

文章编号:1000-2642(2006)05-0798-04

不同倍性阳桃离体快繁条件比较试验

王力超¹, 梁国鲁^{1,2}

(1. 西南大学 园林园艺学院, 重庆 400716, 2. 重庆市农业综合开发研究室, 重庆 400715)

摘要:以二倍体、三倍体和四倍体阳桃无菌组培苗为材料,研究了不同倍性阳桃增殖、生根和移栽的条件与方法。结果表明,MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L的培养基最有利二倍体阳桃的增殖,三倍体和四倍体阳桃的最佳增殖培养基是MS+ZT 2.0 mg/L+NAA 0.1~0.2 mg/L;通过两步法诱根培养(即先在1/2 MS+IBA 20 mg/L培养基中培养48 h,然后转入到无激素的培养基中培养)生根率分别能达到81.5%,90.6%和63.6%;移栽成活率各有86.7%,75.0%和77.8%。

关键词: 阳桃;倍性;离体繁殖**中图分类号:** S 662.1; Q 945.5**文献标识码:** AA COMPARATIVE EXPERIMENTS ON THE CONDITIONS FOR RAPID
PROPAGATION OF DIFFERENT PLOIDY CARAMBOLAWANG Li-chao¹, LIANG Guo-lu^{1,2}

(1. College of Horticulture and Landscape, Southwest University, Chongqing 400716, China; 2. Laboratory of Comprehensive Agricultural Development, Chongqing 400715, China)

Abstract: Sterilized plantlets of diploid, triploid and tetraploid carambola (*Averrhoa carambola*) were used as experiment materials to study the optimum culture conditions for the multiplication, rooting and transplanting of the plant. The best medium for the multiplication was MS + BA 1.0 mg/L + NAA 2.0 mg/L for the diploids and MS + ZT 2.0 mg/L + NAA 0.1 ~ 0.2 mg/L for the triploids and tetraploids. In two-step rootage culture, i. e. culture in 1/2 MS + IBA 20 mg/L for 48 h, followed by culture in a hormoneless medium, the rooting rate was 81.5%, 90.6% and 63.6%, respectively, for the diploid, triploid and tetraploid plantlets, and their survival rate after transplanting was 86.7%, 75.0% and 77.8%, respectively.

Key words: carambola; ploidy; *in vitro* propagation

阳桃(*Averrhoa carambola* L.)亦名杨桃,系酢浆草科阳桃属常绿乔木。其果形美味甜,营养价值高,是著名的热带水果和观赏植物,在我国南方有较多的栽培^[1]。一般的栽培阳桃为二倍体植株,果实不大,种子较多,现已陆续培育出了三倍体和四倍体等多倍体新类型^[2~3],为选育大果、无籽杨桃新品种奠定了重要基础。

离体无菌培养是提高苗木繁殖率、培育优质种苗

的有效方法,在很多果树、花卉等园艺植物上得到了广泛采用^[4~5]。但目前国内外有关阳桃离体繁殖的研究较少^[6~8],更未见多倍体植株快繁技术的报道。本试验旨在通过对二倍体、三倍体和四倍体阳桃离体繁殖条件的比较,研究不同倍性阳桃适宜的增殖、生根和炼苗移栽技术与方法,为将来能快速培育出多倍体阳桃品种的优质种苗,建立多倍体阳桃工厂化快速繁殖技术体系提供参考依据。

收稿日期: 2006-06-20**基金项目:** 广东省科委农业攻关资助项目(2003 c 201077)**作者简介:** 王力超(1959-),男,重庆合川人,西南大学副研究员,从事园艺、园林植物育种及组织培养的教学与科研。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为本研究室保存的阳桃二倍体($2n = 2x = 22$)、三倍体($2n = 3x = 33$)和四倍体($2n = 4x = 44$)植株的无菌组培苗。

1.2 培养基基本组成

培养基为MS配方,增殖培养基由MS附加不同浓度的BA,ZT与NAA等激素配合组成;以含不同浓度IBA的1/2 MS培养基作生根试验。各种培养基还加蔗糖30 g/L(生根培养基20 g/L),凝固剂卡拉胶6 g/L,pH调至5.8。

1.3 试验方法

1.3.1 增殖培养

取1.0~1.5 cm长的无根嫩茎转入各增殖培养基(表1)中,每处理10瓶,每瓶3~4苗。30 d后统计增殖效果。

1.3.2 生根培养

取1.5~2.0 cm长的无根嫩茎转入生根培养基进

行诱根培养,每处理10瓶,每瓶3苗,40 d后统计生根率。包括一步法和两步法。一步法诱根培养是将嫩茎直接接种到添加有低浓度NAA或IBA生根培养基(表2)中,直至生根;两步法是将嫩茎先在含IBA 20 mg/L培养基中培养一定时间(表3),然后再转入到无激素的培养基中,直至生根。

1.3.3 组培苗的移栽

将生根的小苗从瓶内取出,用水洗去根部的培养基后,然后移栽到不同的混合基质里(移栽法1:直接定植在由珍珠岩、椰糠和河沙按1:1:1的比例混合的基质中;移栽法2:直接定植在由园土、腐叶土和河沙按2:2:1的比例混合的基质中;移栽法3:先栽培第1种基质中,30 d后再移栽到第2种基质中)。前10 d罩上塑料薄膜,保湿遮荫,以后逐步透气、透光,20 d后开始常规管理,60 d时统计移栽成活率。

1.4 培养环境条件

将接种好的材料置于约1 500 lx的光照条件下培养,日光灯照明14 h/d,培养温度为 $22 \pm 3^\circ\text{C}$ 。

表1 激素组合对嫩茎增殖率的影响

Table 1 The effect of different hormone compounding on shoot's multiplication

植株类型	激素/(mg · L ⁻¹)	接种数	增殖数	增殖率	生长状况
二倍体	BA 1.0 + NAA 0.1	28	81	2.9	褐化轻、淡绿
	BA 1.0 + NAA 0.2	27	94	3.5	褐化轻、愈伤化、淡绿
	BA 2.0 + NAA 0.1	30	100	3.3	褐化轻、绿色
	BA 2.0 + NAA 0.2	31	93	3.0	褐化轻、愈伤化、淡绿
	ZT 1.0 + NAA 0.1	29	64	2.2	愈伤少、绿色
	ZT 1.0 + NAA 0.2	33	69	2.1	伤化、绿色
	ZT 2.0 + NAA 0.1	26	73	2.8	愈伤少、绿色
	ZT 2.0 + NAA 0.2	34	97	2.9	愈伤化、绿色
三倍体	BA 1.0 + NAA 0.1	29	49	1.7	易褐化、偏黄
	BA 1.0 + NAA 0.2	32	61	1.9	易褐化、愈伤化、偏黄
	BA 2.0 + NAA 0.1	26	81	3.1	易褐化、偏黄
	BA 2.0 + NAA 0.2	33	109	3.3	易褐化、愈伤化
	ZT 1.0 + NAA 0.1	28	70	2.5	愈伤少、绿色
	ZT 1.0 + NAA 0.2	26	73	2.8	愈伤少、绿色
	ZT 2.0 + NAA 0.1	30	96	3.2	愈伤少、绿色
	ZT 2.0 + NAA 0.2	27	97	3.6	愈伤少、绿色
四倍体	BA 1.0 + NAA 0.1	38	76	2.0	易褐化、偏黄
	BA 1.0 + NAA 0.2	28	62	2.2	易褐化、愈伤化、偏黄
	BA 2.0 + NAA 0.1	31	96	3.1	易褐化、偏黄
	BA 2.0 + NAA 0.2	30	99	3.3	易褐化、愈伤化、偏黄
	ZT 1.0 + NAA 0.1	29	67	2.3	愈伤少、绿色
	ZT 1.0 + NAA 0.2	31	81	2.6	愈伤少、绿色
	ZT 2.0 + NAA 0.1	27	100	3.7	愈伤少、绿色
	ZT 2.0 + NAA 0.2	35	119	3.4	愈伤少、绿色

2 试验结果

2.1 激素组合对嫩茎增殖率和苗高及长势的影响

取不同倍性阳桃无菌嫩茎培养在不同浓度 BA, ZT 与 NAA 组成的增殖培养基(表 1)中培养, 30 d 后发现: 在 BA, ZT 浓度相同的条件下, 无论是二倍体、三倍体还是四倍体的嫩茎, 在 NAA 为 0.2 mg/L 培养基上的增殖率一般比 NAA 0.1 mg/L 时有不同程度的提高; 二倍体阳桃在有 BA 的培养基中增殖率高于同浓度 ZT 培养基的增殖率; 而与之相反, 三倍体和四倍体阳桃在添加 BA 的培养基中易发生褐变和黄化, 长时间培养还出现茎尖枯死现象, 增殖率不及添加有同浓度 ZT 的培养基高。

综合起来看, 在供试的 8 种增殖培养基中, BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 的培养基最有利二倍体阳

桃的增殖, 增殖率高达 3.5 倍, 苗生长好, 褐化轻; 三倍体阳桃的最佳增殖培养基是 ZT 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L, 增殖率有 3.6 倍, 苗绿色; 而四倍体阳桃的最佳增殖培养基是 ZT 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L, 增殖率可达 3.7 倍, 且苗绿色、不落叶。

2.2 不同诱根培养法的诱根效果

将接种于生根培养基上的阳桃苗的生根情况加以对照可以看出, 在一步法诱根培养中, NAA 的诱根效果均不及同浓度的 IBA(表 2), 而且各类倍性的阳桃都是在含 IBA 0.2 mg/L 诱根培养基中生根率最高。其中, 二倍体生根相对容易一些, 生根率可达 65.5%, 三倍体和四倍体的生根率仅有 43.3% 和 37.0%。同时还发现, IBA 的浓度越高, 小苗的黄化率和枯死率也越高, 三倍体和四倍体的枯死率均高达 30% 左右。

表 2 生长素浓度对嫩茎生根的影响/一步法诱根培养

Table 2 The effect on rootage of auxin concentration./one-step rootage culture

植株类型	生长素/(mg · L ⁻¹)	接种数	生根苗数	生根率/%	枯死率/%	初根期*/d
二倍体	NAA 0.1	30	1	3.3	3.3	25
	NAA 0.2	28	3	10.7	7.1	22
	IBA 0.1	30	8	26.7	6.7	23
	IBA 0.2	29	19	65.5	10.3	21
三倍体	NAA 0.1	30	0	0	16.7	
	NAA 0.2	30	5	16.7	23.3	24
	IBA 0.1	28	7	25.0	25.0	28
	IBA 0.2	30	13	43.3	30.0	28
四倍体	NAA 0.1	26	2	7.7	19.2	30
	NAA 0.2	30	6	20.0	30.0	27
	IBA 0.1	29	7	24.1	20.7	23
	IBA 0.2	27	10	37.0	29.6	26

注: *第一次生根的时间(下同)。

Note: Time of producing roots.

通过两步法诱根培养(即先在 IBA 20 mg/L 培养基中培养若干 h, 然后转入到无激素的培养基中培养), 一般仅 2 周左右都能发根, 初根期比一次诱根培养早, 生根率也大大提高(表 3)。虽然具体的生根

率因阳桃倍性而异, 但都以激素处理 48 h 的为最佳, 二倍体、三倍体和四倍体的生根率分别达到了 81.5%, 90.6% 和 63.6%。更长时间的处理枯死率更高。

表 3 IBA 处理时间对嫩茎生根的影响/两步法诱根培养

Table 3 The effect on rooting of IBA for different disposal time./two-step rootage culture

植株类型	IBA 处理时间/h	接种数	生根苗数	生根率/%	枯死率/%	初根期/d
二倍体	24	30	16	53.3	8.6	14
	48	27	22	81.5	12.4	10
	72	25	7	28.0	31.7	12
三倍体	24	34	22	64.7	6.7	17
	48	32	29	90.6	9.4	14
	72	24	6	25.0	36.4	12
四倍体	24	28	12	42.8	12.6	15
	48	22	14	63.6	22.7	13
	72	26	5	19.2	51.3	11

2.3 不同移栽方法的成活率

从移栽60 d后的统计(表4)结果可以看到,无论何种倍性的阳桃,直接定植到由园土、腐叶土和河沙按2:2:1的比例混合的基质中(方法1)的成活率都很低,仅10%左右;一直定植在由珍珠岩、椰糠和河沙按1:1:1的比例混合的基质中(方法1)的

阳桃组培苗成活率相对高一些,但也仅有33.3%~51.7%,而且苗的长势较差;而先在第1种基质中培育30 d后再移栽到第2种基质中(方法3)的阳桃成活率显著高于前二者,且小苗生长健壮,二倍体、三倍体和四倍体的成活率分别达到了86.7%、75.0%和77.8%。

表4 不同移栽方法的效果比较

Table 4 The effect comparison of different transplant method

植株类型	移栽方法	移栽苗数	成活苗数	成活率/%	生长势
二倍体	方法1	29	19	65.6	淡绿、细弱
	方法2	25	3	12.0	绿色
	方法3	30	26	86.7	浓绿、健壮
三倍体	方法1	28	17	60.7	淡绿、细弱
	方法2	27	3	7.4	绿色
	方法3	24	18	75.0	浓绿、健壮
四倍体	方法1	30	19	63.3	淡绿、细弱
	方法2	26	2	7.7	绿色
	方法3	27	21	77.8	浓绿、健壮

3 分析与讨论

3.1 染色体倍性与培养条件的关系

二倍体、三倍体和四倍体阳桃的最佳增殖培养基分别是MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, MS+ZT 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L和MS+ZT 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;先在1/2 MS+IBA 20 mg/L培养基中培养48 h,然后转入到无激素的培养基中培养,其生根率分别为81.5%、90.6%和63.6%。这表明,不同倍性阳桃增殖和生根的条件各有不同。尤其在增殖培养中,二倍体阳桃在含BA的培养基中基本上能正常生长和增殖,而三倍体和四倍体阳桃的增殖培养却需要添加比BA活性更强的ZT。出现这种现象的原因可能是属于多倍体的三倍体和四倍体,新陈代谢旺盛,生理活性强于二倍体^[9],所以在离体培养中也需要活性更强的细胞分裂素。

3.2 两步生根法的效果

万蜀渊^[10]指出,对于生根困难的植物,两步生根法比一步生根法效果好。对于难生根的阳桃^[7],采用两步法不仅能大大提高其生根率,而且初根期可比一步法提前10 d左右。于亚军^[11]等认为,出现这种现象的原因“可能是根原基的形成需要生长素的存在,而根原基形成后的幼根生长并不需要高浓度的生长素”,但这一说法还有待进一步的证明。

3.3 基质对移栽效果的影响

阳桃是热带果树,喜湿怕干^[1],在由珍珠岩、椰糠和河沙等组成的保湿性和透气性皆好的基质中的成活率比由园土、腐叶土组成的营养丰富,透气性不

足的基质高得多,但成活植株的长势欠佳。先在第1种基质中培育30 d后再移栽到第2种基质中的第3种移栽方法,分阶段地利用了2种基质的优点,故能取得更好的移栽效果。

参考文献:

- [1] 农业部发展南亚热带作物办公室. 中国热带南亚热带果树[M]. 北京:中国农业出版社,1998:205-209.
- [2] 吴清, 闫勇, 梁国鲁. 红杨桃胚乳愈伤组织的诱导和三倍体植株再生[J]. 热带作物学报,2002,23(2):54-57.
- [3] 刘建福, 杨道茂, 吴青, 等. 阳桃四倍体植株诱导试验[J]. 华侨大学学报(自然科学版),2005,26(4):412-415.
- [4] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M]. 北京:中国农业出版社,1996:80-86.
- [5] 辜夕容, 潘继杰. 天竺桂离体培养体系的初步建立[J]. 西南农业大学学报(自然科学版),2005,27(6):825-828.
- [6] 刘建福, 吴清. 阳桃的组织培养与快速繁殖[J]. 热带亚热带植物学报,2004,12(3):265-267.
- [7] 李继红, 邵寒霜, 黄贵修. 阳桃茎尖离体快速繁殖试验[J]. 中国果树,1999(4):37.
- [8] KHALEKUZZAMAN M, ISLAN R. Micropropagation of Carambola by tissue culture[J]. Bangladesh journal of forest science,1996,24(2):1-4.
- [9] 曹家树, 申书兴. 园艺植物育种学[M]. 北京:中国农业大学出版社,2001:186-187.
- [10] 万蜀渊. 园艺植物繁育学[M]. 北京:中国农业出版社,1994:246-247.
- [11] 于亚军, 代汉萍, 李宝江. 植物激素和生长调节剂在果树组织培养中的应用[J]. 北方园艺,2002(6):68-70.

责任编辑:陈绍兰