

李金凤, 糜 林, 陈雪平, 等. 麦斯衣陶芬无花果离体快速增殖研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(11): 73-75.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.022

# 麦斯衣陶芬无花果离体快速增殖研究

李金凤, 糜 林, 陈雪平, 万春雁, 霍恒志, 陈丙义

(江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏句容 212400)

**摘要:**以麦斯衣陶芬无花果幼嫩枝条为试材, 研究了外植体材料、基本培养基以及激素种类和配比等因素对其离体快速增殖的影响。结果表明, 适宜麦斯衣陶芬无花果离体快速增殖的外植体为腋芽, 培养基为改良 MS + 1 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L NAA + 1 mg/L GA<sub>3</sub> + 20 mg/L 蔗糖 + 7 mg/L 琼脂粉, pH 值为 5.8。

**关键词:**麦斯衣陶芬无花果; 离体繁殖; 增殖倍数

**中图分类号:** S663.304+.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)11-0073-02

麦斯衣陶芬无花果, 因其果大俗称巨型无花果, 原产美国加州, 从日本引入我国。试种观察结果表明, 麦斯衣陶芬是目前最有推广前途的无花果优良品种之一, 适宜长江以南地区栽培。无花果生产上多采用扦插繁殖<sup>[1]</sup>, 也有外来无花果嫁接培育方法, 但与材料来源多、增殖率高的试管离体快速培养苗木繁殖相比, 具有材料来源少、繁殖率低、费工费时、受季节限制严重、场地面积占用大等问题, 难以满足当前大面积栽培及推广的需要; 此外, 从育种角度来讲, 无花果为隐头花序, 小花隐生于囊状总花托内, 不能利用常规杂交育种技术进行品种改良和更新。随着生物技术果树育种中的成熟应用, 转基因技术无疑是改良品种的首选方法。而转基因技术又是以组织培养为前提、为基础的一门技术, 因此, 要想利用转基因技术进行无花果育种就必须先建立无花果离体培养的快速增殖体系。尽管宋仪农等近几年来对不同品种无花果的组织培养离体快繁技术作了相应的报道<sup>[2-5]</sup>, 但没有麦斯衣陶芬无花果的离体快速增殖方法的相关报道。基因型往往决定着离体培养的成败, 不同基因型对不同激素的种类及浓度搭配要求不同<sup>[6-7]</sup>。本研究以麦斯衣陶芬无花果为试验材料, 试图建立其离体快速增殖的方法, 以供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

麦斯衣陶芬(Masui Dauphine)无花果生长旺盛的幼嫩枝条。

### 1.2 方法

**1.2.1 外植体冲洗** 剪取处于旺盛生长的幼嫩枝条, 将其剪成带单芽的茎段, 芽上方剪留 0.5 cm 长, 芽下茎段剪留 1~1.5 cm 长, 顶芽单独截取。用洗衣粉反复清洗数遍, 流水冲洗 2 h, 装入保鲜袋中备用。

**1.2.2 防褐化处理** 将装有单芽的保鲜袋放入 4℃ 的冰箱,

预冷 4 h 后取出, 擦干表面水分, 置于 1 500 mg/L 的维生素 C 溶液中浸泡 30 min, 备用。

**1.2.3 表面消毒** 将进行过防褐化处理的单芽, 先用 75% 乙醇浸泡 30 s, 无菌清水冲洗 2 遍, 无菌纸擦干表面水分, 再转入 0.1% HgCl<sub>2</sub> 溶液中消毒 8 min, 不间断地晃动瓶子, 使外植体与溶液充分接触, 促使消毒更彻底。然后, 用无菌清水反复冲洗外植体数遍, 直至将 HgCl<sub>2</sub> 完全冲洗干净, 倒掉多余清水, 用无菌纸吸干外植体表面水分。

**1.2.4 扦插** 分别将每个外植体的剪口处再剪掉 0.2 cm 长, 按照芽的极性, 将下端扦插入诱导培养基(基本培养基)中, 培养 20~30 d, 待小苗长至 0.4~0.5 cm 时切下, 转到增殖培养基中进行增殖培养。

**1.2.5 筛选外植体** 以腋芽和顶芽为试材, 扦插在基本培养基上进行培养, 每瓶培养基中接种 3 个外植体, 每处理 10 瓶, 设 3 次重复, 培养 15~20 d 后调查统计。

**1.2.6 基本培养基** 选用 MS、3/4MS、1/2MS 和改良 MS(以 MS 培养基母液的配方为基础, 用四水硝酸钙替换大量元素中的无水氯化钙, 经换算, 其用量为无水氯化钙的 2.12 倍) 4 种基本培养基, 分别在其中添加 1 mg/L 6-BA 和 0.05 mg/L NAA 对幼苗进行培养, 每瓶培养基中接种 1 株幼苗, 每处理 10 瓶, 设 3 次重复, 培养 30 d 后调查统计。

**1.2.7 筛选激素种类及浓度配比** 细胞分裂素选用 0.5、1、2 mg/L 6-BA, 生长素选用 0.05、0.1 mg/L NAA, 0.4 mg/L IBA 和 0.2、0.4、0.5、1.2 mg/L GA<sub>3</sub> 分别进行组配, 每瓶培养基中接种 1 个外植体, 每处理 10 瓶, 设 3 次重复, 培养 30 d 后调查统计。

**1.2.8 生根及移栽** 选用 1/2 改良 MS + 0.5 mg/L IBA + 20 mg/L 蔗糖 + 7 mg/L 琼脂粉、pH 值 5.8 的培养基进行生根, 并移栽。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体对成苗的影响

腋芽和顶芽均能培养成健壮苗, 且 2 种外植体的成苗率基本相同(表 1)。顶芽经过防褐化和消毒处理后极易白化, 白化率高达 17%, 腋芽白化率仅为 6%, 且腋芽取材容易, 来源广, 综合考虑, 用腋芽作试材更经济方便。

收稿日期: 2014-04-08

作者简介: 李金凤(1980—), 女, 河南焦作人, 硕士, 助理研究员, 主要从事草莓育种与果树栽培技术研究与推广。E-mail: lijinfeng512@126.com。

通信作者: 糜 林, 研究员。Tel: (0511) 87273260。

表 1 不同外植体对成苗的影响

外植体类型	外植体数 (株)	成苗数 (株)	成苗率 (%)	污染数 (株)	污染率 (%)	白化数 (株)	白化率 (%)
顶芽	30	21	70	4	13	5	17
腋芽	30	20	67	8	27	2	6

2.2 基本培养基对无花果增殖倍数的影响

由表 2 可以看出,幼苗在改良 MS 基本培养基中植株长势健壮,叶色绿,株高达 7.1 cm,增殖倍数最高,达 26.7 倍,

愈伤组织分化的量也较多,白嫩且晶莹剔透,说明改良 MS 基本培养基更适于麦斯衣陶芬无花果离体快速培养。

表 2 不同基本培养基对无花果增殖倍数的影响

基本培养基	株高 (cm)	增殖倍数 (倍)	植株长势	愈伤组织 分化量	愈伤组织形态
1/2MS	1.5	9.8	中等,叶色浅绿	少	白褐色,少量黄绿色,失水干燥状,愈伤组织松散,不紧实
3/4MS	2.6	11.3	中等,叶色浅绿	少	白色,少量变褐色,失水干燥状,愈伤组织较松散,不紧实
MS	5.3	23.4	良好,叶色绿	多	白色,部分白中带绿色,愈伤组织浓密较紧实,水分充足,幼嫩
改良 MS	7.1	26.7	健壮,叶色绿	多	白色,晶莹剔透,愈伤组织浓密紧实,水分充足

2.3 激素种类及浓度对比对无花果离体快速增殖的影响

由表 3 可知,在同时添加 1 mg/L 6-BA,0.05 mg/L NAA 和 1 mg/L GA<sub>3</sub> 的改良 MS 培养基上,试管苗植株长势最为健

壮,叶色绿,叶片大,幼嫩而肥厚,增殖倍数最高,高达 28.4 倍,植株株高最高,达 6.8 cm,节间最长,最大节间长度 1.1 cm。6-BA 浓度达到 2 mg/L 时,植株严重玻璃化。

表 3 不同激素种类及浓度对比对无花果离体快速增殖的影响

6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)	GA <sub>3</sub> (mg/L)	增殖倍数 (倍)	株高 (cm)	节间长度 (cm)	最大节间长度 (cm)	植株长势
0.5	0.05			16.4	3.5	0	0.1	良好
1	0.05			19.7	3.9	0.1	0.3	良好
2	0.05			6.9	3.4	0.1	0.2	玻璃化
1	0.1			15.9	3.6	0.05	0.1	良好
2	0.1			7.8	3.8	0.1	0.3	玻璃化
0.5	0.05		0.5	19.9	4.1	0.1	0.4	良好
0.5	0.05		1	21.3	6.5	0.4	0.5	良好
0.5	0.05		2	9.1	6.4	0.3	0.3	失绿白化
1	0.05		0.5	23.9	4.7	0.3	0.9	良好
1	0.05		1	28.4	6.8	0.5	1.1	良好
1	0.05		2	15.9	5.7	0.2	0.8	失绿白化
0.5		0.4	0.2	3.2	1.2	0	0.1	弱
0.5		0.4	0.4	3.4	1.5	0	0.1	弱
1		0.4	0.2	4.5	1.8	0	0.1	弱
1		0.4	0.4	4.3	2	0	0.1	弱

2.4 生根及移栽

选用 1/2 改良 MS + 0.5 mg/L IBA + 20 mg/L 蔗糖 + 7 mg/L 琼脂粉、pH 值 5.8 的培养基,生根率达到 100%,移栽成活率达 98%。

3 结论与讨论

在无花果离体培养过程中,由于其嫩茎及茎尖组织髓部较大,组织结构疏松,使其内部具有大量的内生菌<sup>[8]</sup>,增加了无菌苗的获得难度。本试验中,选取旺盛生长期的茎尖(顶芽)和腋芽做试材,以减少内生菌感染。同时,利用乙醇和 HgCl<sub>2</sub> 结合灭菌,并适当延长灭菌时间至 8 min,达到了较好的灭菌效果。

褐变也是无花果离体培养过程中普遍存在的问题。在研究过程中发现,较重程度的褐变会严重影响外植体的生长,甚至造成死亡。本试验采用孙丽娟等的方法<sup>[9]</sup>,在培养前用 1 500 mg/L 维生素 C 溶液浸泡,大大降低了褐变程度,保证了培养过程中试管苗的正常生长。

无花果属于无性繁殖能力很强的树种,离体增殖和诱导生

根相对比较容易。本研究发现,在较低的外源激素浓度下即可达到理想的效果,过高反而不利于生长。本试验结果表明,适宜麦斯衣陶芬无花果离体快速增殖的培养基为改良 MS + 6-BA 1 mg/L + 0.05 mg/L NAA + 1 mg/L GA<sub>3</sub> + 20 mg/L 蔗糖 + 7 mg/L 琼脂粉,pH 值为 5.8。这与段新玲等报道的培养基<sup>[3,10-11]</sup>不同,表明不同基因型材料所要求的培养基种类不同。

参考文献:

[1]李艳玲. 无花果春季硬枝扦插技术[J]. 现代农业科技,2007 (2):22.  
[2]宋仪农,吴钦林,杜启兰,等. 无花果的茎段离体快速繁殖技术[J]. 林业科技,2002,27(6):50-51.  
[3]段新玲,任东岁,赵书珍. 无花果组织培养再生系统的研究[J]. 林业科学研究,2001,14(6):621-627.  
[4]李 康,陈聚恒,宋锋惠,等. 无花果组织培养及快速繁殖技术研究[J]. 园艺学报,1997,24(1):90-91.  
[5]朱建华,关丽霞. 无花果的组织培养研究[J]. 北方果树,2002 (3):9-10.

潘 梅, 戚华莎, 黄 赛, 等. 烟叶唇柱苣苔不定芽的诱导因子[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(11): 75-77.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.023

# 烟叶唇柱苣苔不定芽的诱导因子

潘 梅, 戚华莎, 黄 赛, 王景飞, 吕德任, 符瑞侃

(海南省农业科学院园林花卉研究所, 海南海口 571100)

**摘要:**以烟叶唇柱苣苔无菌叶片为试验材料, 研究培养基 pH 值、无机盐浓度、蔗糖浓度、植物生长调节剂种类及配比等对不定芽诱导的影响, 以期筛选出最佳诱导培养基。结果表明: 不定芽诱导的最佳培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 蔗糖 30 g/L, 灭菌前 pH 值为 6.0, 40 d 不定芽诱导率为 100%, 不定芽数平均为 9.58 个/张, 生长势好。

**关键词:**烟叶唇柱苣苔; 叶片; 不定芽; 组织培养

**中图分类号:** Q943.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)11-0075-03

苦苣苔科植物具有极重要的生物学价值和分类意义<sup>[1]</sup>, 其种类繁多, 全世界约有 150 属 3 000 余种, 我国有 58 属约 463 种<sup>[2]</sup>, 其中海南省约有 13 属 21 种 1 变种, 而特有种 10 种<sup>[3]</sup>。苦苣苔科植物中许多种类是重要的观赏植物、药用植物和特种蔬菜资源。烟叶唇柱苣苔(*Chirita heterotricha*)是苦苣苔科唇柱苣苔属多年生草本植物, 生于海拔约 430 m 的山谷林中或溪边石上, 是海南特有的野生花卉, 其花冠淡紫色或白色, 极为优雅, 而且花期长, 四季长绿, 适合观赏和园艺。此外, 唇柱苣苔属植物具有广泛的适应性<sup>[4]</sup>, 因而烟叶唇柱苣苔具有极大的开发潜力。目前, 烟叶唇柱苣苔仍处于野生状态, 未进行商品化开发。由于人类活动的干扰、生态环境恶化以及自身的原因, 烟叶唇柱苣苔资源逐渐减少, 因此极有必要进行组织培养研究, 以满足烟叶唇柱苣苔的保护和开发利用的需要。本试验以烟叶唇柱苣苔无菌叶片作为材料, 较系统地研究叶片分化不定芽过程中的若干影响因素, 以期筛选出最佳的不定芽诱导培养条件, 快速建立烟叶唇柱苣苔组培技术体系。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

植株采自海南省保亭县。取幼叶进行表面消毒后培养获得的无菌叶片作为试验材料。

收稿日期: 2014-02-09

基金项目: 海南省科学事业费项目(编号: 琼财预[2013]131 号)。

作者简介: 潘 梅(1962—), 女, 广西隆安人, 高级园艺师, 主要从事植物组织培养研究。Tel: (0898) 65380711; E-mail: panmei200@sina.com。

通信作者: 符瑞侃, 园艺师, 主要从事药用植物资源开发与利用研究。

Tel: (0898) 65380711; E-mail: fu0898@163.com。

[6] 姜灵敏, 徐有明, 张冬梅, 等. 红刺玫愈伤组织诱导再生体系的建立[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(4): 914-916.

[7] 周 杰, 曹清河, 周志林, 等. 菜用型甘薯不同品种组织培养差异研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(1): 60, 62.

[8] 张弘弛, 马养民, 刘 瑞, 等. 无花果内生真菌的研究 I. 抗植物病原真菌活性的筛选[J]. 西北农业学报, 2007, 16(2): 232-236.

### 1.2 试验方法

在基本培养基中添加不同种类和浓度的植物生长调节剂, 除试验项目以外, 所有处理中的基本培养基中含食用蔗糖 30 g/L、卡拉胶 9 g/L, 灭菌前 pH 值为 6.0, 光照强度 1 500 lx, 光照时间 9 h/d, 培养温度 (26 ± 2) °C。取无菌植株小叶片(约 0.5 cm × 0.5 cm), 以叶面朝上接种于各种培养基上(图 1), 每个处理接种 8 袋, 每袋 3 张叶, 3 次重复, 定期观察并记录, 培养 40 d 后统计叶片不定芽诱导率和平均不定芽数。不定芽诱导率 = 诱导出芽叶片数/接种叶片数 × 100%, 平均不定芽数 = 不定芽总数/诱导出芽叶片数。



图1 烟叶唇柱苣苔接种叶片

1.2.1 不同接种方式对不定芽诱导的影响 以 MS + 6-BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L 为基本培养基, 接种叶片分别以叶背和叶面平放于培养基上, 共 2 种处理。

1.2.2 pH 值对不定芽诱导的影响 以 MS + 6-BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L 为基本培养基, 灭菌前 pH 值分别调至 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0, 共 5 个处理。

1.2.3 无机盐浓度对不定芽诱导的影响 以 1/4MS、2/4MS、3/4MS、MS 作为基本培养基, 各添加 6-BA 0.1 mg/L +

[9] 孙丽娟, 关洪斌, 赵 晶, 等. 无花果组织培养中防止外植体褐化的研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(2): 535-536.

[10] 胡建刚, 郭继善. 无花果的组织培养[J]. 南京林业大学学报, 1994, 18(3): 73-76.

[11] 王 亮, 王彩虹, 田义珂, 等. 无花果品种“中国紫果”离体培养与保存研究[J]. 河北林果研究, 2009, 24(1): 81-83.