2007-11-12。

了蓖麻产业的发展。进行蓖麻组织培养技术的研究,不仅有利于蓖麻种质资源的保存,而且为今后大面积推广良种蓖麻提供可参考的实验数据。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

试验于 2006—2007 年于淄博市农业科学研究院、山东理工大学生命科学院进行。

1.2 试验材料

淄博市农业科学研究院培育的审定品种:淄蓖 5 号成熟种子。

1.3 培养基

试用培养基为 MS 固体培养基、纱布培养基 (以 1/2MS 培养液润湿),培养基均为蔗糖 3%,琼脂 0.65% (强度 $\geq 900\text{g/cm}^2$),pH 为 5.6~5.8。塑料膜封口。按常规方法配制^[4]分装后,于 121~126℃ 高压灭菌 15min,冷却后备用。

1.4 培养条件

培养室温度为 $25\pm 2^\circ\text{C}$,在愈伤组织培养阶段先采用暗培养,4d 后转入光下培养,其它阶段均在光下培

养,以日光灯为光源,连续光照 12h/d,光强 2000lx。

1.5 培养

1.5.1 无菌系的建立

(1)取淄蓖 5 号成熟种子,流水下冲洗 30min,置于超净工作台上,先在 75%酒精中浸泡 30s,倒去酒精,再倒入 1%NaClO 浸泡 15~20min (其间不停摇动),倒去 NaClO,用无菌水冲洗 3~5 次,接种于 MS 培养基上。

(2)取淄蓖 5 号成熟种子,小心剥去种皮 (避免损伤胚),置于超净工作台上,以下步骤同上。接种于纱布、MS 培养基上,待发芽后 2~3d 转入 MS 培养基上生长,获得无菌苗。待苗长至 9~10cm 后备用。

1.5.2 愈伤组织的诱导 切取无菌苗的幼根、茎段、子叶为外植体,幼根及茎段切成 0.5~1.0 cm 的切段,子叶切成 0.5~1.0cm² 的小方块,接种于附加不同激素配比的愈伤组织诱导培养基上获得愈伤组织 (激素含量单位:mg/l)。每处理接种 100 个外植体,每瓶接种 4 个。20d 后,观察并记录愈伤组织诱导率,筛选最适的愈伤组织诱导培养基。培养基类型及不同激素配比见表 1。

表 1 愈伤组织诱导培养基的筛选

处理	培养基	2,4-D	6-BA	NAA
1	MS	0.2	0.5	0.02
2	B5	0.2	0.5	0.02
3	MS	0.5	0.5	0.02
4	B5	0.5	0.5	0.02
5	MS	1.0	0.5	0.02
6	B5	1.0	0.5	0.02
7	MS	1.0	1.0	0.02
8	B5	1.0	1.0	0.02

表 2 不同处理方式对种子出芽的影响

播种方式	培养基	播种瓶数	污染瓶数	污染率 / %	出芽时间 / d	出芽率 / %
带种皮	MS	100	23	23	30	79
剥去种皮	MS	200	5	2.5	8	92
	纱布法	300	5	1.7	3	97

2 结果与讨论

2.1 无菌系的建立

从表 2 可以看出,蓖麻种子去种皮播种从污染率、出芽时间、出芽率上都要优于带种皮播种。因为成熟的淄蓖 5 号种子具有种阜,种阜表面不光滑,给灭菌工作带来较大困难。致使带皮播种污染率高,剥去种皮后,去除了种阜,使外植体光滑易灭菌,从而大大降低了污染率。去除种皮使种子出芽时间缩短 22~27d,出芽率提高 13%~15%,污染率也降低了 20.5%~21.3%。

在剥去种皮播种的 2 个处理中,纱布法 (1/2MS) 在出芽时间上要短于 MS 培养基 5d,在污染率和出芽率上没有明显的差别。纱布法 (1/2MS) 较 MS 固体培养基污染率降低了 0.8%,出芽率提高了 5%。但从苗的长势看,播种在 MS 固体培养基上的苗茎秆细弱,子叶展开较晚 (见附图 1),而以纱布为支持物的培养基上发芽后转入到 MS 固体培养基上的苗长势粗壮,子叶能正常展开。所以在以后的试验中均采用纱布法 (1/2MS) 播种 (见附图 2),发芽后,转入 MS 固体培养基上进行

壮苗培养,待苗长至9~10cm高时备用。

2.2 愈伤组织的诱导

由表3可以看出:两种培养基中,MS和B5培养基的平均诱导率分别为80.8%和78.6%,没有太大的

差别,但在实验中发现B5培养基诱导的愈伤组织块有部分呈现紫色,可能由于培养基成分不同作用而导致颜色上的差异^[9]。

从不同的外植体来看,茎最容易诱导得到愈伤组

表3 不同激素浓度对比对诱导愈伤组织的影响

处理	根		茎		叶	
	诱导率/%	生长情况	诱导率/%	生长情况	诱导率/%	生长情况
1	82	膨大明显,疏松淡黄色+++	79	愈伤淡黄色++	34	出愈晚,淡绿色,较紧密+++
2	80	淡紫色,疏松+++	78	愈伤淡黄色++	30	出愈晚,淡绿色,较紧密+++
3	89	部分玻璃化,++	86	愈伤淡黄色,较紧密+++	53	愈伤淡绿色,较紧密+++
4	81	愈伤淡紫色,++	86	部分淡褐色,较紧密+++	56	愈伤淡绿色,较紧密+++
5	95	愈伤不正常	96	部分玻璃化+++	93	膨大明显,淡绿色,较紧密++++
6	94	愈伤不正常	92	部分玻璃化+++	89	膨大明显,淡绿色,较紧密++++
7	84	愈伤不正常	95	部分玻璃化+++	83	淡绿色,较紧密++++
8	81	愈伤不正常	95	部分玻璃化+++	81	淡绿色,较紧密++++

注: + 生长势很弱, ++ 生长势弱, +++ 生长中等, ++++ 生长良好。

附图:

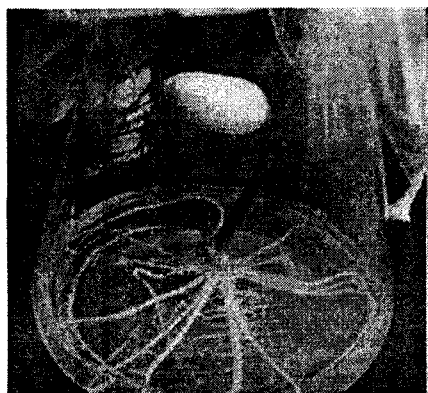


图1 MS培养基上的苗



图2 纱布培养基上的苗



图3 根形成愈伤组织



图4 茎形成愈伤组织



图5 子叶形成愈伤组织

织,在含激素的MS培养基上平均出愈率为89.0%,但由茎得到的愈伤组织有部分玻璃化现象,所以在以后的试验中不选用茎产生的愈伤组织;根的出愈率仅次于茎段,在含激素的MS培养基上平均出愈率为

87.5%,但也存在着玻璃化现象,且生长弱;叶片的诱导率平均为65.8%,但得到的愈伤组织结构较紧密,颜色为淡绿色,生长良好。(不同外植体形成的愈伤组织的情况见附图3、4、5)。

综上,叶片为诱导愈伤组织的适宜外植体,适宜培养基:MS+2,4-D1.0+6-BA0.5+ NAA0.02。诱导率达93%。

3 结论

3.1 无菌系的建立采用先是以纱布为支持物,以1/2MS 液体培养液浸透,发芽后再转入 MS 固体培养基上壮苗,可在短期内建立蓖麻组织培养的无菌系。蓖麻体内存在具有多种生物效应的内生细菌群,袁红旭等从健康的野生蓖麻及栽培蓖麻茎、叶中分离出36个内生细菌菌株^[9]。植物内生细菌是与植物建立的共生关系的微生物,能在植物体内保持较长的时期,因此,在蓖麻组织培养时,无菌系的建立以根、茎、叶等为外植体时较难。而以成熟种子为外植体时,可在短期内就建立无菌系。

3.2 在以根、茎、叶为外植体进行愈伤组织的诱导时,茎的愈伤组织诱导率最高,但有部分愈伤组织呈玻璃化,不宜开展下一步的试验。由叶得到的愈伤组织,颜

色淡绿,较紧密,生长正常,适合进行下一步的试验,适宜培养基为:MS+2,4D1.0+6-BA0.5+NAA0.02,愈伤组织诱导率达93%。

参考文献

- [1] 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴.第二册.第一版.北京:科学出版社.1972:582-606.
- [2] 严兴初,等.蓖麻种质资源描述规范和数据标准.北京:中国农业出版社.2007:1-2.
- [3] 中国作物学会,国家科委农村科技司,湖南省农学会编.中国作物栽培[M].北京:科学普及出版社,1991:35-37.
- [4] 曹孜义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,1996:95-97.
- [5] 刘庆昌,吴国良.植物细胞组织培养.北京:中国农业出版社,2003.256-262.
- [6] 袁红旭,周锦兰,郑向华,等.蓖麻内生细菌生物效应分析.中国油料作物学报,2005,27(3):62-65.

(责任编辑:李碧鹰)