

食用仙人掌‘米邦塔’的试管快繁

赵长增^{1,2} 陆璐^{1,2} 陈佰鸿¹

(¹ 甘肃农业大学园艺系, 兰州 730070; ² 中国热带农业科学院热带作物生物技术国家重点实验室, 海口 571101)

摘要: 对食用仙人掌‘米邦塔’的试管快繁研究结果表明: 初代培养基以 MS + 6-BA 0.6 mg L⁻¹ + NAA 1.0 mg L⁻¹ + 2,4-D 0.1 mg L⁻¹ 为最佳处理, 接种 60 d 后, 外植体上刺座下的潜伏芽萌发率可达 67%。继代增殖培养适宜培养基为 MS + 6-BA 0.1 mg L⁻¹ + NAA 1.0 mg L⁻¹ + 2,4-D 0.2 mg L⁻¹ 或 MS + 6-BA 0.1 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹, 平均每 50 d 继代增殖培养 1 次, 增殖倍数可达 5~6, 且新生的小子茎生长旺盛。在培养过程中, 虽然部分外植体切口处发生大团绿色至黄绿色小颗粒状愈伤组织, 然而均没有分化不定芽。在生根培养基 MS + IAA 0.1 mg L⁻¹ 或 MS + IBA 0.1 mg L⁻¹ 上, 2~3 cm 高的小子茎培养 10 d 左右发根, 形成完整植株。当试管苗高达 5 cm 时移入砂床, 成活率高达 99%, 经约 60 d, 试管苗发出第一批掌片。

关键词: 仙人掌; 试管快繁; 增殖倍数

中图分类号: S 63; S 682.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 05-0609-03

1 目的、材料与方法

食用仙人掌原产墨西哥, 菜用类型 (*Opuntia* sp.) 的商品器官是一个半月龄内的幼嫩掌片。繁殖食用仙人掌通常选用 6 月龄以上的老熟掌片作种片, 行扦插繁殖。由于繁殖系数低, 种片价格昂贵。陈佳瀛等^[1]、曾宋君^[2]、蔡宣梅等^[3]曾报道观赏类仙人掌的试管快繁和试管内嫁接技术, 陈丽静等^[4]通过诱导不定芽发生途径对食用仙人掌试管快繁进行了探讨。本项研究采用了诱导食用仙人掌掌片刺座下潜伏芽萌发并再生完整植株的“芽生芽”途径解决快繁问题, 具有繁殖系数高, 较少发生变异的优点。

试验材料为食用仙人掌‘米邦塔’, 采自海南省澄迈县永发镇。挑选生长健壮、无病虫害危害、不同日龄的掌片, 自基部割取, 带回室内以备接种。植物生长调节剂 6-BA、IAA、NAA 和 2,4-D 购自 Sigma 公司, 其他试剂为广州化学试剂厂生产。

初代培养: 将掌片直接浸泡在 75% 酒精中 1 min, 再用 0.1% 升汞消毒 10 min, 无菌水冲洗 4 次, 滤纸吸干, 切成 0.5~0.6 cm³ 方形小块, 接种于 5 种芽诱导培养基 (表 1) 培养。培养基中添加琼脂 7 g · L⁻¹, 蔗糖 28 g L⁻¹, pH 5.8, 121 °C 高压灭菌 15 min。于 26 °C, 3 000 lx, 光 16 h/暗 8 h 光周期下培养。

继代增殖: 初代培养 60~70 d 后, 一部分外植体上刺座下潜伏芽萌发长成的初生小肉质子茎, 可用于继代增殖培养。继代培养中的初始小子茎均来自初代培养基 (3)。挑选高 2 cm 左右、生长良好的棒型小肉质子茎自其基部切下, 再将其横切成顶部、中部、基部三段, 接种于 4 种培养基 (表 2) 进行继代增殖培养。其他条件同初代培养。

生根培养与移栽: 诱导生根培养基为: (1) MS; (2) MS + IAA 0.1 mg L⁻¹ (单位下同); (3) MS + IAA 0.5; (4) MS + IBA 0.1; (5) MS + IBA 0.5。开盖 7 d 后移植于沙培苗圃, 统计移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 不同培养基初代培养的效果

仙人掌越是老龄的掌片酸味越重, 将其切割成小块外植体时, 渗出的酸性细胞液会引起外植体自

收稿日期: 2002-10-08; 修回日期: 2003-02-11

身褪绿软腐,有时还会引起琼脂培养基 pH 过低而不能保持凝固状态,导致组培失败。应选取 10~30 d 龄的幼嫩掌片作为外植体。

外植体在 5 种初代培养基上经过 60~70 d 培养后均有小子茎从刺座下发出,但小子茎发生的比例、形状及生长速度依培养基不同表现出明显差异(表 1)。部分外植体自切口处发生大团绿色至黄绿色瘤状或小颗粒状愈伤组织,但均没有不定芽分化。培养基(3)是最佳处理,培养物的生长量最大,外植体切块上刺座下的潜伏芽萌发率达 67%,潜伏芽萌发并长大成肉质棒状小子茎,其中小子茎高度超过 1 cm 的 40 个,占 60%,有的达到 3 cm,颜色浓绿(见插页 2 图版,1)。外植体在培养基(5)上生长最快,接种后 7~10 d,就可观察到外植体切口处增大、增厚,随后中间部分肿大增生,与培养基接触面亦发生大量淡绿色瘤状或小颗粒状愈伤组织。然而潜伏芽萌发率不高,仅有约 1/4 外植体上有小子茎发生,且小子茎呈畸形增大,有的长有肥大分叉,有的形状似草莓(图版,2)。在培养基(1)上,潜伏芽萌发率最高,达 70%,但新生的小子茎生长缓慢,短缩瘦小呈灰绿色。母体外植体块不发生或较少发生愈伤组织,自身也很少增大,最先干瘪死亡。分析以上结果可以看出,添加适量生长素,特别是 2,4-D,对组培仙人掌小子茎的生长具有明显的促进作用。

表 1 不同初代培养基对仙人掌‘米邦塔’掌片切块潜伏芽萌发的影响

Table 1 Effects of different medium on latent buds shooting of *Opuntia* ‘Milpa Alta’

序号 No.	基 本 培养基 Medium	6-BA (mg L ⁻¹)	NAA (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)	接种外植体数 Number of explant	萌发的芽数 Number of shooting	芽萌发率 Shooting rate of explant (%)	超过 1 cm 高的小子茎数 Number of shooting over 1 cm in height
(1)	MS	2.0	0.2	0	67	47	70	8
(2)	MS	1.0	0.5	0	48	20	43	7
(3)	MS	0.6	1.0	0.1	63	42	67	40
(4)	MS	0.5	1.0	0.5	60	36	61	23
(5)	MS	1.0	2.0	1.0	38	15	40	2

注:2000 年 7 月 10 日和 2001 年 6 月 25 日两次合计统计结果。

Note: Counted on July 10, 2000 and June 25, 2001 respectively.

2.2 不同培养基继代增殖培养的效果

在继代培养中,培养基和切段部位不同,小子茎萌发的数量与生长势出现差异。在继代培养基(1)和(3)上,被继代的小肉质茎段大多数生长旺盛,其上又有数目更多的小肉质茎发生并伸长,呈丛生状(图版,3),可以观察到顶部切段往往只从其基部伤口附近萌发 1~3 个芽,中部切段 4~7 个芽萌发,基部切段萌发的芽数量多,一般在 7 个以上,新发生的小子茎伸长也较快,抽生出从形态上可分辨的小子茎约需 30 d,小子茎继续伸长至 2~5 cm 高度还需 20 d。平均每 50 d 继代一次,增殖倍数可达到 5~6(表 2)。在继代培养基(4)上的小肉质茎段芽萌发率较低,平均每切段上仅有 1.7 个芽萌发,且新发生的小子茎伸长较慢,鳞片呈抱合状。另外,继代培养基(3)似乎更适合对草莓状初生小子茎进行继代培养,每个小子茎上常有多达 20 余个萌发芽并伸长长大(图版,4)。

表 2 食用仙人掌‘米邦塔’在不同继代培养基上的增殖倍数

Table 2 Multiplication of *Opuntia* ‘Milpa Alta’ in the different subculture medium

序号 No.	基本 培养基 Medium	6-BA (mg · L ⁻¹)	NAA (mg · L ⁻¹)	2,4-D (mg · L ⁻¹)	第 1 次继代 Subculture 1		第 2 次继代 Subculture 2		第 3 次继代 Subculture 3		平均继代 50 d 后 的增殖倍数 Average multiplic- ation of one explant after 50 days
					外植体 切段数 Cutting No. of explant	50 d 后新 生茎数 Shooting No. after 50 days	外植体 切段数 Cutting No. of explant	100 d 后新 生茎数 Shooting No. after 100 days	外植体 切段数 Cutting No. of explant	150 d 后新 生茎数 Shooting No. after 150 days	
(1)	MS	0.1	1.0	0.2	30	134	30	97	30	104	5.6
(2)	MS	0.5	0.1	0	30	88	30	87	30	99	4.6
(3)	MS	0.1	0.5	0	30	135	30	91	30	77	5.0
(4)	MS	1.0	0.1	0	30	50	—	—	—	—	—

2.3 生根培养与移栽

食用仙人掌生根容易。当继代培养基中的小肉质茎长至高 2~3 cm 左右时，可将其切下扦插至生根培养基中培养。约 10 d 后，不添加生长素的培养基中小肉质茎也能发根，但添加 IAA 或 IBA 0.1~0.5 mg L⁻¹ 均能起到促进发根的作用，根量多且生长迅速。发根小植株再经 7 d 炼苗后，移至砂床上，5 cm 以上高度的组培小苗移栽成活率可达 99%。出瓶后的小植株由于根系迅速生长扩大，营养状况得到加强，约 60 d 后，其棒状的小肉质茎上迅速发生第一批子茎，子茎茎片明显增大。此后试管苗发出的各级茎片层层增大，商品性好，但易出现上大下小的“小脚”现象，易倒伏。可于种苗定植后采用培土垄栽，防止倒伏发生。

一个发育良好的‘米邦塔’茎片上通常有几十至近百个刺座，经初代诱导培养后，大部分刺座下的潜伏芽可萌发伸长形成新生小子茎。本试验还发现，植物激素对食用仙人掌外植体的作用没有后效应，在初代培养中外加植物激素，外植体的顶端优势能够得到解除，使其上的潜伏芽萌发，但不能继续解除新生小子茎的顶端优势。只有切割下新生的小子茎，重新接种于继代培养基上，才能促使新生小子茎上的潜伏芽再萌发。需要注意的是，单独添加 6-BA 对潜伏芽的萌发具有明显的促进作用，但小子茎生长很慢，必须与一定浓度的生长素相配合，才能使其生长加快，从而使增殖率达到最大。另外，继代增殖过程中及时分割小子茎，将其转移到新鲜的继代增殖培养基上，可明显提高增殖速度。

在生根培养基上，小仙人掌并不表现出自然生长状态下的“掌片状”，而呈“扁棒状”（图版，5）。这种现象可能是受到了培养基中 IAA 的刺激，使顶端优势加强，生长不停的缘故。试管苗出瓶入土后，发出的新子茎恢复原来的掌片状（图版，6）。另外，作者对‘米邦塔’进行观察研究认为，‘米邦塔’（Milpa Alta）可能不是一个品种名，而是墨西哥米邦塔地区所产食用仙人掌的商品通用名，其中混杂有多种变异类型，我国应对其进行选择纯化和株系比较，以上升为“品种”。

参考文献：

- 1 陈佳瀛，杜秀达，陈 军. 仙人掌和仙人指的组培嫁接成苗. 植物生理学通讯，1999，35（4）：298
- 2 曾宋君. 象牙球的组织培养. 植物生理学通讯，1996，32（6）：430
- 3 蔡宣梅，魏翠华，陈 伟. 金琥的离体快速繁殖. 植物生理学通讯，2000，36（3）：233
- 4 陈丽静，潘 英，马 慧，等. 仙人掌的离体培养及其快速繁殖. 园艺学报，2001，28（4）：327~330

Rapid Propagation of Cactus ‘Milpa Alta’ in Vitro

Zhao Changzeng^{1,2}, Lu Lu^{1,2}, and Chen Baihong¹

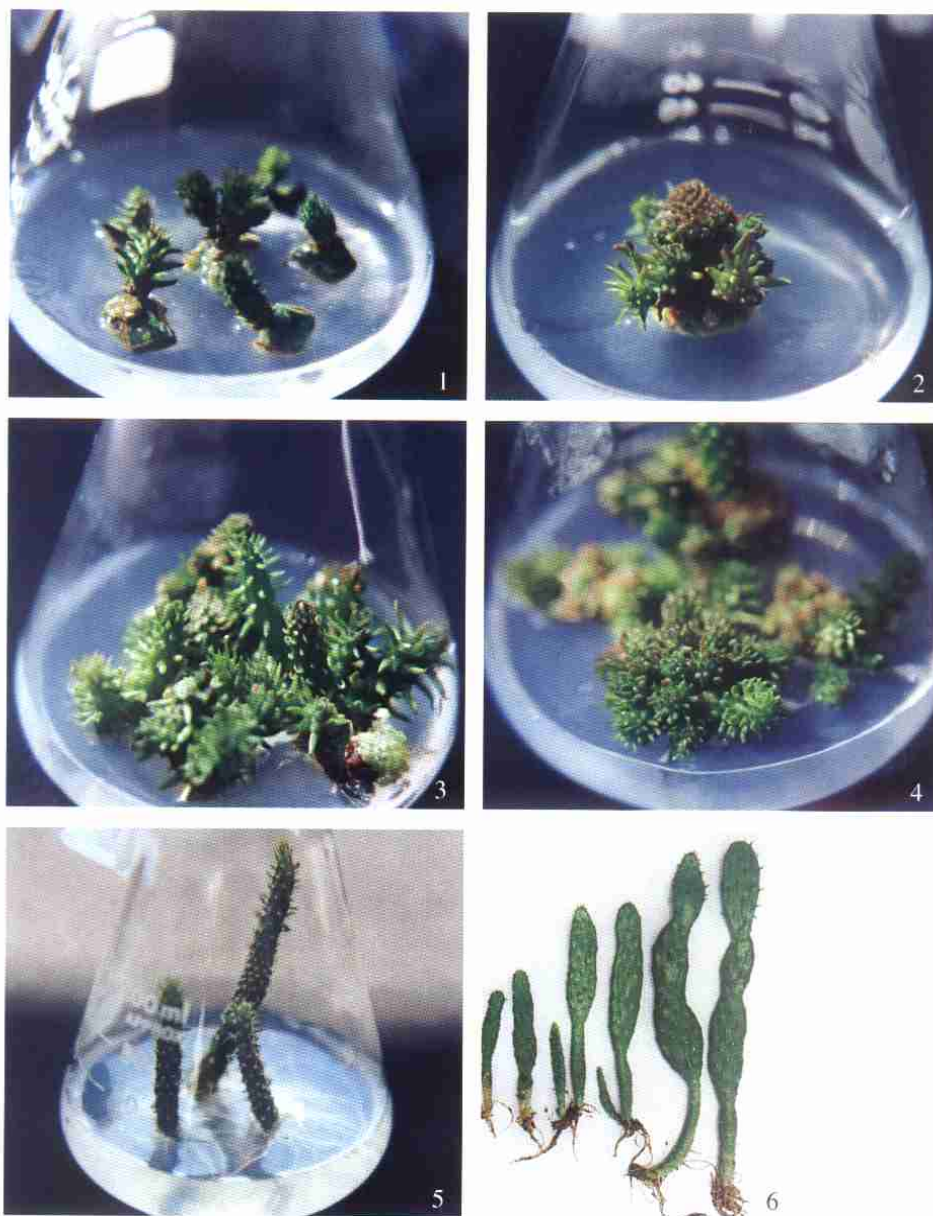
(¹ Department of Horticulture, Guansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; ² State Key Laboratory of Tropical Crop Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract : Effects of several factors such as medium, cutting materials and sterilization methods for rapid propagation in vitro on cactus (*Opuntia dillenii*) ‘Milpa Alta’ were studied. The results indicated that the optimal medium for primary culture was MS + 6-BA 0.6 mg L⁻¹ + NAA 1.0 mg L⁻¹ + 2,4-D 0.1 mg L⁻¹. Taking cactus fresh stem as explant, a shooting rate of 67% of latent bud under the spine-base was investigated after 60 days of inoculation on this medium. The appropriate medium for multiplication and subculture of shooting were MS + 6-BA 0.1 mg L⁻¹ + NAA 1.0 mg L⁻¹ + 2,4-D 0.2 mg L⁻¹ or MS + 6-BA 0.1 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹. On this medium shoot multiplication occurred at a 5 to 6-fold rate after 50 days. The shoots cultured on the rooting medium of MS + IAA 0.1 mg L⁻¹ or MS + IBA 0.1 mg L⁻¹ produced rootlets after 10 days. The plantlet upwards of 5 cm height was rooted in sand medium with up to 99% survival and produced new shoots in the field after 60 days.

Key words : Cactus; Rapid propagation; Multiplication

赵长增等：食用仙人掌‘米邦塔’的试管快繁

Zhao Changzeng, et al: Rapid Propagation of Cactus ‘Milpa Alta’ in Vitro



图版说明：1. 在初代培养基（3）上，食用仙人掌刺座下的潜伏芽萌发并长成肉质棒状小子茎；2. 在初代培养基（5）上，有的初生小子茎长成草莓形状；3. 在继代培养基上的丛生小肉质茎；4. 一个草莓形状的初生小子茎在继代培养基（3）上萌发20余个侧芽；5. 在生根培养基上，小仙人掌长成扁棒状；6. 试管苗出瓶入土后，新发出的茎片恢复原来的掌片状。

Explanation of plates: 1. The shoots from latent buds are fleshy rods in shape on primary medium (3); 2. The shoots from latent buds are strawberry-like in shape on primary medium (5); 3. The shoots from latent buds are fleshy rods in shape on subculture medium (3); 4. More than 20 latent buds sprouted from a strawberry-like cactus on subculture (3); 5. Small cactus shoots rooted and grew into "fasciate rods", on rooting medium; 6. Plantlets produced freshly stems in the field.