

食用仙人掌的组培快繁技术研究

阮先乐,艾 辛*

(湖南农业大学园艺园林学院,湖南长沙 410128)

摘 要: 以食用仙人掌嫩茎切块为外植体进行组织培养,研究了 6-BA、IAA 和 IBA 对其组培快繁的影响。结果表明,诱导萌芽以在 MS+6-BA1.0 mg/L+IAA0.3 mg/L 培养基上效果最好,萌芽率达 88.9%;最好的增殖培养基是 MS+6-BA1.0 mg/L+IAA0.3 mg/L,增殖率为 345.4%,且中下部分比上部增殖效果要好;在 1/2MS+IBA0.5 mg/L 生根培养基上,平均每个苗长 2.67 个根,且有的根长达 5 cm。当苗高 3 cm,根长 2 cm 时,炼苗 3 d 后移栽于椰子壳:珍珠岩为 1:1 的混合基质中,成活率为 95%。

关键词: 食用仙人掌;组织培养;快速繁殖

中图分类号: S682.33

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2008)03-0298-04

Studies on Technique of Rapid Propagation for Edible Cactus via Tissue Culture

RUAN Xian-le and AI Xin*

(College of Horticulture and Landscape, Hu'nan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Using the tender stems of Edible cactus as the explants, the effects of different medium on plant regeneration were examined. The results indicated that the appropriate medium for bud induction was MS + 6-BA1.0 mg/L + IAA0.3 mg/L. the highest rate of bud induction was 88.9%. the medium of multiplication was MS+6-BA1.0 mg/L+IAA0.3 mg/L, the multiplication rate was 345.4%. the multiplication of the lower parts of the micro-cladode is higher. the medium of rooting was 1/2MS+IBA0.5 mg/L, averagely every stem has 2.67 roots, some roots length was 5cm. When root length was over 2 cm, open lid for 3 days and transplant them into mixture medium (residue and perlite in equal proportion)with up to 95% survival.

Key words: Edible cactus; Tissue culture; Rapid propagation

食用仙人掌是仙人掌科(Cactaceae)多年生厚肉多浆植物。原产于美洲和非洲的沙漠地区,盛产于墨西哥,其产量在墨西哥蔬菜中居第5位,是拉美甚至欧洲各国人民所喜爱的很普通的蔬菜品种之一。1998年,由国家农业部引进在海南种植获得成功,之后种植规模逐步扩大^[1]。该类植物具有较高的食用和药用价值。它含有人体健康所需的多种维生素以及钙、磷、铁等微量元素,并含有氨基酸、纤维素、琥珀酸等成分^[2]。中国医学科学院药用植物研究所的药学研究报告指出:国

内引种的墨西哥仙人掌品种有一定的降糖和较明显的降低胆固醇和甘油三脂含量的作用,而且其组织中独有的抱壁莲、角蒂仙和玉芙蓉等成分还可增强人体免疫力^[3]。食用仙人掌具有抗旱、耐贫瘠、适应性强、病虫害少的特点,易于达到无公害蔬菜标准要求。栽培管理容易,经济效益高,具有广阔的开发前景^[4]。同时食用仙人掌常采用扦插繁殖,一般每片仙人掌只有1~3个芽点,嫩片长到5~6个月后才能作种片进行扦插,而低温(15℃以下)季节里食用仙人掌进入休眠

收稿日期:2007-11-23 修回日期:2008-01-10

作者简介:阮先乐(1977-),男,河南省周口市人,在读硕士研究生。

* 通讯作者:艾 辛。E-mail: ruanxianle@126.com

期,则生产周期更长。另外扦插繁殖时,易造成切口腐烂,不易生根成活,因而扦插繁殖率很低^[5]。从而严重制约了仙人掌产业的发展。采用组培快繁,每芽每继代1次(20 d左右)可增殖5~6倍,时间短,繁殖速度快,可加快推广^[6]。本试验旨在建立简单、高效的食用仙人掌离体快繁体系,以加快其推广速度和扩大生产规模,满足市场需要。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料来源于湖南农业大学园艺园林学院蔬菜生产基地。试验于2006年5月到2007年6月在湖南农业大学园艺园林学院植物组织培养室进行。

1.2 方法

1.2.1 外植体的处理 从田间选择一个月龄的生长健壮无病虫害的仙人掌片,带回实验室用自来水冲洗30 min,将掌片上的叶刺去掉。然后在超净工作台上先用75%的酒精浸泡20 s,无菌水冲洗一次,再用0.1%升汞+3滴吐温-80浸泡9 min,接着用无菌水冲洗4~5次。以刺座为中心,切成0.5 cm²大小的外植体。

1.2.2 芽的诱导和分化 采用两因子三水平,分别是6-BA(0.5 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L)和IAA(0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.3 mg/L),共9个处理组合,每处理20个外植体。基本培养基是MS培养基,添加0.75%的琼脂,3%的蔗糖,pH值为5.8。将接种后的材料置26~28℃的培养室

内,以日光灯为光源,光照强度为1 000~2 000 lx,连续光照,培养室相对湿度70%~80%。

1.2.3 微掌的继代增殖 采用两因子四水平,分别是6-BA(0.5 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L、2.0 mg/L)和IAA(0.1 mg/L、0.3 mg/L、0.5 mg/L、0.7 mg/L),共16个处理。另外将新掌分成上、中、下三部分进行培养,用以研究不同取材部位的增殖率。基本培养基是MS培养基,添加0.75%的琼脂,3%的蔗糖,pH值为5.8。培养条件同上。

1.2.4 微掌的生根培养 以1/2MS+3%蔗糖+0.75%琼脂为基本培养基,添加不同浓度的IBA(0.1 mg/L、0.3 mg/L、0.5 mg/L、0.7 mg/L、0.9 mg/L)。培养条件同上。

1.2.5 试管苗的移栽 试管苗生根后,当苗高达3 cm以上,根长2 cm以上时,炼苗3 d后移栽于椰子壳:珍珠岩为1:1的混合基质中。

2 结果与分析

2.1 6-BA、IAA对外植体诱导萌芽的影响

将适宜日龄的外植体接种到初代培养基上,10 d后,有的外植体无愈伤组织产生,直接诱导分化出嫩绿的芽;有的外植体产生颗粒状淡黄色愈伤组织,但没有分化出芽。出芽的高峰期是接种后的第10天到第14天,截止接种后的第17天,6号和1号培养基对外植体的诱导分化率分别为88.9%和87.5%。

表1 不同培养基对仙人掌外植体芽诱导的影响

Table 1 The effects of different medium on bud induction of Cactus

编号 No.	激素/(mg/L) Growth hormone		外植体数 No. of explants	萌芽时间/d Date of bud formation	诱导率/% Percentage of bud formation	生长状况 Bud growth	高度≥4mm的新掌/% Percentage of plantlet(≥4mm)
	6-BA	IAA					
1	0.5	0.1	20	12	87.5	+	31.3
2	0.5	0.2	20	14	58.3	+	0.0
3	0.5	0.3	20	12	22.2	-	0.0
4	1.0	0.1	20	10	45.0	+	40.0
5	1.0	0.2	20	14	51.8	+	0.0
6	1.0	0.3	20	10	88.9	++	61.1
7	1.5	0.1	20	10	40.0	+	10.0
8	1.5	0.2	20	10	71.4	++	57.0
9	1.5	0.3	20	14	20.0	-	10.0

注:诱导分化率为接种后第17天的统计结果。

Note: The statistical time of percentage of bud formation were after 17 days of primary culture.

表 2 不同培养基对微掌增殖的影响

Table 2 The effects of different medium on multiplication of micro-cladode

编号 No.	激素/(mg/L), Growth hormone		接种数/个 No. of inoculated shoot	新掌数/个 No. of plantlet formed	增殖率/% Multiplication rate	生长状况 Bud growth	长度 \geq 2cm 的新掌 /% Percentage of plantlet(\geq 2cm)
	6-BA	IAA					
A1	0.5	0.1	36	83	230.5	+	18.0
A2	0.5	0.3	40	115	287.5	++	22.6
A3	0.5	0.5	48	70	145.8	+	25.7
A4	0.5	0.7	32	106	331.2	++	18.8
B1	1.0	0.1	40	127	317.5	++	19.6
B2	1.0	0.3	44	152	345.4	++	7.8
B3	1.0	0.5	48	121	252.0	++	16.5
B4	1.0	0.7	44	122	277.2	+	10.6
C1	1.5	0.1	44	73	165.9	+	13.6
C2	1.5	0.3	48	115	239.5	+	6.6
C3	1.5	0.5	44	106	240.9	+	0.0
C4	1.5	0.7	44	24	54.5	-	0.0
D1	2.0	0.1	36	18	50.0	-	0.0
D2	2.0	0.3	36	12	33.3	-	0.0
D3	2.0	0.5	36	28	77.7	-	0.0
D4	2.0	0.7	36	25	69.4	-	0.0

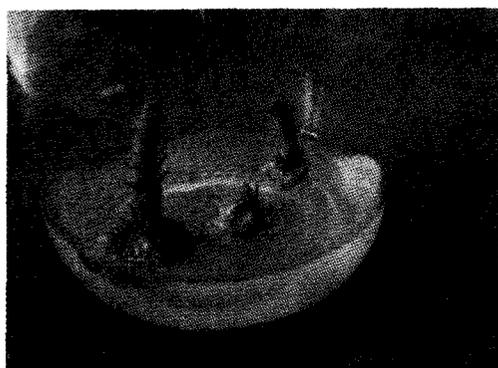


图 1 初代培养 30 d

Fig. 1 The edible cactus of after 30 days of primary culture



图 3 在基质中培养 30 d

Fig. 3 The edible cactus of after 30 days in medium



图 2 继代培养 25 d

Fig. 2 The edible cactus of after 25 days of subculture

在 1 号培养基中的一个外植体所萌发的芽, 接种后第 15 天就高达 1 cm, 并且切口愈伤化, 接种后第 25 天其高度近 3 cm, 切口产生大量浅绿色愈伤组织, 新掌呈圆柱状, 嫩绿色。在培养 23 d 时, 6 号和 4 号培养基中各有一个约 1 cm 高的呈圆柱状的新掌。从培养 23 d 高度大于(或等于)



图 4 在田间生长 35 d

Fig. 4 The edible cactus of after 35 days in field

4 mm 的芽来说, 6 号培养基中的芽达到 61.1%, 其次是 8 号培养基中的芽, 达到 57.0%, 而 2 号、3 号和 5 号培养基中的芽都很小。综合来看, 6 号培养基对仙人掌外植体的诱导分化最好, 即 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L IAA (图 1)。

2.2 微掌继代增殖的影响

2.2.1 6-BA, IAA 对微掌继代增殖的影响 接

种第 10 天后,材料的生长开始明显的加速。总体来看,材料有的产生愈伤组织且在其上长新掌,有的直接在材料上的刺眼处长新掌。当 6-BA 的浓度较低时,新掌的高度超过 2 cm 的比较多,例如 6-BA 为 0.5 mg/L, IAA 为 0.5 mg/L 时,超过 2 cm 的新掌所占比例是 25.7%,有的新掌甚至高达 5 cm。而随着 6-BA 浓度的增加,新掌的高度有所下降,甚至没有 2 cm 高的新掌。主要的原因是 6-BA 是细胞分裂素,在生长素 IAA 浓度变化不大的情况下,随着 6-BA 浓度的增加,新掌的高度肯定会降低。当培养 25 d 时,编号为 B2, A4 和 B1 培养基中的材料增殖率分别是 345.4%,

331.2% 和 317.5%。

在 B2 培养基中,生长素 IAA : 细胞分裂素 6-BA 接近于 0.2 : 1.0, 这个比例就是一般组织培养中生长素:细胞分裂素的比例。综合来看,对于仙人掌的继代增殖用 B2 培养基比较好,即 MS + 6-BA 1.0 mg/L + IAA 0.3 mg/L (图 2)。

2.2.2 不同取材部位对仙人掌芽增殖的影响

取材部位分为上部、中部和下部三个部分。从结果来看,以下部的材料增殖率最高,是 218.3%。但是在新掌大于 2 cm 所占比例来看,以上部为好。因此在进行继代培养中,用中部和下部的材料比较好。

表 3 不同取材部位对仙人掌芽增殖的影响

Table 3 The effects of different parts on multiplication of micro-cladode

取材部位 Parts of materials	接种数/个 No. of inoculated shoot	新掌数/个 No. of plantlet formed	增殖率/% Multiplication rate	长度≥2cm 的新掌/% Percentage of plantlet(≥2cm)
上部 Upper	224	380	169.6	16.1
中部 Middle	224	471	210.3	11.3
下部 Lower	208	454	218.3	11.7

2.3 IBA 对微掌生根壮苗的影响

将整个新掌用来进行生根试验,一周后在培养基中的切口边缘开始生根,随着培养时间的增加,根从白色变为黄色,且增粗。由表 4 可知,

在 IBA 的含量为 0.5 mg/L 时,平均每个苗 2.67 个根,根系生长粗壮健全,且有的根长达 5 cm。因此,可选用 1/2MS + IBA 0.5 mg/L 为仙人掌生根培养的最适培养基。

表 4 不同培养基对仙人掌芽生根的影响

Table 4 The effects of different medium on rooting of micro-cladode

编号 No.	激素/(mg/L) Growth hormone IBA	接种数/个 No. of inoculated shoot	总根数/个 No. of root produced	开始生根时间/d Date of rooting	根系生长情况 Root growth	平均根数/(个/苗) No. of root per shoot(average)
1	0.1	41	76	9	黄白色,细短,生长慢	1.85
2	0.3	41	102	7	白色,粗壮,生长均匀	2.49
3	0.5	45	120	7	黄白色,粗壮,生长均匀	2.67
4	0.7	40	64	9	白色,粗短,生长慢	1.60
5	0.9	40	67	9	黄白色,粗短,生长慢	1.68

2.4 试管苗移栽

试管苗生根后,当苗高达 3 cm 以上,根长 2 cm 以上时,炼苗 3 d 后移栽于椰子壳:珍珠岩为 1:1 的混合基质中,要用薄膜覆盖保湿一周。在基质中进行一个月的壮苗培养(图 3)后就可以移栽,移栽成活率可达 95% 以上。

在适合继代培养的激素组合中,生长素 IAA : 细胞分裂素 6-BA 为 0.3 : 1.0 时,新掌最多且呈嫩绿色,但高度超过 2 cm 的较少。说明这个激素组合有利于继代增殖,同时由于高浓度的细胞分裂素的存在,使得新掌普遍不高。这个结果与张正彬等^[8]的研究结果非常接近。

3 讨论

在本试验中,用做初代培养的掌片日龄与预备试验所用的掌片日龄不同,发现适合诱导外植体分化的激素组合浓度也不同。原因之一是:对外源激素的要求取决于在该植物系统中内源激素的水平,而内源激素的水平随组织,植物类型和植物的生长期而变化^[7]。

在试验中发现,凡是在培养瓶中的掌片均呈圆柱状,即使移出培养瓶过一段时间也不会因为环境的改变呈扁平状,但是其上新长的仙人掌片却呈扁平状(图 4)。

初代培养诱导分化和继代增殖所用的培养基相同,激素也比较常见并且价格也比较便宜,有利于降低生产成本,提高经营效益。但我们还应该:

(下转第 307 页)

