

食用观赏兼用果树新种类费约果的组织培养技术初探*

王丹 刘仁道 张冬雪 陈静 吴杰

(西南科技大学生命科学与工程学院 绵阳 621000)

费约果 *Feijoa sellowiana* Berg., 又名凤梨番石榴, 属桃金娘科, 费约果属, 是一种起源于巴西南部地区的常绿亚热带果树。其果实有独特、浓郁的香味, 香甜可口; 其灌木状树冠, 绿色的果实, 红色的花, 也具有较强的观赏作用, 可作园林绿化树种。目前世界上仅有巴西、新西兰和美国等少数几个国家有果实商品生产。我国广大亚热带地区可栽植该种果树。引种的首要关键是解决其高效繁殖问题。但据报道, 费约果用常规方法繁殖较为困难^[1,2]。笔者从2004年开始从新西兰引种该种类时采用扦插、压条、嫁接等多种方法进行试验也证实存在该问题。因此, 采用组织培养方法, 建立微繁殖体系是其引种成功的又一关键^[3,4]。本试验采用组织培养方法对费约果适宜的外植体及培养基进行了初步探索, 以期对费约果的成功引进奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本试验所采用的组织培养外植体均采自2004年从新西兰林肯大学引种的3年生费约果果实生树。

1.2 方 法

本试验分3个阶段进行。第一阶段研究重点为适宜培养基的比较选择, 第二阶段为适宜的植物生长调节剂种类及其配比选择, 第三阶段为适宜外植体的比较选择。

1.2.1 培养基的比较选择 分两个步骤进行, 首先进行基本培养基单因素试验, 以费约果的叶片为外植体, 选用MS、B5、N6作为3种基本培养基, 均外加6-BA 1.0 mg/L, NAA 0.2 mg/L, 每处理接种10个1 cm²的叶片外植体, 对培养后的染菌率和出愈率进行比较分析, 以确定适宜的基本培养基。

在找到适宜的基本培养基的基础上进行下一步试验; 以B5为基本培养基, 采用6-BA的3个水平(0.1、0.2、2.0 mg/L)、NAA的3个水平(0.02、0.2、1.0 mg/L)和青霉素2个水平(0.5 mg/L)进行裂区及再裂区试验设计, 共18个处理, 重复5次。接种40天后统计染菌数、褐化数、出愈数, 并计算染菌率、褐化率和愈伤组织诱导率(出愈数占接种外植体

数的百分数)。

1.2.2 外植体的比较选择 以外植体种类7个水平(嫩叶、嫩茎带芽、嫩茎不带芽、茎尖、老叶、老茎带芽、老茎不带芽)、外植体酒精灭菌时间3个水平(15、30、60秒)和升汞灭菌时间3个水平(6、9、12分钟)进行裂区及再裂区试验, 共63个处理组合, 重复5次。接种时外植体叶片为1 cm², 茎段长2 cm; 以前期试验效果较好的B5+6-BA 2 mg/L+NAA 1 mg/L+青霉素 5 mg/L作为培养基。

所有外植体处理均用自来水清洗30分钟后, 先用75%酒精消毒15~60秒, 无菌水冲洗1次, 再用0.1%升汞消毒6~12分钟, 无菌水冲洗5~6次, 每次1~2分钟。

1.2.3 培养条件 温度25±2℃, 光照时间12小时, 黑夜12小时, 光照强度2 000 Lx。

2 结果与分析

2.1 适宜的基本培养基选择

适宜的基本培养基是植物组织培养的重要基质, 不同植物选择不同的基本培养基是组织培养能否成功的关键。本试验采用MS、B5、N6等3种基本培养基作为试验对象, 在这3种基本培养基上进行培养的叶片外植体染菌率、褐化率、愈伤组织诱导率的统计结果见表1。

表1 基本培养基对费约果染菌率、褐化率和出愈率的影响

基本培养基	6-BA	NAA	染菌率/%	褐化率/%	愈伤组织诱导率/%
MS	1.0	0.2	98.3a	0a	1.7a
N6	1.0	0.2	95.0b	0a	5.0b
B5	1.0	0.2	88.3c	0a	11.7c

注: 6-BA和NAA浓度单位为mg/L。小写字母表示0.05显著水平。

从表1可见, 3种基本培养基的染菌率均高达80%以上, 其中MS和N6达到90%以上, B5则为88.3%; 褐化率均为0; 愈伤组织诱导率则表现为MS<N6<B5, 且各处理间愈伤组织诱导率差异达

* 四川省外国专家局引进国外智力项目。

到显著水平。虽然愈伤组织诱导率均低,但以 B5 培养基的最高,为 11.7%。因此,后续试验采用 B5 作为基本培养基。

2.2 植物生长调节剂与抗生素适宜组合的选择

在采用 B5 作为基本培养基的基础上再添加青霉素、6-BA、NAA 处理,对其染菌率、愈伤组织诱导率和褐化率进行统计分析(见表 2)。在 18 个处理组合中,以 B5+6-BA 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L

组合(组合序号 9)和 B5+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+青霉素 5 mg/L 组合(组合序号 14)的染菌率最低,愈伤组织诱导率最高,均达到 40%,其次为 B5+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+青霉素 5 mg/L 组合(组合序号 17),其染菌率为 60%,愈伤组织诱导率为 30%,此外,组合序号 4 和序号 12 的愈伤组织诱导率为 20%。因此认为,费约果叶片组培适宜的培养基为组合 9 或组合 14。

表 2 青霉素、6-BA、NAA 对费约果组培效果的影响

组合序号	青霉素	6-BA	NAA	染菌率/%	愈伤组织诱导率/%	褐化率/%	组合序号	青霉素	6-BA	NAA	染菌率/%	愈伤组织诱导率/%	褐化率/%
1	0	0	0	100	0	0	10	5	0	0	100	0	0
2	0	0	0.2	80.0	0	20.0	11	5	0	0.2	80.0	0	20.0
3	0	0	1.0	100	0	0	12	5	0	1.0	70.0	20.0	10.0
4	0	1.0	0	60.0	20.0	20.0	13	5	1.0	0	90.0	0	0
5	0	1.0	0.2	80.0	10.0	10.0	14	5	1.0	0.2	40.0	40.0	20.0
6	0	1.0	1.0	80.0	10.0	10.0	15	5	1.0	1.0	70.0	10.0	20.0
7	0	2.0	0	70.0	10.0	20.0	16	5	2.0	0	80.0	10.0	10.0
8	0	2.0	0.2	90.0	10.0	0	17	5	2.0	0.2	60.0	30.0	10.0
9	0	2.0	1.0	50.0	40.0	10.0	18	5	2.0	1.0	80.0	10.0	10.0

注:青霉素、6-BA 和 NAA 的浓度单位为 mg/L。

2.3 适宜的外植体选择

试验结果看出,在本试验所选用的 7 种外植体

中,由于老叶、老茎带芽、老茎不带芽 3 种外植体的所有处理愈伤组织诱导率均为 0,所以在表 3 中只

表 3 费约果不同外植体种类组培效果比较

组合代号	酒精处理时间/秒	升汞处理时间/分钟	染菌率/%	愈伤组织诱导率/%	褐化率/%	组合代号	酒精处理时间/秒	升汞处理时间/分钟	染菌率/%	愈伤组织诱导率/%	褐化率/%
Y1	15	6	80.0	0	20	J1	15	6	100.0	0	0
Y2		9	80.0	0	20	J2		9	100.0	0	0
Y3		12	80.0	20.0	0	J3		12	60.0	20.0	20
Y4	30	6	100.0	0	0	J4	30	6	100.0	0	0
Y5		9	20.0	80.0	0	J5		9	80.0	20.0	0
Y6		12	40.0	20.0	40	J6		12	60.0	20.0	20
Y7	60	6	80.0	0	20	J7	60	6	100.0	0	0
Y8		9	60.0	20.0	20	J8		9	60.0	40.0	0
Y9		12	20.0	0	80	J9		12	60.0	40.0	0
平均			62.2	15.6	22.2	平均			80.0	15.6	4.4
YJ1	15	6	100.0	0	0	T1	15	6	100.0	0	0
YJ2		9	60.0	20.0	20	T2		9	100.0	0	0
YJ3		12	60.0	20.0	20	T3		12	40.0	20.0	40
YJ4	30	6	100.0	0	0	T4	30	6	100.0	0	0
YJ5		9	20.0	80.0	0	T5		9	60.0	40.0	0
YJ6		12	80.0	20.0	0	T6		12	40.0	20.0	0
YJ7	60	6	60.0	0	40	T7	60	6	100.0	0	0
YJ8		9	60.0	40.0	0	T8		9	100.0	0	0
YJ9		12	60.0	20.0	20	T9		12	100.0	0	0
平均			66.7	20.0	11.1	平均			82.2	8.9	4.4

注:外植体种类:Y1~Y9 为嫩叶,YJ1~YJ9 为带芽嫩茎,J1~J9 为不带芽嫩茎,T1~T9 为茎尖。

列出其余4种外植体在不同处理组培中的结果。

从表3可见,4种外植体平均愈伤组织诱导率为:带芽嫩茎>嫩叶、不带芽嫩茎>茎尖,但经方差分析其差异未达到显著水平。4种外植体的染菌率则为:茎尖>不带芽嫩茎>带芽嫩茎>嫩叶,即嫩叶的染菌率最低,为62.2%;茎尖最高,达82.2%。褐化率以嫩叶最高,达22.2%;带芽嫩茎次之,为11.1%;不带芽嫩茎和茎尖最低,均为4.4%。

在本试验中虽然各处理平均愈伤组织诱导率都低,但有2个处理组合的愈伤组织诱导率达到80%,即处理组合Y5(即嫩叶+酒精处理30秒+升汞处理9分钟)和YJ5(即带芽嫩茎+酒精处理30秒+升汞处理9分钟)。因此认为,费约果适宜组培的外植体应是嫩叶和带芽嫩茎。老叶、老茎带芽和老茎不带芽3种外植体不能获得愈伤组织。

3 讨论

本试验分3个阶段进行,每阶段的各种处理总体愈伤组织诱导率都不太高,但最佳处理的愈伤组织诱导率却从第一阶段的11.7%上升到第三阶段的80%,说明试验条件的优化对费约果组培至关重要。

本试验结果的带芽嫩茎为费约果组培适宜的外植体与Sant S.^[5]等的报道一致。同时Sant S.^[5]等也报道以MS+BAP(苄氨基嘌呤)0.1 mg+CH(水解酪蛋白)500 mg为培养基,以采自2年生实生苗的带芽嫩茎为外植体,表现为芽100%萌发及侧枝的发育,但当相同外植体采自3年生的实生苗时则只有12%的芽萌发及侧枝发育。由此可见,来源于幼嫩植株的外植体优于较老植株。本试验由于条件限制,所有外植体均采自3年生实生苗,如用2年生实生苗为材料,相信效果会更好。J. M. Canhot^[1]等报道以嫩叶为外植体,以MS+BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L+500 mg/L干酪素水解物为培养基进行费约果组培,诱导率最大为20%,同样进行其胚的培养诱导率最高达到43%。由此可见,本试验所采用的培养条件的诱导率高于已有报道,条件进一步优化;但尚需对愈伤组织诱导成苗的条件进行深入的研究。本试验各阶段虽然采用多种方式严格消毒,但各处理染菌率仍然较高,这可能是费约果组培各处理诱导率普遍较低的重要因素,分析其原因可能与其内生菌有关,但尚需进一步试验证实;进一步降低染菌率的方法也还需深入研究。

4 结论

获得费约果组培效率高的愈伤组织诱导率的培

养条件是:以嫩叶或带芽嫩茎为外植体,以75%酒精处理30秒后再以升汞处理9分钟对外植体进行消毒,以B5为基本培养基,添加NAA 0.2~1 mg/L+6-BA 1~2 mg/L+青霉素5 mg/L,愈伤组织诱导率可达到40%~80%。

参 考 文 献

- [1] J M Canhot, G S Gruz. Micropropagation of Pineapple Guave Through organogenesis and axillary shoot proliferation[C]// ISHS Acta Horticulture 520: X X v International Horticultural Congress, Part 10; Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding-In Vitro Culture, Brussels; ISHS, 2000
- [2] M P Guerra, R Pescador, L L D Vesco, et al. In Vitro Morphogenesis in Feijoa Sellowiana; somatic embryogenesis and plant regeneration [S]// ISHS Acta Horticulture 452; International Symposium on Myrtaceae Brussels; ISHS, 1997
- [3] S Suzana, D V L Luiz, D J Pierre H J, et al. Somatic embryogenesis from floral tissues of Feijoa (Feijoa sellowiana Berg) [J]. Scientia horticulturae, 2005, 105(1), 117-126
- [4] J M Canhoto, M Lopes, G S Cpuz. Somatic embryogenesis and plant regeneration in myrtle (Myetaceae) [J]. Scientia Agricola, 1995, 52(1) (Abstract)
- [5] Sant S Bhojwani, K Mullins, D Cohen. Micropropagation of Feijoa Sellowiana Berg [S]// ISHS Acta Horticulture 212; Symposium on In Vitro Problem Related to Mass Propagation of Horticultural plants, Brussels; ISHS, 1987

收稿日期:2006-10-31

作者简介:王丹,女,硕士,教授,研究方向为园艺植物遗传育种。联系电话:(0816)6089522,13708129750, E-mail: wangdan@swust.edu.cn

欢迎邮购

《中外脐橙文献汇编》

主要内容有品种·引种,生理,砧木·育苗,定植与早结丰产,综合栽培技术,优质大果栽培技术,高接砧穗组合,高接技术及接后管理,整形修剪与控梢,环剥环割,落花落果规律与保花保果,夏秋落果、脐黄、裂果规律及控制,植物生长调节剂应用,病虫害防治以及防冻减灾等。邮购价16元,简称“脐橙汇编”。

汇款地址:重庆市北碚区歇马镇柑桔所
收款人:中国南方果树 邮编:400712
联系电话:(023)68349198