

尖蜜拉的快繁技术

张翠玲 文慧婷

中国热带农业科学院香料饮料研究所 海南 万宁 571533

摘 要 以尖蜜拉老茎干上的不定芽作外植体,采用从不定芽→丛生芽→完整植株的繁殖途径进行繁殖。结果表明:尖蜜拉不定芽外植体在温度 $(26\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、光照强度 $1\,500\sim 2\,000\text{ lx}$ 、光照时间 12 h/d 条件下,茎萌发最适培养基为 $\text{MS}+6\text{-BA } 2.0\text{ mg/L}+\text{NAA } 0.1\text{ mg/L}+\text{Vc } 0.5\text{ g/L}$;茎增殖最适培养基为 MS 附加 $6\text{-BA } 3.0\text{ mg/L}+\text{NAA } 0.5\text{ mg/L}$;茎生根最适培养基为 $1/2\text{MS}+\text{IBA } 0.5\text{ mg/L}+\text{NAA } 3.0\text{ mg/L}+\text{AC } 0.5\text{ g/L}$;生根时温度可适当上升为 $(28\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、光照强度 $2\,000\text{ lx}$ 、光照时间 12 h/d 。

关键词 尖蜜拉 不定芽 组织培养

中图分类号 S667.9 S343.6

尖蜜拉 [*Artocarpus champeden* (Loureiro) Spreng. = *A. integra* (Thunberg) Merrill] 为桑科 (Moraceae) 菠萝蜜属 (*Artocarpus* Forster) 常绿乔木,其果肉比一般菠萝蜜 (*A. heterophyllus* Lamarck) 更清香可口。由于尖蜜拉果实内种子较少,育苗周期也较长,而芽接成活率又较低,故种苗缺乏是制约其生产发展的重要因素;而利用现代的植物组织培养方法,则可以在短期内繁殖大量的种苗。在我国,对尖蜜拉的离体组织培养尚未见报道。为此,笔者对尖蜜拉组织培养进行了一系列的探讨,以便为其种苗的快速繁殖及产业化生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

从40 a树龄的尖蜜拉老茎干上取长势粗壮的不定芽,长约 $2\sim 3\text{ cm}$ 。

1.2 方 法

1.2.1 外植体的预处理 剪取生长健壮的不定芽,除去已展开的叶片;用沾有洗洁精的软毛刷轻轻刷洗材料表面;用自来水冲洗 1 h 。在超净工作台上,用 75% (体积分数) 的酒精表面消毒 30 s ;用 1 g/L 升汞 (HgCl_2) 溶液中 (加入2滴吐温80) 浸泡约 15 min ;用灭菌水冲洗 $5\sim 6$ 遍;用无菌滤纸吸干表面水分;以锋利手术刀轻轻剥除外层苞叶 $2\sim 3$ 片,至接近生长点;切取顶端 5 mm 左右作外植体;接种到培养基中^[1]。

1.2.2 外植体的初始培养 将外植体接种于 MS 附加 $2.0\text{ mg/L } 6\text{-BA}+0.1\text{ mg/L NAA}+0.5\text{ g/L Vc}$ 的 MS 固体培养基上;在温度 $(26\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、光照 $1\,500\sim 2\,000\text{ lx}\times 12\text{ h/d}$ 条件下培养 14 d ,以诱导腋芽的生长。

1.2.3 丛生芽的形成和继代增殖 在初始培养阶段生长出来的腋芽上,切取顶端 5 mm 左右;接种于附加 $1.0\sim 5.0\text{ mg/L } 6\text{-BA}$ 、 $0\sim 1.0\text{ mg/L NAA}$ 的 MS 培养基上;于 $(26\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、光照 $1\,500\sim 2\,000\text{ lx}\times 12\text{ h/d}$ 的条件下,诱导形成丛生芽。形成的丛生芽,分割成带 $2\sim 3$ 个芽的芽丛,接种于相同的培养基上,进行增殖培养。

1.2.4 生根培养 将 $3\sim 4\text{ cm}$ 高的小苗接种于(1) $1/2\text{MS}+\text{IBA } 0.5\sim 5.0\text{ mg/L}+\text{AC } 0.5\text{ g/L}$; (2) $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0.5\sim 5.0\text{ mg/L}+\text{AC } 0.5\text{ g/L}$; (3) $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0\sim 0.5\text{ mg/L}+\text{IBA } 0\sim 0.5\text{ mg/L}+\text{AC } 0.5\text{ g/L}$; (4) $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0.5\sim 5.0\text{ mg/L}+\text{IBA } 0.5\text{ mg/L}+\text{AC } 0.5\text{ g/L}$ 的催根培养基上,在 $(28\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、光照 $2\,000\text{ lx}\times 12\text{ h/d}$ 的条件下培养约 40 d ^[2]。

2 结果与分析

2.1 无菌株系的建立

同其他木本植物相似,尖蜜拉的外植体在起始培养基上也易产生褐变。笔者发现,培养基中加入

Vc 或 AC 后, 发生褐变的比例降低, 并以 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+Vc 0.5 g/L 的培养基的效果最理想(见表 1); 同时, 若每 4~5 d 转瓶 1 次无菌芽等方式, 抑制褐变的效果更好。培养 1 周后, 可看到叶片变大, 2 周左右, 可看到腋芽开始萌动。在获得的无菌株系的基础上, 对起始培养的条件进行了比较, 发现起始培养的前 2 周非常重要, 前 2 周不褐变, 腋芽就可以萌动(见图 1)。

2.2 无菌苗的继代增殖

把在起始培养阶段形成的芽切割后, 接种于 MS 附加 6-BA 1.0~5.0 mg/L+NAA 0~1.0 mg/L 的培养基上, 以诱导形成丛生芽, 形成的丛生芽再分割成带 2~3 个芽的芽丛, 接种于相同的培养基上, 进行继代增殖, 比较不同的情况下丛生芽的生长状态及增殖率。结果表明, 在不同的增殖培养基上均能诱导出芽, 但不同的培养基成分, 对形成丛生芽的质量和数量均有较大差别。6-BA 3.0~4.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 芽平均 4~8 个, 而且长得壮; 6-BA 5.0 mg/L 以上, 芽多达 10~20 个, 但芽较细、节长; 6-BA 0~2.0 mg/L 时, 芽的增殖较少(见表 2)。从表 2 可以看出, 在增殖快繁阶段, 采用 MS 附加 6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 为尖蜜拉丛芽快繁增殖的培养基, 培养温度为(26±2)℃。这样既能保持良好的生长状态, 又可以得到较高的增殖率且节约能源。

2.3 生根培养

与其他菠萝蜜属相似, 生根困难是尖蜜拉枝条扦插繁殖的障碍, 同样, 尖蜜拉的组培苗生根也非常困难, 切割下高 2~3 cm 左右带 3 片叶片的小芽接种于 (1) 1/2MS+IBA 0.5~5.0 mg/L+AC 0.5 g/L; (2) 1/2MS+NAA 0.5~5.0 mg/L+AC 0.5 g/L; (3) 1/2MS+NAA 0~0.5 mg/L+IBA 0~0.5 mg/L+AC 0.5 g/L 的所有培养基上培养, 均很难看到生根, 只会看到基部长出小芽或长出黄白色蓬松的愈伤组织, 只有当 NAA 与 IBA 这 2 种激素以适当的浓度配合使用, 才能促进其生根。当 IBA 为 0.5 mg/L 时, NAA 由 0.5~3.0 mg/L, 随着 NAA 的增加, 尖蜜拉的生根率也逐渐增加。1 周后, 可看到部分长出 1~3 条主根和网状次根, 1 个月内生根率达到 70% 以上的完整的根系(图 2)。当 NAA 增加到 4.0 mg/L 以上, 生根率不是增加, 相反的, 却是大部分长出愈伤组织。另外, 植株的生理状态对生根率也受到一定的影响。生理上较老和较嫩(分生能力强)的均不太理想, 生根率还不足 10%, 并且时间较长。将高约 3~4 cm 的增殖芽做生根培养, 出根率达 85% 以上^[3]。

表 1 不同抗氧化剂外殖体褐化的影响

处理 /g·L ⁻¹	接种数 / 个	褐化 / %
AC 0.5	100	4
Vc 0.5	100	10
ck	100	70



图 1 增殖植株

表 2 激素对比对丛生芽的增殖率和长势的影响

激素配比 /mg·L ⁻¹		接种芽数 / 个	外殖体(壮、弱)	增殖芽数 / 个
6-BA	NAA			
1.0	0	30	基部有灰白色疏松愈伤组织	1~2
1.0	0.5	30	同上	1~2
1.0	1.0	30	同上	1~2
2.0	0	30	芽苗长势一般	1~4
2.0	0.5	30	同上	1~4
2.0	1.0	30	同上	1~4
3.0	0	30	芽苗健壮	4~8
3.0	0.5	30	芽苗健壮	6~8
3.0	1.0	30	芽苗健壮	6~10
4.0	0	30	芽苗健壮	8~10
4.0	0.5	30	芽苗健壮	8~10
4.0	1.0	30	芽苗健壮, 节长	8~10
5.0	0	30	芽苗纤弱, 节间细长易断	10~12
5.0	0.5	30	同上	12~15
5.0	1.0	30	同上	15~20

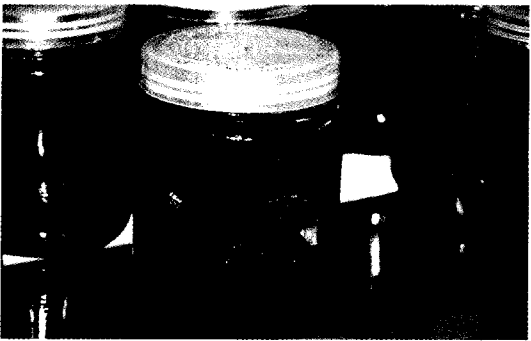


图 2 生根植株

从表 3 看出, NAA 与 IBA 配合使用有利于芽的催根, 当 NAA 与 IBA 浓度分别为 3.0 mg/L 和 0.5 mg/L 时, 诱导生根率达到 85 % 以上。从发根时间、出根率根的质量和节约能源等方面综合考虑, 最适生根培养基为 1/2MS+ IBA 0.5 mg/L + NAA 3.0 mg/L+AC 0.5 g/L, 培养条件 28 ℃、光照 2 000 lx ×12 h/d。

2.4 炼苗与移栽

生根苗培养约 40 d 后, 可将瓶苗移入无直射阳光的地方炼苗约 7 d; 打开瓶盖, 继续炼苗 2 d; 将经过炼苗后的试管苗取出, 用自来水洗净根部附着的培养基(见图 3), 置于荫凉处, 晾干叶片上的水珠后, 即可移栽到事先准备好的砂床上。结果表明, 以河砂、椰糠、表土的质量比=4:2:1 为最好, 当温度保持在 27~30 ℃, 湿度在 80 %~90 % 条件下, 根系完整, 枝干健壮的组培苗移栽后, 成活率可达 85 % 以上, 小苗生长健壮。

表 3 不同激素对比对尖蜜拉生根的影响

激素配比 /mg·L ⁻¹		接种数 / 个	生根数 / 个	生根率 / %
IBA	NAA			
0.5	0.5	100	0	0
0.5	0.7	100	5	5
0.5	1.0	100	10	10
0.5	1.5	100	19	19
0.5	2.0	100	31	31
0.5	2.5	100	51	51
0.5	3.0	100	85	85
0.5	3.5	100	40	40
0.5	4.0	100	5	5
0.5	5.0	100	1	1



图 3 待移栽的植株

3 讨 论

(1) 本试验以尖蜜拉老茎干上的不定芽作外植体, 采用从不定芽→丛生芽→完整植株的繁殖途径进行繁殖。结果表明: 尖蜜拉不定芽的茎萌发最适培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+Vc 0.5 mg/L; 茎增殖最适培养基为 MS 附加 6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L; 茎生根最适培养基为 1/2MS+NAA 3.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L。(2) 本研究对尖蜜拉的老茎干上的不定芽的取材、消毒、芽的继代增殖、催根及移栽等环节作了较系统的研究, 找到了适合尖蜜拉种苗的快繁途径, 采用从不定芽→丛生芽→完整植株的繁殖途径进行研究。填补国内尖蜜拉离体组织培养繁殖技术上的空白。(3) 尖蜜拉离体组织培养技术的成功, 为尖蜜拉的转基因工作提供了更有实际价值的转化材料。

参 考 文 献

- 1 刘青林, 马 玮, 郑玉梅编著. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.34~35
- 2 曹汝义, 刘国民主编. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2002.94~95
- 3 杨本鹏, 曾丽梅. 龙竹的组织培养[J]. 热带作物学报, 2003, 24(3): 82~87

Rapid Propagation Techniques for *Artocarpus Champeden* Spreng.

Zhang Cuiling Wen Huiting

Spice and Beverage Research Institute, CATAS Wanning Hainan 571533

Abstract Adventitious buds on the trunk of *Artocarpus champeden* (Loureiro) Spreng. were used as explants for rapid propagation. The result showed that the best medium for shoot growth is MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+Vc 0.5 g/L under the light 12 h/day with 1 500~2 000 lx at (26±2) ℃. The best medium for rapid propagation of shoots is MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L. Rooting medium is 1/2 MS+NAA 3.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L. At the rooting of the shoots, the temperature was raised to (28±2) ℃ and the light strength to 2 000 lx with the light period being 12 h/day.

Key words *Artocarpus champeden* Spreng. adventitious buds tissue culture