

文章编号:1674-7054(2011)03-0256-04

6-BA 和 NAA 对槟榔幼胚离体培养的影响

黄丽云^{1,2}, 张奕琴^{1,2}

(1. 中国热带农业科学院 椰子研究所, 海南 文昌 571339; 2. 海南省热带棕榈植物研究重点实验室, 海南 文昌 571339)

摘 要:以“热研1号”槟榔幼胚为外植体, 研究不同浓度配比的6-BA和NAA对槟榔胚离体培养苗的生长影响。结果表明6-BA质量浓度为 $2\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时胚苗生长最快且芽、根整体发育较整齐; NAA质量浓度为 $0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 根的生长情况最好, 小苗整齐一致。这结果为槟榔组织培养及资源保存和利用提供了技术手段。

关键词: 槟榔; 幼胚; 离体培养

中图分类号: S 667.4

文献标志码: A

槟榔(*Areca catechu* L.) 是棕榈科槟榔属热带亚热带经济作物, 为我国四大南药之一, 具有较高的经济效益。目前, 槟榔在海南的种植面积已达66 667 hm^2 (100万亩), 产量达14.36万 $\text{t}^{[1]}$, 鲜果年产值达20亿元以上, 加工产值达50亿~60亿元, 海南约有1/3农民家庭种植槟榔。槟榔为单株单杆植物, 常规的营养繁殖方法如扦插、嫁接、高空压条等不适用于槟榔繁殖。在进行种质资源收集、保存和交换时, 利用胚培养获得的胚培苗不仅运输成本低, 还可避免在种质交换过程中的病虫害传播, 利用胚或组培苗作为种质保存还可解决大田保存占地面积大、费用高等问题。组织培养是槟榔快速繁殖最有效的方法, 目前槟榔组织培养技术仍有许多问题未得到解决。在国内外, 槟榔组织培养均有相关报道^[2-5], 但尚未建立起较完善的培养体系。笔者通过槟榔胚的离体培养研究, 建立了离体培养体系, 旨在为槟榔种质资源收集保存以及种苗的生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料 材料取自中国热带农业科学院椰子研究所科研基地的“热研1号”槟榔树(结果树龄15年以上), 采集无病虫害7~8个月龄的嫩果, 取未成熟胚为外植体(图1)。

1.2 培养基设置 以MS为基本培养基, 分别设置6-BA和NAA的质量浓度梯度进行实验: MS+6-BA ($0, 1, 2, 3, 4, 5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)+NAA ($0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)+糖 ($40\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)+活性炭 ($4\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)+琼脂 ($8\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$); MS+6-BA ($2\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)+NAA ($0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)+糖 ($40\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)+活性炭 ($4\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)+琼脂 ($8\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)。培养基pH值5.8~6.0。

1.3 培养条件 光照培养($12\text{ h} \cdot \text{d}$), 培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照度 $20\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

1.4 胚的采集与消毒处理 取7~8个月的槟榔嫩果, 在实验室切除大部分果皮和胚乳, 留取包裹着完整胚的胚乳块, 大小约为 $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ 的方块, 经自来水洗净后, 用 $\varphi=70\%$ 的酒精表面消毒30 s, 再以 $\varphi=0.1\%$ 的升汞(加少许吐温20)溶液消毒8 min后用无菌水冲洗5次。将洗净的胚乳块置灭菌滤纸上吸干水分, 用解剖刀挑出嫩胚平放在培养基上。每处理20个种胚。

1.5 胚萌发 每个处理接种20瓶, 每瓶接种1个种胚, 将胚接种培养基上, 暗培养4周后, 均可见白色吸器膨大, 芽点处冒出点点白色嫩芽和根(图2)。分别在培养后第6周和第10周进行胚苗生长量的测定,

收稿日期: 2011-09-08

基金项目: 海南省自然科学基金资助(310075)

作者简介: 黄丽云(1980-), 女, 广东潮阳人, 中国热带农业科学院椰子研究所助理研究员, 硕士。

分析不同处理对其生长情况的影响。

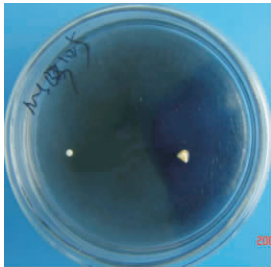


图 1 外植体材料槟榔胚



图 2 槟榔胚发生的白色嫩芽

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度的 6-BA 对槟榔胚苗生长发育的影响 接种后 6 周测定结果见图 3 ,从图 3 可见 不同质量浓度的 6-BA 对槟榔胚苗各生长指标的影响有较大差异 6-BA 质量浓度为 2 mg · L⁻¹时芽和根生长量最高 6-BA 质量浓度为 1 mg · L⁻¹时吸器生长速度最快。在激素梯度水平下 不同处理芽、根、吸器均有不同程度的生长变化。芽、根、吸器最低平均生长量分别为 0.121 0.023 0.333 cm(其中芽和根在未添加激素时生长量最低 吸器在质量浓度为 5 mg · L⁻¹时生长量最低) 最高平均生长量分别为 0.55 0.15 0.63 cm。

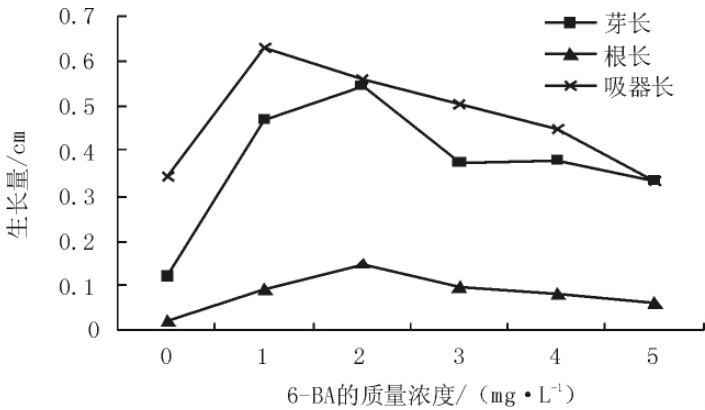


图 3 不同质量浓度 6-BA 培养的槟榔胚苗的整体生长情况

2.2 不同质量浓度的 6-BA 在不同时期对槟榔胚苗生长发育的影响 由表 1 可见 槟榔在第 10 周的生长速度较第 6 周有明显的增长趋势 ,6-BA 质量浓度为 2 mg · L⁻¹时 ,根和芽的生长数值最大 ,分别为 1.165 和 0.655 。不添加激素的芽生长最快 ,为 266.1% ,其次是 6-BA 质量浓度为 1 mg · L⁻¹时的芽增长量为 118.8 % ,但 6-BA 质量浓度为 1 2 3 4 mg · L⁻¹之间的生长量差异不大。同样不添加激素的根生长最快为 1117.7 % ,其次是 6-BA 质量浓度为 1 mg · L⁻¹时根的增长量 ,为 388.8 % ,但 6-BA 质量浓度为 1 2 3 4 mg · L⁻¹之间的生长量差异极小。吸器的生长情况与根和芽不同 ,当 6-BA 质量浓度为 2 mg · L⁻¹时 ,吸器的增长量最大 ,为 29.0 % ,其次是质量浓度为 1 mg · L⁻¹时的增长量。

表 1 不同质量浓度的 6-BA 在不同时期对槟榔胚生长发育的影响

$w(6-BA) /$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	芽长 1/ cm	芽长 2/ cm	增长量/ %	根长 1/ cm	根长 2/ cm	增长量/ %	吸器长 1/ m	吸器长 2/ cm	增长量/ %
0	0.121	0.443	266.1	0.023	0.28	1117.7	0.343	0.386	12.5
1	0.467	1.022	118.8	0.089	0.435	388.8	0.628	0.735	17.0
2	0.545	1.165	113.8	0.15	0.655	336.7	0.556	0.717	29.0
3	0.376	0.800	112.8	0.095	0.442	365.3	0.505	0.52	3.0
4	0.378	0.788	108.5	0.083	0.535	544.6	0.447	0.505	13.0
5	0.333	0.559	67.9	0.059	0.361	511.9	0.333	0.371	11.4

注: 表中芽长 1、根长 1、吸器长 1 分别是第 6 周各生长指标的生长量 ,芽长 2、根长 2、吸器长 2 分别是第 10 周各生长指标的生长量。

2.3 不同质量浓度的 NAA 对槟榔胚苗生长发育的影响 不同质量浓度的 NAA 对接种 6 周的槟榔胚苗生长发育的影响见图 4 ,由图 4 可见 ,NAA 对胚苗的根、芽、吸器的生长影响效果相似 ,在 NAA 质量浓度为 0.5 mg · L⁻¹时 ,其增长量最大 ,随着浓度的升高长势逐渐下降。芽、根、吸器最低平均增长量分别为 0.18 0.17 0.278 cm ,最高平均增长量分别为 0.56 0.54 0.58 cm。NAA 质量浓度对根的生长影响最大 ,当 NAA 质量浓度为 0.5 mg · L⁻¹时 ,根的生长量最大 ,为 0.54 cm ,当 NAA 质量浓度为 3 mg · L⁻¹时 ,根的生长量最小 ,为 0.17 cm;芽的生长先随着浓度的增加而生长量增高 ,后随浓度的增加而生长量减低 ,不添加激素 NAA 时 ,芽生长量最小 ,为 0.18 cm ,NAA 质量浓度为 0.5 mg · L⁻¹时 ,芽的生长量最大 ,为 0.56 cm; NAA 质量浓度为 0.5 mg · L⁻¹时 ,芽、根、吸器综合长势最好。

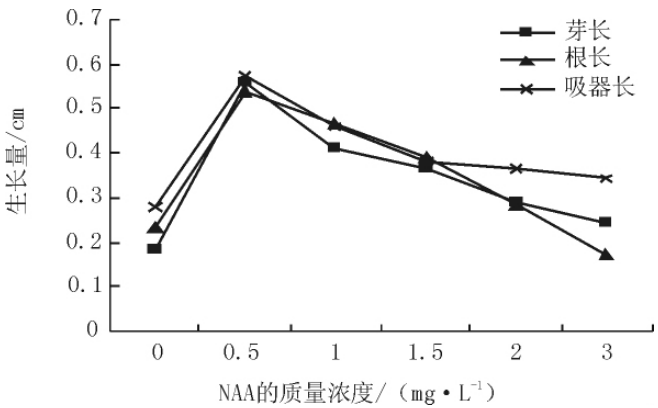


图 4 不同质量浓度 NAA 培养中槟榔胚苗的整体生长情况(接种 6 周)

2.4 不同质量浓度 NAA 在不同时期对槟榔胚苗生长发育的影响 槟榔胚苗在不同质量浓度 NAA 培养基中第 6 周和第 10 周的生长情况见表 2。由表 2 可见 ,槟榔在第 10 周的生长速度较第 6 周有明显的增长趋势 ,当 NAA 质量浓度为 0.5 mg · L⁻¹时 ,根和芽的生长最大 ,分别为 1.365 和 4.096 cm(见图 5)。当 NAA 质量浓度为 3 mg · L⁻¹时芽的生长最快 ,为 216.3%;而根的增长量仍是质量浓度为 0.5 mg · L⁻¹时最大 ,达 661.3 %;在不添加激素时根的增长量最低 ,仅 141.6 %。吸器的生长在 NAA 质量浓度为 0.5 mg · L⁻¹时最大 ,第 10 周的生长值为 0.794 cm ,增长量为 38.1 % ,显著高于其他浓度的生长值。

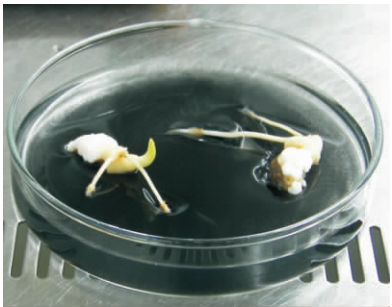


图 5 槟榔胚发生的生根长芽

表 2 不同质量浓度的 NAA 在不同时期对槟榔胚的生长发育的影响

w(NAA) / (mg · L ⁻¹)	芽长 1/ cm	芽长 2/ cm	增长量/ %	根长 1/ cm	根长 2/ cm	增长量/ %	吸器长 1/ cm	吸器长 2/ cm	增长量/ %
0	0.180	0.392	117.8	0.233	0.563	141.6	0.278	0.326	17.3
0.5	0.555	1.365	145.9	0.538	4.096	661.3	0.575	0.794	38.1
1.0	0.410	0.930	126.8	0.464	3.488	651.7	0.460	0.465	1.1
1.5	0.365	0.905	147.9	0.390	2.707	594.1	0.383	0.43	12.3
2.0	0.290	0.833	187.2	0.285	1.270	345.6	0.365	0.372	1.9
3.0	0.246	0.778	216.3	0.171	0.896	424.0	0.342	0.350	2.3

注:表中芽长 1、根长 1、吸器长 1 分别是第 6 周各生长指标的增长量 ,芽长 2、根长 2、吸器长 2 分别是第 10 周各生长指标的增长量。

3 讨 论

在槟榔胚离体培养发育过程中 ,胚吸器先膨大 ,随后分化出芽和根。根据不同生长时期根和芽的生长数据可知 ,当 6 - BA 质量浓度为 2 mg · L⁻¹时 ,根和芽的增长速度最快 ,而不添加激素时 ,根和芽的增长量最小。这说明培养基附加一定质量浓度的 6 - BA 对根、芽和吸器前 6 周的生长均有明显促进作用。与前 6 周不同质量浓度 NAA 的影响效果相似 ,均在 0.5 mg · L⁻¹时指标值最大。但在第 10 周时 ,NAA 质量

浓度为 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 芽的增长量最大, 主要原因是高浓度 NAA 在早期对芽的生长有较大的抑制作用。目前, 棕榈科植物中油棕^[6-7]、海枣组织培养技术较成功, 椰子^[8-9]也有初步研究报道, 吴翼等^[10]在椰子胚培的继代阶段同样使用了 6-BA 和 NAA, 质量浓度均为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 与槟榔胚培养所需浓度略有差异, 说明不同植物对植物生长调节剂的要求不同。本实验中 6-BA 和 NAA 对芽、根的生长有良好的促进作用。6-BA $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的组合最优, 有利于槟榔胚的生长。

参考文献:

- [1] 海南省统计局. 海南省统计年鉴 [M]. 北京: 中国统计出版社 2010.
- [2] 黄丽云, 范海阔, 周焕起, 等. 槟榔离体胚培养的糖浓度研究 [J]. 农业生物技术学报 2007, 15(增刊): 205–208.
- [3] ANITHA K E A, SIRIL E R, et al. Parthasarathy Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf and inflorescence explants of arecanut (*Areca catechu* L.) [J]. Research communications current science, 2004, 86(12): 1623–1628.
- [4] GANAPATHI T R, SUPRASANNA P, BAPAT, et al. *In vitro* culture of embryos of arecanut (*Areca catechu* L.). 1996, (52): 313–316.
- [5] WANG H C, CHEN J T, WU S P, et al. Plant regeneration through shoot formation from callus of *Areca catechu* L. [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture 2003, 75: 95–98.
- [6] THEERA Srisawat, KAMNOON Kanchanapoom. The influence of physical conditions on embryo and protoplast culture in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) [J]. Science Asia 2005, 31: 23–28.
- [7] KONAN K, DURAND Gasselin T, KOUADIO Y, et al. *In vitro* conservation of oil palm somatic embryos for 20 years on a hormone-free culture medium: characteristics of the embryogenic cultures, derived plantlets and adult plants [J]. Plant Cell Reports, 2010, 29: 1–13.
- [8] ENGELMANN F, BATUGAL P, OLIVER J. Coconut Embryo *in vitro* Culture Part II [M]. Serdang, Malaysia: IPGRI—APO, 2002: 178.
- [9] PEACH Y Ake A E, SOUZA R, MANST B, et al. Enhanced Aerobic Respiration Improves *in vitro* Coconut Embryo Germination and Culture [J]. In Vitro Cell 2004, 40: 90–94.
- [10] 吴翼, 武耀廷, 潘坤, 等. 椰子胚的离体培养研究 [J]. 西南农业学报 2009, 22(4): 1046–1052.

Effects of 6-BA and NAA on Immature Embryo of *Areca catechu* L. Cultured *in vitro*

HUANG Li-yun^{1, 2}, ZHANG Yi-qin^{1, 2}

(1. Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchang 571339, China;

2. Hainan Key Laboratory for Research of Tropical Palm Plants, Wenchang 571339, China)

Abstract: The immature embryo of “Reyan No. 1” *Areca catechu* L. was used as explants *in vitro*, and the effects of different concentration of 6-BA and NAA on the embryo germination and growth were compared. The results showed that when the concentration of 6-BA was $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the growth of embryo was the fastest, and the development of bud and root were regular; when the concentration of NAA was $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the growth of root was the best, and the development of young seedlings were regular. These data provided important technical means for the tissue culture, resource conservation and utilization of arecanut.

Key words: *Areca catechu* L.; immature embryo; culture *in vitro*