

菠萝蜜的组织培养

丰 锋, 叶春海, 李映志

广东海洋大学 农学院园林系, 广东 湛江 524088

摘要: 选取经资源调查及品质分析后获得的优良植株的顶芽和腋芽为材料, 诱导腋芽的萌发和不定芽增殖生根。结果表明: 从 3 月下旬到 5 月上旬是菠萝蜜组织培养大田取材的最佳时间, 该时期接种材料污染率 (<50%) 及褐变率 (<5%) 均较低; 启动培养的培养基最佳组合是 MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 20 g/L, 腋芽诱导率为 44.6%, KT 含量较高 (1.0 mg/L) 有利于腋芽的诱导, 诱导率平均为 (40%); 不定芽增殖培养的培养基最佳组合是 MS+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.1 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 40 g/L, 增殖率为 2.61, 蔗糖含量较高 (40 g/L) 有利于不定芽的增殖, 增殖率平均为 2.34; 生根培养以 1/2 MS+IBA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 最好, 接种 8 d 开始生根, 生根率 15.8%, 15 d 根长 3~4 cm, 平均根数 3~4 条。

关键词: 菠萝蜜; 组织培养; 激素

中图分类号: S667.8

文献标识码: A

菠萝蜜 (*Anocarpus heterophyllus* Lam.) 又称“树菠萝”、“木菠萝”、是典型热带果树, 素有“热带珍果”之称^[1], 原产印度, 引入中国栽培已有 900 多年历史, 分布在海南、云南、台湾等热带地区^[2]。菠萝蜜主要有 2 个品种: 1 种为干包菠萝蜜, 树干挺直, 树冠较小, 树皮光滑, 叶片小而多呈倒卵形, 叶面粗糙, 基部楔形, 果熟时金黄色, 果肉为干包, 肉质爽嫩, 清香甘甜, 人们多喜食用。另 1 种为湿包菠萝蜜, 树干粗壮, 分枝较低, 树形开展, 树皮粗糙, 叶厚革质, 浓绿有光泽, 多为椭圆形, 基部常为圆形, 果熟时浅黄色, 果肉为湿包, 肉质软滑, 吃起来有麦芽糖并带有蜂蜜的甜香味浓之感^[2]。

菠萝蜜果肉, 富含糖、蛋白质、维生素 A、维生素 C 和钾、钠、钙、锌等元素, 营养丰富。鲜食爽脆蜜甜, 香味浓郁, 未成熟的果肉可以当作蔬菜煮食或做汤, 也可以干制或烘烤成可口的食品。成熟的果肉放到微量低浓度的盐水中则更加鲜滑爽口, 还可以防止过敏反应, 也可以用果肉做色拉, 还可以加工成果汁、果酱、果酒、蜜饯、罐头^[2]。

菠萝蜜自然条件下一般采用种子繁殖, 菠萝蜜成熟季节选取风味较好的果实, 取种子育苗繁殖, 由于实生繁殖后代变异极大, 加之家庭种植株数有限, 很难保证后代一定优良, 通过历时 2 a 多的时间, 调查了超过 2 万多株的实生后代, 仅有十几个植株品质表现优良。

近年开始采用嫁接繁殖^[3,4], 但嫁接成活率极低, 课题组实验, 不超过 50%; 采用圈枝和压条繁殖^[5], 繁殖系数低, 繁殖速度慢, 而且一些优良品种往往难以生根, 繁殖受母株和季节的限制。采用组织培养技术可大大提高菠萝蜜的繁殖速率^[6-9], 因而可为优良株系的推广提供足够种苗, 其前景是可以期待的。

1 材料和方法

1.1 材 料

经资源调查及品质分析后获得的优良植株 05-41, 31, 20 的顶芽和腋芽。

收稿日期: 2006-06-29

基金项目: 广东省科技厅农业攻关项目(2005B20901030); 广东省农业厅农业科技项目(B03083)

作者简介: 丰 锋(1969-), 男, 贵州纳雍人, 副教授, 主要从事组培快繁研究。

1.2 方法

1.2.1 无性繁殖体系的建立

选取生长健壮的枝条,剪去叶片,自来水冲洗干净,剪成带 2~3 个芽的节断,置于无菌杯中在超净工作台上进行消毒.先在 75% 的酒精中浸泡 30 s,再用 0.15% 的升汞浸泡 12 min,无菌水漂洗 5 次,接种到 MS+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.5 mg/L 培养基上,3 d 观察 1 次,清除污染材料.15 d 后把无菌材料转接到启动培养基.

1.2.2 启动培养

启动培养以 MS 为基本培养基,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计,因素组合分别为 BA(1.0, 1.5, 2.0 mg/L)、KT(0.1, 0.5, 1.0)、 GA_3 (0.1, 0.5, 1.0)、蔗糖(20, 30, 40 g/L).研究激素蔗糖对腋芽诱导的影响.30 d 后统计腋芽诱导率.

1.2.3 增殖培养

经过 4 周的初代培养,接种到以 MS 为基本培养基,因素组合分别为 BA(1.0, 1.5, 2.0 mg/L)、KT(0.1, 0.5, 1.0)、 GA_3 (0.1, 0.5, 1.0)、蔗糖(20, 30, 40 g/L).试验设计同启动培养.研究激素蔗糖对比对芽增殖的影响.30 d 后统计增殖率.

1.2.4 生根培养

将增殖培养获得的 2 cm 以上的不定芽接种到以 1/2MS 为基本培养基,不同浓度的 IBA(0.5, 1.0, 1.5 mg/L)、NAA(0.1, 0.2, 0.4)、间苯三酚(0, 50, 100)、KT(0, 0.5, 1.0)为外源激素,附加 15 g/L 的蔗糖和 6.5 g/L 的琼脂,试验设计同启动培养,诱导不定根的形成,15 d 后统计生根率,平均根条数,平均根长.

2 结果分析

2.1 无性繁殖体系的建立

菠萝蜜为多年生木本植物,内生菌非常严重,本试验从 3 月到 12 月每月重复 2 次,结果见图 1,可见污染非常严重,污染率高达 40%~80%,在 3 月下旬到 5 月上旬取样,污染率相对较低,在 40%~50% 之间.6 月上旬取样褐变率较高,达到 16.67%,其他季节取样基本无褐变(褐变率 < 5%).而采用室内水培 1 周后再取材灭菌能极显著降低污染率(< 20%),而同期大田材料污染率超过 60%.

2.2 启动培养

对腋芽诱导率进行极差分析和方差分析,结果见表 1、表 2.表 1 可见,KT 对腋芽诱导的影响的极差最大,其次是 GA_3 、6-BA,蔗糖对腋芽诱导的影响最小.表 2 表明,参试的 4 个因子中,不同水平间腋芽诱导率差异均极显著,而区组间差异不显著.各处理组间 Duncan's 多重比较结果见表 3.表 3 可见,组合 6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L+ GA_3 0.5 mg/L+蔗糖 20 g/L 有利于菠萝蜜腋芽的诱导,诱导率为 44.6%,KT 含量高(1.0 mg/L)的 3 个组合,腋芽诱导率均在前列.

表 1 3 种激素和蔗糖不同水平下腋芽诱导率极差分析及差异检验结果

Table 1 Range Analysis and Variation Test of Axillary Buds Induction Percentage Under 3 Hormones and Different Sugar Contents

各因素 水平	6-BA		KT		GA_3		蔗 糖	
	腋芽 诱导率	Duncans 检验结果	腋芽 诱导率	Duncans 检验结果	腋芽 诱导率	Duncans 检验结果	腋芽 诱导率	Duncans 检验结果
T ₁	0.294 8	C	0.317 0	B	0.398 6	A	0.365 8	A
T ₂	0.324 3	B	0.282 3	C	0.283 0	C	0.319 0	B
T ₃	0.396 7	A	0.416 5	A	0.334 2	B	0.330 9	B
极 差	0.101 9		0.134 2		0.115 6		0.046 8	

注: T₁, T₂, T₃ 分别为各因素逐步递增的 3 个水平,下同.

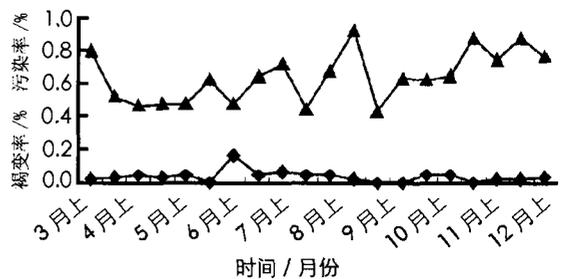


图 1 取材季节对菠萝蜜污染和褐变的影响

Fig. 1 Influence of Material Collecting Seasons on the Contamination and Browning of Jackfruit Cultures

表 2 3 种激素和蔗糖不同水平下腋芽诱导率方差分析
Table 2 Variance Analysis of Axillary Buds Induction Percentage Under 3
Hormones and Different Sugar Contents

变 因	df	SS	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
区组	1	0.000 1				
6-BA	2	0.033 0	0.016 5	264.46**	4.46	8.65
KT	2	0.058 2	0.029 1	465.94**		
GA ₃	2	0.040 3	0.021 5	322.58**		
蔗糖	2	0.007	0.003 5	56.79**		
误差	8	0.000 5	0.000 06			
总和	17	0.139 2				

表 3 3 种激素和蔗糖不同组合腋芽诱导率差异检验结果
Table 3 Range Analysis of Axillary Buds Induction Percentage Under 3
Hormones and Different Sugar Contents Combinations

6-BA	KT	GA ₃	蔗 糖	腋芽诱导率	Duncan's 检验
2.0	1.0	0.5	20	0.446 2	A
1.5	1.0	0.1	30	0.442 6	A
2.0	0.5	0.1	40	0.392 8	B
1.0	1.0	1.0	40	0.360 7	C
1.0	0.1	0.1	20	0.360 4	C
2.0	0.1	1.0	30	0.351 2	C
1.5	0.5	1.0	20	0.290 8	D
1.5	0.1	0.5	40	0.239 5	E
1.0	0.5	0.5	30	0.163 3	F

注: 1. 6-BA、KT、GA₃ 的含量为 mg·L⁻¹, 蔗糖含量为 g·L⁻¹.

2. Duncan's 检验标注同一字母的, 表示该性状在 α=0.05 水平上差异不显著, 下同.

2.3 增殖培养

对启动培养阶段诱导出的腋芽转接到 MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 20 g/L 培养基上增殖培养 3 个月后, 选取生长一致的不定芽进行 6-BA、KT、GA₃、蔗糖对芽增殖的影响试验, 采用 L₉(3⁴) 正交表, 因素水平同启动培养, 培养 30 d 后统计增殖率.

对增殖率进行极差分析和方差分析, 结果见表 4、5. 表 4 可见, 蔗糖对不定芽增殖率的影响的极差最大, 其次是 GA₃、KT, 6-BA 对不定芽增殖率的影响最小. 表 5 表明, 参试的 4 个因子中, 除 6-BA 3 个水平间差异达显著水平外, 其余因子不同水平间增殖率差异均极显著, 而区组间差异不显著. 各处理组合间 Duncan's 多重比较结果见表 6. 表 6 可见, 组合 6-BA 1.5 mg/L+KT 0.1 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 40 g/L 有利于菠萝蜜不定芽的增殖, 增殖率为 2.61, 蔗糖含量高(40 g/L)的 3 个组合, 不定芽增殖率均排在前列, 说明高浓度的蔗糖有利于不定芽的增殖.

表 4 3 种激素和蔗糖不同水平下不定芽增殖率极差分析及差异检验结果
Table 4 Range Analysis and Variation Test Results of Axillary Buds Induction
Percentage Under Different Hormones and Sugar Contents

各因素 水平	6-BA		KT		GA ₃		蔗 糖	
	不定芽 增殖率	Duncans 检验结果	不定芽 增殖率	Duncans 检验结果	不定芽 增殖率	Duncans 检验结果	不定芽 增殖率	Duncans 检验结果
T ₁	2.020 8	b	2.135 9	A	1.881 0	B	1.944 3	B
T ₂	2.024 0	a	2.154 6	A	2.150 6	A	1.871 7	B
T ₃	2.141 1	b	1.895 3	B	2.154 2	A	2.369 7	A
极 差	0.120 3		0.259 3		0.273 1		0.498 0	

表 5 3 种激素和蔗糖不同水平下不定芽增殖率方差分析

Table 5 Variance Analysis of Adventitious Bud Induction Percentage Under Different Hormones and Sugar Contents

变 因	df	SS	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
区组	1	0.004 5	0.004 5			
6-BA	2	0.056 4	0.028 2	5.15*	4.46	8.65
KT	2	0.251 0	0.125 5	22.93**		
GA ₃	2	0.294 6	0.147 3	26.92**		
蔗糖	2	0.868 5	0.434 2	79.35**		
误差	8	0.043 78	0.005 47			
总和	17	1.518 8				

表 6 3 种激素和蔗糖不同组合不定芽增殖率差异检验结果

Table 6 Range Analysis of Adventitious Bud Proliferation Percentage Under Different Hormones and Sugar Combinations

6-BA	KT	GA ₃	蔗 糖	不定芽增殖率	Duncan's 检验
1.5	0.1	0.5	40	2.611 5	A
1.0	1.0	1.0	40	2.254 2	B
2.0	0.5	0.1	40	2.243 6	B
1.5	0.5	1.0	20	2.208 4	B
1.0	0.5	0.5	30	2.011 9	BC
2.0	0.1	1.0	30	2.0	BC
2.0	1.0	0.5	20	1.828 4	CD
1.0	0.1	0.1	20	1.796 2	CD
1.5	1.0	0.1	30	1.603 3	D

2.4 生根培养

将增殖培养获得的 2 cm 以上的不定芽接种到生根培养基中, 只有 1/2 MS+IBA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基生根, 培养 8 d 开始生根, 15 d 统计生根率为 15.8%, 根长 3~4 cm, 平均根数 3~4 条. 60 d 统计生根率为 70%, 但部分根系变黄.

2.5 移 栽

将已生根的苗, 洗净培养基后, 移入椰糠和沙(1:1)的疏松透气基质中, 覆盖薄膜保湿, 每天淋水 2 次. 10 d 后新叶长出, 移去薄膜, 统计移栽成活率为 85%. 移栽 80 d 后, 苗高 20 cm 左右, 移入大田种植.

3 讨论和结论

综合上述试验结果和分析, 菠萝蜜的组织培养技术体系要点如下:

3.1 无性繁殖体系的建立

在 3 月下旬到 6 月上旬取样, 进行室内水培 1 周后再取材灭菌能极显著降低污染率, 建立无性繁殖体系.

3.2 启动培养

KT 对腋芽诱导的影响的最大, 组合 6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 20 g/L 有利于菠萝蜜腋芽的诱导, 诱导率为 44.6%, KT 含量高(1.0 mg/L)的 3 个组合, 腋芽诱导率均在前列.

3.3 增殖培养

蔗糖对不定芽增殖率的影响的极差最大, 组合 6-BA 1.5 mg/L+KT 0.1 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 40 g/L 有利于菠萝蜜不定芽的增殖, 蔗糖含量高(40 g/L)的 3 个组合, 不定芽增殖率均排在前列, 说明高浓度的蔗糖有利于不定芽的增殖.

3.4 生根培养

生根培养基以 1/2 MS+IBA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 最佳, 8 d 开始生根, 15 d 根长 3~4 cm, 平均根数 3~4 条, 生根率 15.8%. 刘庆忠^[10]认为酚类物质在培养基中可刺激某些树种生根, 这些物质对根系形成的影响仅表现在根系形成的特定发育阶段, 作为生长素的增效剂而起作用, 对落叶果树促进生根的

作用具有基因型的特异性, 作用模式是抑制 IAA 氧化酶的活性. 张有珍在“富士”苹果组培生根中, 加入 10 mg/L 间苯三酚, 生根率 30%, 认为加大间苯三酚的使用量有一定作用^[11]. 吴克贤等在长白落叶松组培生根中加入 40 mg/L 间苯三酚, 生根率 26.32%^[12]. 谷文英等杜仲茎段培养中发现加入 10 mg/L 间苯三酚, 生根率 43%^[13]. 吕守芳等在核桃离体繁殖中加入 1 mg/L 间苯三酚, 生根率 95% 以上^[14]. 本试验加入间苯三酚不利于生根, 一方面可能与材料有关, 同时可能浓度太高.

参考文献:

- [1] 丰锋, 叶春海, 李映志. 菠萝蜜的组织培养和植物再生[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(5): 915 - 916.
- [2] 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, 5: 241 - 244.
- [3] 钟声, 陈广全, 钟青等. 树菠萝苗补片芽接技术[J]. 中国热带农业, 2005, 3: 40.
- [4] 张诒仙. 芽条、砧木对菠萝蜜芽接成活率和生长的影响[J]. 世界热带农业信息, 1996, 11: 15.
- [5] 江柏萱. 黄化和生根激素处理诱导菠萝蜜空中压条生根[J]. 世界热带农业信息, 1998, 9: 12.
- [6] Amin M N. In vitro enhanced proliferation of shoots and regeneration of plants from explants of jackfruit trees [in Bangladesh][J]. Plant Tissue Culture (Bangladesh), 1992, 2(1): 27 - 30.
- [7] Roy S K, Islam M S, Sen J, et al. Propagation of flood tolerant jackfruit (*artocarpus heterophyllus*) by in vitro culture [J]. Acta Hort(ISHS), 1993, 336: 273 - 278.
- [8] Roy S K, Roy P K. In vitro propagation and establishment of a new cultivar of jackfruit (*artocarpus heterophyllus*) bearing fruits twice yearly[J]. Acta Hort(ISHS), 1996, 429: 497 - 502.
- [9] Sunyoto; Sadwiyanti L. Clonal propagation of jackfruit by in vitro culture[J]. Jurnal Stigma (Indonesia), 2002, 10(3): 228 - 232.
- [10] 刘庆忠, 牟云官, 辛培刚, 等. 落叶果树的微体繁殖[J]. 落叶果树, 1988, 2: 25 - 28.
- [11] 张有珍. “富士”苹果的组织培养[J]. 植物生理学通讯. 1993, 2: 105.
- [12] 吴克贤, 李伟, 徐妙珍, 等. 长白落叶松组织培养的研究[J]. 林业科学, 1996, 2: 125 - 131.
- [13] 谷文英, 裴德清, 朱登云, 等. 杜仲茎段培养的初步研究[J]. 莱阳农学院学报, 1999, (16) 1: 6 - 9.
- [14] 吕守芳, 闫爱玲, 吴燕民. 核桃离体繁殖技术[J]. 经济林研究, 2004. 22(1): 12 - 14.

Study on Tissue Culture of Jackfruit

FENG Feng, YE Chun-hai, LI Ying-zhi

Guangdong ocean university, Agricultural department, Zhanjiang Guangdong 524088, China

Abstract: An in vitro culture method for clonal propagation of a high quality strain of jackfruit has been achieved, using shoot buds as explants. Results showed that, selection of explant collecting seasons was critical in preventing contamination and brownization, from late March to early May which was the best seasons. Addition of 2.0 mg/L 6-BA and 1.0 mg/L KT and 0.5 mg/L GA₃ to MS nutrient medium induced maximum number of shoot buds (44.6%), higher KT concentration helped to induce high buds (40%). These shoots proliferated best in MS medium added BA 1.5 mg/L, KT 0.1 mg/L and GA₃ 0.5 mg/L, with a rate of 2.61. High concentrations of sugar (40 g/L) helped to shoot proliferation, with an average rate of 2.43. For rooting, 1/2MS+IBA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 1.5 was the suitable medium. Rooting began 8d after implantation, with a rooting rate of 15.8%. 15d later, root length was 3 to 4cm, average root number was 3-4.

Key words: jackfruit; tissue culture; hormone