

食用仙人掌的离体培养及其快速繁殖

陈丽静¹ 潘英² 马慧¹ 刘少霞¹ 姜明兰¹ 钟文田¹

(¹ 沈阳农业大学生物科学技术学院, 沈阳 110161; ² 沈阳农业大学生物科学技术学院海城天成产学研基地, 海城 114200)

摘要: 研究了食用仙人掌离体快繁的若干影响因素。适宜的培养基为: 不定芽诱导, MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; 继代和增殖, MS + 6-BA 1 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 0.3 mg/L, 继代培养 30 d, 平均增殖倍数为 8; 生根培养基为 1/2 MS + NAA 0.1 mg/L + IBA 0.1 mg/L。在培养过程中, 有些外植体膨大, 并有疏松的淡黄色颗粒状愈伤组织出现, 从愈伤组织表面分化出芽; 有些外植体不膨大, 无愈伤组织出现, 直接分化出丛生芽。过渡移栽基质为田园土 珍珠岩 河沙 = 1 1 1, 试管生根苗根长约 1 cm 时移栽, 成活率最高可达 95 % 以上。

关键词: 仙人掌; 食用仙人掌; 植物组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S 682 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2001) 04-0327-04

食用仙人掌 (*Opuntia milpa alta* Haw.) 是仙人掌科 (*Cactaceae*) 仙人掌属 (*Opuntia* Mill) 多年生厚肉多浆植物, 原产美洲, 盛产墨西哥, 是从 300 多种仙人掌品种中选育出的蔬菜专用品种, 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, 具有行气活血、清热解毒的作用^[1,2], 且具有发达的贮水组织, 抗逆性好, 适应能力强, 具有较高的开发前景。食用仙人掌常用分株法繁殖, 自然繁殖率低, 切下自然分生的芽在土壤中生根时易造成切口腐烂, 植株不易成活。而采用组织培养的方法即可获得较高的繁殖系数, 又可克服生根困难。本研究旨在探索适合于食用仙人掌离体快繁的取材部位及在一定的范围内筛选出适合诱导分化、继代增殖、生根的较优培养基, 也为系统研究仙人掌科植物的离体再生能力奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试材为沈阳农业大学生物科学技术学院海城天成产学研基地提供的大棚苗, 种源引自墨西哥。

1.2 方法

本试验研究部分在沈阳农业大学生物技术中心的组织培养实验室进行, 扩繁生产部分在沈阳农业大学生物科学技术学院海城天成产学研基地进行。在取材和培养基的选用方面参考文献 [3, 4] 的内容。为确保试验结果可应用于生产, 试验反复重复多次。

1.2.1 外植体处理 外植体取自生长旺盛、健壮的月龄苗, 取材部位按极性方向分上、中、下 3 个部分, 每部分粗切成小块, 用自来水冲洗 30 min, 滤纸吸干。在超净工作台上

收稿日期: 2000 - 11 - 01; 修回日期: 2001 - 03 - 12

进行表面灭菌处理：75 %酒精漂洗 30 s，无菌水漂洗 1 次，0.1 % HgCl₂ 消毒液浸泡 5 ~ 8 min，无菌水漂洗 5 ~ 6 次。

1.2.2 不定芽的诱导和分化 接种前将材料切成 0.5 cm³ 的小块，除去表面的针刺，接种到附加 3 %蔗糖、0.68 %琼脂（不同厂家及批次琼脂用量不同）及不同浓度配比激素的 MS 培养基上，pH 调至 5.8。培养温度 25 ~ 35 °C，相对湿度 60 % ~ 70 %，光照时间 14 ~ 16 h，日光灯光源，光照强度 1 400 ~ 2 700 lx。定期观察各培养基对不定芽的诱导效果。

1.2.3 不定芽的继代增殖 将分化出的不定芽接种到附加不同浓度配比激素的 MS 培养基。培养基中除了含 6-BA、NAA 外，又增加了 KT，观察不定芽的生长增殖效果。培养条件同上。

1.2.4 试管苗的生根 将长至 2 ~ 3 cm 的不定芽由芽丛单个切下，转入生根培养基（1/2 MS + 蔗糖 30 g/L，pH 5.8）。培养基添加不同浓度的 NAA、IBA。培养条件同上。

1.2.5 试管苗的移栽 试管苗开瓶 2 d 后假植于过渡移栽基质，保湿，即可成活。

2 结果与分析

2.1 外植体的取材部位对芽诱导的影响

食用仙人掌形态特殊，茎膨大呈掌状，内含大量贮水组织，取材时宜取 3 ~ 30 日龄的芽或苗（3 日龄的芽为食用仙人掌顶端生长点萌发的芽，肉眼可见为标准），小于 0.5 cm³ 的芽进行整芽接种。将表面灭菌后的材料接种到相同的培养基上培养 25 ~ 30 d 后统计生长状况（表 1）。

结果表明：芽上部切块的诱导率最高，约为中部的 4 倍，为中部的 1.5 倍，平均不定芽数也是上部最多，中部最少，下部居中。

2.2 不同培养基对外植体诱导分化的影响

取相同的外植体（3 ~ 30 日龄的食用仙人掌芽或幼苗），纵切块接种到诱导分化培养基上。7 d 后，有些外植体的切口处有疏松的淡黄色颗粒状愈伤组织出现；10 d 后从愈伤组织表面分化出绿色芽点；有些外植体不膨大，无愈伤组织出现，直接分化出丛生芽。对各配方培养材料的分化情况进行比较，筛选出较适合于芽诱导的培养基为 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L（表 2）。不同激素种类及浓度对

食用仙人掌芽的诱导分化不同。在 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的培养基中，诱导分化率为 75 %；当 6-BA 浓度为 2.0 时，诱导分化率为 54 %；当 6-BA 浓度为 4.0 时，诱导分化率为 33 %。其它两个配方中食用仙人掌的诱导分化率均非常低。在不加任何激素

表 1 不同取材部位对食用仙人掌芽诱导的影响

Table 1 Effects of different parts on propagation of *Opuntia milpa alta* Hw.

取材部位 Parts	外植体数 Explant No.	平均不定芽数 Shoot No. / explant	分化率 Differential percent (%)
上部 Upper	30	8.8	84
中部 Middle	30	1.2	21
下部 Under	30	2.7	57

表 2 不同培养基对食用仙人掌芽诱导的影响

Table 2 Effects of different medium on propagation of *Opuntia milpa alta* Hw.

培养基 Medium	激素 Hormones (mg/L)		外植体数 Explant No.	平均不定芽数 Shoot No. / explant	分化率 Differential percent (%)
	6-BA	NAA			
MS	0	0.1	30	0.1	10
MS	1.0	0.1	30	1.0	20
MS	2.0	0.1	30	3.1	54
MS	3.0	0.1	30	6.2	75
MS	4.0	0.1	30	2.3	33

的 MS 培养基中食用仙人掌也可分化，只是分化率很低。

2.3 不同培养基对外植体继代增殖的影响

将诱导分化的材料接种于继代培养基上，接种 5 d，芽体就开始萌动，不同培养基对材料分化增殖的影响见表 3。从表中可以看出，1 号和 3 号培养基的分化情况接近，平均芽数多；2 号和 4 号培养基的分化情况接近，平均芽数少。本着经济的原则，在生产实践中我们选择 1 号培养基进行规模生产。

2.4 不同培养基对外植体生根的影响

将长至 2~3 cm 的不定芽由芽丛单个切下，转入生根培养基 5 d 左右开始生根，培养约 30 d，小苗高 5 cm 左右即可移栽。

试验设计了 3 种生根培养基（表 4），结果以 1/2 MS + IBA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L 生根壮苗效果最佳。生根培养 30 d 调查，该培养基上的小苗高度均约为 5 cm，有 3~8 条白根，根长度整齐粗壮，

有二级侧根，生根试管苗健壮。1/2 MS + NAA 0.1 mg/L 培养基生根数少，粗壮，呈扁片状。1/2 MS + IBA 0.1 mg/L 培养基生根粗细均匀，较细。

2.5 生根试管苗移栽

将生根培养 30 d 达到移栽标准的试管苗在培养室打开管口培养 3~5 d，相对湿度 100%，适应外界环境后移到过渡基质，即田园土 珍珠岩 河沙 = 1 1 1 中。移栽后少喷水，保持相对湿度 60%~70%，小苗成活率达 95% 左右。

3 讨论

在植物组织培养中，植物激素对器官分化的调节起着非常重要的作用，尤其细胞分裂素与生长素的比值对组织的发育方向起决定作用^[5]。从食用仙人掌离体茎段组织培养来看，在细胞分裂素（6-BA）和激动素（KT）与生长素（NAA）配合使用下，愈伤组织的诱导和丛生芽的分化效果较好，其最适培养基的组合为 MS + 6-BA 3.0 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 0.3 mg/L。两种细胞分裂素同时使用和仙人掌的组织培养尚未见报道。

在组培过程中出现了各种变异，如叶刺变多（从一个独立的刺变为一丛叶刺）、叶刺变粗、叶刺变稀。由于食用仙人掌可以直接食用，变异产生的原因、机理及变异是否对食用者产生影响，还有待于今后进一步研究。

表 3 不同培养基对食用仙人掌芽增殖的影响

Table 3 Effects of different medium on multiplication of *Opuntia milpa alta* Haw.

序 号	培养基 Medium	激 素 Hormones (mg/L)			外植 体数 Explant No.	平均不 定芽数 Shoot No. / explant	增殖率 Multipli- cation percent (%)
		6-BA	KT	NAA			
1	MS	1.0	0.5	0.3	30	17.1	855.5
2	MS	1.0	0.2	0.1	30	6.3	315.0
3	MS	2.0	0.5	0.3	30	15.4	770.0
4	MS	2.0	0.2	0.1	30	8.7	435.0

表 4 不同培养基对食用仙人掌生根的影响

Table 4 Effects of different medium on rooting of *Opuntia milpa alta* Haw

培养基 Medium	激 素 Hormones (mg/L)		试管苗数 Test tube sprouts	生根条数 Roots/ explant	试管苗长势 The condition of test tube sprouts' growth
	NAA	IBA			
1/2 MS	0.1	0	30	3.1	+
1/2 MS	0	0.1	30	4.3	++
1/2 MS	0.1	0.1	30	5.7	++++

参考文献:

- 1 中药大辞典. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 1367 ~ 1368
- 2 全国中草药汇编. 北京: 人民卫生出版社, 1975. 275
- 3 桂耀林, 张 昭, 等. 芦荟茎组织培养及器官分化的研究. 植物学报, 1990, 32 (8): 606 ~ 610
- 4 陈丽静, 刘少霞, 马 慧, 等. 刚健芦荟的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 2000, 36 (4): 339
- 5 曹孜义, 刘国民主编. 实用植物组织培养教程. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996. 15

Tissue Culture and High Frequency Propagation of *Opuntia milpa alta* Haw.

Chen Lijing, Pan Ying, Ma Hui, Liu Shaoxia, Jiang Minglan, and Zhong Wentian

(Biotechnology Institute of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161)

Abstract: Effects of several factors such as medium, cutting materials and plant growth regulators on in vitro culture and rapid propagation of *Opuntia milpa alta* Haw. were investigated. Using the *Opuntia milpa alta* Haw. stem as explant, a method for high frequency propagation of *Opuntia milpa alta* Haw. was established. The results of the experiments suggested that the appropriate medium for different culture stages were: (1) Germination of adventitious buds: MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L. On this medium shoot multiplication occurred at a 8-fold rate after 30 days; (2) Differentiation and subculture of rosette buds: MS + 6-BA 1 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 0.3 mg/L; (3) Rootage: 1/2 MS + NAA 0.1 mg/L + IBA 0.1 mg/L. The shoots could be directly rooted in transplantation medium (soil, vermiculite and sand in equal proportion) with up to 95 % survival.

Key words: *Opuntia* Mill; *Opuntia milpa alta* Haw.; Plant tissue culture; High frequency propagation

欢迎订阅 2002 年下列期刊

《中国农业科学》(中、英文版) 是中国农业科学院主办的综合性学术刊物, 均为月刊。中文版大 16 开, 96 页, 邮发代号: 2-138, 国外发行代号: BM43, 每期定价 15 元。英文版大 16 开, 120 页, 邮发代号: 2-851, 国外发行代号: 1591M, 国内定价 15 元, 国外定价 20 美元。地址: 100081 北京中关村南大街 12 号, 电话: 010-68919808, 68976244 (传真); 电子邮件: zgnykx@mail.caas.net.cn; 网址: <http://www.ChinaAgriSci.com>

《作物学报》是中国科协主管、中国作物学会和中国农业科学院作物所共同主办、科学出版社出版的全国性学术期刊。双月刊, 大 16 开本, 136 页, 每册定价 20 元。国内外公开发行, 全国各邮局均可订阅, 国内邮发代号: 82-336。如有缺刊或漏订, 可向编辑部补订。地址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号, 邮编: 100081; 电话: (010) 68918548; 传真: (010) 68975212; E-mail: xbwz@chinajournal.net.cn

《林业科学》是中国林学会主办的学术刊物。双月刊, 单月 25 日出版, 大 16 开本, 176 页, 定价 22 元, 全年 132 元。邮发代号: 82-6, 国外邮发代号 BM44。如有需要今年过刊的读者可与本编辑部联系。编辑部地址: 北京万寿山后中国林学会, 邮编: 100091, 电话: (010) 62889820 E-mail: linykx@caf.forestry.ac.cn

《中国园林》是中国风景园林学会主办的学术刊物。双月刊, 大 16 开本、96 页; 单价 14 元, 全年 84 元。国内外公开发行, 邮发代号: 82-217, 国外发行由中国国际图书贸易总公司承办, 代号 BM-4577。漏订者可直接寄款至本刊编辑部订购。编辑部地址: 北京海淀区百万庄建设部北配楼 337 号《中国园林》邮政编码: 100835, 电话: (010) 68348041, 传真: (010) 68339217, 联系人: 冷捷