

阳桃的组织培养与快速繁殖

刘建福¹ 吴清²

(1. 华侨大学生物工程系, 福建 泉州 362021; 2. 四川省宜宾市园林管理局, 四川 宜宾 644000)

摘要: 以阳桃茎段为材料进行组培快繁。结果表明: 阳桃离体培养的细胞分裂素以 ZT 的效果最好, 其次是 BA, KT 最差; 植物生长调节物质是 NAA 最好, 其次是 IBA、IAA; 较适宜的植物生长调节物质配比为 BA 0.5 mg L⁻¹ + NAA 0.2 mg L⁻¹ + GA 0.2 mg L⁻¹, 增殖系数高达 3.7, 而且畸苗率较低(23.3%)。生根培养基以 1/2 MS + IBA 0.2 mg L⁻¹ + IAA 0.1 mg L⁻¹ 效果好, 生根率达 87.1%, 蔗糖浓度以 2.0%–3.0% 为宜。

关键词: 阳桃; 离体培养; 快繁; 茎段

中图分类号: Q943.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)03-0265-03

Rapid *in vitro* Propagation of *Averrhoa carambola*

LIU Jian-fu¹ WU Qing²

(1. Department of Biology Engineering, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China;

2. Sichuan Yibin Gardens Bureau, Yibin 644000, China)

Abstract: Nodal segments of tropical fruit *Averrhoa carambola* (Oxalidaceae) were used as explants to investigate optimum conditions for rapid propagation. Among cytokinins (1.0 mg L⁻¹), zeatin (1.0 mg L⁻¹) was best for culture, and kinetin (1.0 mg L⁻¹) the worst. MS medium supplemented with 0.5 mg L⁻¹ BA, 0.2 mg L⁻¹ NAA and 0.2 mg L⁻¹ GA was optimal for the plantlet growth, the proliferation coefficient being as high as 3.7, and the rate of abnormal plantlets was only 23.3%. As for rooting, half-strength MS medium containing 0.2 mg L⁻¹ IBA, 0.1 mg L⁻¹ IAA and 2%–3% sucrose was the best. The rooting rate was 87.1%.

Key words: *Averrhoa carambola*; Tissue culture; Rapid propagation; Stem

阳桃(*Averrhoa carambola* L.)又名杨桃、五敛子、三廉子, 属酢酱草科(Oxalidaceae)阳桃属植物, 为热带常绿果树。原产于亚洲东南部, 在我国栽培历史悠久, 广泛分布于广东、广西、福建、海南、台湾、云南等省区。其成熟果实清甜多汁, 酸甜适度, 风味可口, 为南方名果之一。具有较高的营养价值, 含人体需要的多种维生素、氨基酸、矿物质及有机酸; 果形独特、美观, 又因其横切面的图样被称为星星果(Star Fruit)。同时, 阳桃又有药用价值, 据《本草纲目》记载曰: “五敛子, 去风热, 解酒毒, 治黄疸、赤痢。”阳桃还可加工成蜜饯、果汁、罐头、果酱, 特别是阳桃果汁是盛夏降火解暑的优良饮品, 极受欢迎^[1,2]。目前品种质量严重地制约着阳桃生产的发展, 急需加强优良品种的引种和选育工

作。而国内外对阳桃离体培养研究较少^[3-6], 茎段培养尚未见报道。本试验旨在建立阳桃的离体再生体系, 为实现阳桃的快速繁殖和进一步选育优良品种提供理论依据。

1 材料和方法

外植体处理 取阳桃 1 年生新梢, 剔除叶片使腋芽裸露, 切成 1 cm 左右的茎段, 每个茎段带 1 个腋芽, 于超净工作台上用 75%乙醇处理 8–15 s 和 0.1%HgCl₂(加数滴吐温)处理约 10 min 进行复合式消毒, 无菌水冲洗 4–5 次, 备用。

培养条件 基本培养基 MS, 1/2 MS, 1/4 MS, 并根据试验目的需要添加不同浓度配比的 BA, ZT (zeatin, 玉米素), KT(kinetin, 6- 咪喃甲氨基嘌呤, 又

收稿日期: 2003-07-16 接受日期: 2003-10-09

基金项目: 华侨大学科研项目(03HZR1)资助

称激动素), NAA, IAA, IBA 等植物生长调节物质和不同浓度的蔗糖。所有培养基皆以 0.7% 琼脂固化, 在高压灭菌前将 pH 值调至 5.8, 每种处理组合中均加入 0.2% 活性炭, 培养温度为 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 每天光照 12–14 h, 光照强度 $1\ 500\text{--}2\ 000\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。

细胞分裂素的筛选 将外植体接种于 MS + NAA $0.5\ \text{mg L}^{-1}$ 并分别附加浓度为 $1.0\ \text{mg L}^{-1}$ 的 BA, KT, ZT 的培养基上进行细胞分裂素种类筛选, 每种处理重复 5 次。

生长素的筛选 以 MS 为基本培养基并添加 $1.0\ \text{mg L}^{-1}$ 的最佳细胞分裂素, 同时分别附加浓度为 $0.5\ \text{mg L}^{-1}$ 的 IBA, IAA, NAA 进行生长素种类的筛选, 每种处理重复 5 次。

植物生长调节物质配比筛选 以 MS 为基本培养基, 培养基中分别附加 BA $0.5, 1.0, 2.0, 3.0\ \text{mg L}^{-1}$; NAA $0.05, 0.1, 0.2, 0.3\ \text{mg L}^{-1}$; GA $0.05, 0.1, 0.2, 0.3\ \text{mg L}^{-1}$, 采用 $L_{16}(4^4)$ 的正交设计表进行最适植物生长调节物质组合的筛选, 共计 16 个处理组合, 每个处理接 10 个茎段, 3 次重复。

2 结果和分析

2.1 植物生长调节物质种类对外植体生长的影响

表 1 可见: 阳桃在 3 种细胞分裂素中均能生长, 其中以 ZT 效果最好, 表现为叶片大且形态正常、叶色浓绿、茎干粗壮、生长势强, BA 次之, KT 最差, 表现为叶片形态不正常、叶小且成簇状、难展开、叶色淡绿、茎干柔嫩易断且呈水浸状、生长势弱并且有一定的死亡率。

不同植物生长调节物质对阳桃生长的研究结果(表 1)表明: IBA, IAA, NAA 对阳桃生长势的差异不显著, 幼苗生长旺盛, 形态正常; 而基部褐化程度

表 1 植物生长调节物质对阳桃外植体的影响
Table 1 Effects of growth regulators on the growth of *Averrhoa carambola* explants

生长调节物质 Growth regulators (mg L^{-1})	生长势 Plantlet growth	褐化程度 Callus browning	产生的愈伤组织 Callus quantity	死亡率 Mortality (%)
IBA (0.5)	强	++	少	2.0
IAA (0.5)	强	+	多	1.0
NAA (0.5)	强	-	多	0
ZT (1.0)	强	-	多	0
KT (1.0)	弱	++	中	6.0
BA (1.0)	弱	+	少	4.0

“++”、“+”、“-”分别表示严重褐化、褐化、不褐化; ++, +, and - represent that the calli are severely browning, browning and no browning, respectively. 接种外植体数为 30 块 No. of explants is 30.

以 NAA 最轻, 其次为 IAA, IBA 最重; 基部产生愈伤组织以 NAA 与 IAA 较多, IBA 最少; 从经济角度和生产程序考虑, 宜选择更为廉价、常用和简便的 NAA 作为植物生长调节物质。

2.2 不同植物生长调节物质组合对植株生长的影响

在进行植物生长调节物质对外植体的影响研究中, ZT 和 NAA 效果最好, 但由于 ZT 价格昂贵, 配制程序繁琐(需过滤灭菌和分装), 极不适合大规模生产应用, 为尽量节约生产成本和适应大规模生产, 本试验选择了细胞分裂素中效果较好且更为常用、廉价和简便的 BA, 生长素选择了 NAA 并采用 $L_{16}(4^4)$ 正交表进行设计, 以期筛选出适于阳桃生产的培养基。

将阳桃外植体接种到附加植物生长调节物质(表 2)的 MS 培养基上培养 30 d 后, 对其进行观察和统计。从外部形态上观察, 以含 BA $0.5\ \text{mg L}^{-1}$ 培养基的生长势最好, 外植体形态也正常; 综合考虑生长势、增殖系数和畸苗率, 以培养基中添加 BA $0.5\ \text{mg L}^{-1}$ + NAA $0.2\ \text{mg L}^{-1}$ + GA $0.2\ \text{mg L}^{-1}$ 的增殖系数最高, 为 3.7, 而且畸苗率也较低(23.3%), 是阳桃外植体较适宜的植物生长调节物质配比。

表 2 不同植物生长调节物质组合对阳桃植株生长的影响
Table 2 Effects of growth regulators in combination on plantlets growth of *Averrhoa carambola*

植物生长调节物质 Growth regulators (mg L^{-1})	生长势 Plantlet growth	增殖系数 Proliferation coefficient	畸苗率(%) Abnormal plantlet
0.5 BA+0.05NAA+0.05GA	强	2.2	53.3
0.5 BA+0.1 NAA+0.1 GA	强	2.9	30.0
0.5 BA+0.2 NAA+0.2 GA	强	3.7	23.3
0.5 BA+0.3 NAA+0.3 GA	强	1.8	43.3
1.0 BA+0.05NAA+0.1 GA	良好	1.2	80.0
1.0 BA+0.1 NAA+0.05GA	良好	1.3	70.0
1.0 BA+0.2 NAA+0.3 GA	良好	2.0	36.7
1.0 BA+0.3 NAA+0.2 GA	良好	1.7	16.7
2.0 BA+0.05NAA+0.2 GA	良好	1.0	93.3
2.0 BA+0.1 NAA+0.3 GA	良好	1.5	86.7
2.0 BA+0.2 NAA+0.05GA	良好	2.1	56.7
2.0 BA+0.3 NAA+0.1 GA	良好	1.7	40.0
3.0 BA+0.05NAA+0.3 GA	一般	2.2	100.0
3.0 BA+0.1 NAA+0.2 GA	一般	3.1	86.7
3.0 BA+0.2 NAA+0.1 GA	一般	1.6	73.3
3.0 BA+0.3 NAA+0.05GA	一般	1.9	60.0

接种外植体数为 30 块 No. of explants is 30.

2.3 不同生根培养基对试管苗生长的影响

降低基本培养基中各成份的浓度有利于试管苗的生根, 但浓度越低, 死亡率有随之增加的趋势。尽管 1/2 MS 和 1/4 MS 在生根率、平均每株根数、愈

伤化程度方面差异不显著, 都能取得较为理想的生根效果; 但在成活率和试管苗生长健壮方面, 1/4 MS 不及 1/2 MS(表 3)。所以, 基本培养基采用 1/2 MS 较为适宜, 而且能在相对短的时间内获得乳白色、粗壮的良好根系, 有利于试管苗的移栽。

不同植物生长调节物质浓度对试管苗生根的影响见表 3。在无植物生长调节物质的 1/2 MS 培养基上, 试管苗不能生根, 当添加一定量的植物生长调节物质后, 均能取得一定的生根效果, 其中以

IBA 0.2 mg L⁻¹ + IAA 0.1 mg L⁻¹ 的生根效果好; 相同的 IBA 浓度, 单独使用 IBA 的生根率及平均生根数明显低于 IBA 和 IAA 混用的; 由此可见, IAA 对根的诱导似乎只起一种促进作用, 而不是诱导生根的主要因子。

阳桃试管苗生根培养基的蔗糖浓度以 2%–3% 较好, 生根植株生长势好、苗壮, 而 1% 蔗糖虽每株生根数较高, 但大多细弱纤长, 而且有部分植株死亡。

表 3 基本培养基、蔗糖浓度和植物生长调节物质对试管苗生根的影响
Table 3 Effects of basal medium, sucrose concentration and growth regulators on rooting

处理 Treatment		外植体数(块) No. of explants	平均生根数 Root no.	生根率(%) Rooting	死亡率(%) Mortality	褐化程度 Callus browning
基本培养基 Basal medium	MS	29	1.3	34.5	3.4	++
	1/2 MS	33	3.3	81.8	12.1	+
	1/4 MS	31	3.0	61.3	29	+
蔗糖 Sucrose (%)	1.0	30	3.8	66.3	13.3	+
	2.0	30	3.0	86.7	0	-
	3.0	30	2.4	83.3	0	-
植物生长调节物质 Growth regulators (mg L ⁻¹)	0.0 IBA+0.0 IAA	30	0	0	0	-
	0.2 IAA	28	0.4	14.3	0.2	+
	0.2 IBA	29	1.6	51.7	1.4	-
	0.1 IBA+0.1 IAA	33	1.9	63.6	1.7	-
	0.2 IBA+0.1 IAA	31	3.4	87.1	3.2	-
	0.2 IBA+0.2 IAA	38	3.0	81.6	2.8	+

“++”、“+”、“-”分别表示严重褐化、褐化、不褐化。++, +, and - are as Table 1.

2.4 试管苗的移栽

由于阳桃试管苗比较柔嫩, 性喜高温多湿、不耐旱、冷冻和霜雪、忌强烈日照, 要求年均气温 21℃ 以上。所以移栽试管苗应避过高温炎热的夏季和低温寒冷的冬季, 以春季(3–5 月)和秋季(10–11 月上旬)较为适宜; 其次, 阳桃试管苗应先从培养室中移至气温较低的室内进行炼苗 4–5 d, 而后再在室内开瓶炼苗 2–3 d, 最后, 在瓶内加少许自来水炼苗 1–2 d 后再移栽, 移栽前, 用高压灭菌锅将土灭菌, 苗栽后浇透水, 初期加盖遮阳网, 保温保湿, 管理期间, 土壤切忌太湿和注意保持空气湿度。

3 小结

植物生长调节物质是植物离体培养中的关键物质, 对植物离体再生体系的建立起着决定性的作用, 而且, 不同植物对植物生长调节物质种类、浓度要求不一致; 不同培养阶段, 植物生长调节物质的种类和浓度也不完全相同。在本实验中, 阳桃离体再生体系的建立中, 植物生长调节物质起了重要作用。阳桃对细胞分裂素的选择以 ZT 的效果最好, 其

次为 BA, 最差是 KT, 而在生长素种类方面, 其要求似乎不严格, IAA、IBA、NAA 三者差异不明显; 在生根培养中 IAA 对根的诱导似乎只起一种促进作用, 而不是诱导根的主要因子。

参考文献

- [1] Xiao B S(肖邦森), Xie H H(谢红辉), Lei X T(雷新涛). Culture Techniques for High Quality of *Averrhoa carambola* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1987. 166–180. (in Chinese)
- [2] Yang Z H(杨增海). Tissue Culture of Horticultural Plants [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001. 22–34. (in Chinese)
- [3] Li J H(李继红), Shao H S(邵寒霜), Huang G X(黄贵修). Rapid propagation of *Averrhoa carambola* cultured *in vitro* by shoot tip [J]. China Fruit(中国果树), 1999, 4:37. (in Chinese)
- [4] Islam R, Khalekuzzaman M, Mamun A N K, et al. Regeneration of *in vitro* cultured hypocotyls explants of *Averrhoa carambola* [J]. Crop Res Hisar, 2000, 11(1):111–116.
- [5] Khalekuzzaman M, Islam R, Reza M A. Regeneration of plantlets from *in vitro* cultured cotyledons of *Averrhoa carambola* [J]. Phytomorphology, 1999, 45(1–2):107–111.
- [6] Griffis J L, Lits R E. Organogenesis in tissue culture of *Averrhoa carambola* [J]. Proc Florida State Hort Soc, 2001, 106:128–131.