

文章编号: 1674-7054(2014)03-0277-03

苹果菠萝的组织培养与快速繁殖

咎丽梅^{1,2}, 张家云^{1,2}, 吴维军^{1,2}

(1. 中国热带农业科学院 南亚热带作物研究所, 广东 湛江 524091;

2. 海南省菠萝种质创新与利用工程技术研究中心, 广东 湛江 524091)

摘要: 以苹果菠萝的顶芽和吸芽为外植体, 接种于 MS+6-BA 3 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 的培养基上, 30 d 后腋芽萌发; 再将新芽切割, 接种于 MS+6-BA 2 mg·L⁻¹+NAA 0.05 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 的培养基上, 30~40 d 后形成丛生芽, 每 30~40 d 继代 1 次, 可增殖 3~5 倍; 把丛生芽分割成单株并接种于 MS+6-BA 1 mg·L⁻¹+AD 3 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 培养基上, 进行壮苗培养, 25~30 d 后再转接种于 1/2MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹+香蕉汁 30 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 培养基上, 30 d 后可形成完整的根系; 小植株移栽成活率可达 95%。

关键词: 苹果菠萝; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S 59.043 **文献标志码:** A

苹果菠萝 (*Ananas comosus* ‘Apple’) 为凤梨科凤梨属植物, 是从台湾引进的菠萝新品种。该品种具有许多优点, 如产量高、叶少刺、便于栽培管理、皮薄、味清甜无渣似苹果, 故得其名。建立菠萝组织培养和快速繁殖体系, 使其得到大规模繁殖、栽培和利用, 是开发和利用菠萝的有效途径^[1-4], 但目前关于苹果菠萝的组织培养未见报道。笔者以苹果菠萝的顶芽和吸芽为外植体, 对苹果菠萝的组织培养进行了系统的研究, 旨在为其工厂化育苗提供技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 实验材料 苹果菠萝的顶芽或吸芽。

1.2 方 法

1.2.1 初始培养 从生长健壮的苹果菠萝植株上取其顶芽或吸芽, 小心剥去叶片, 依次用自来水冲洗 10 min, $\varphi=75\%$ 的酒精浸泡 30 s, $w=0.1\%$ 的 HgCl₂ 溶液浸泡 8~10 min, 无菌水冲洗 3~4 次, 然后, 置于铺有灭菌滤纸的培养皿内吸干表面水分, 切取带腋芽的茎段接种于初始培养基 (MS+6-BA 3 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹) 上, 并置于 28℃ 的培养室内, 自然散射光下培养, 诱导腋芽的萌发。

1.2.2 增殖培养 切割抽生的腋芽, 接种于 MS+6-BA 2 mg·L⁻¹+NAA 0.05 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 的培养基上培养, 以诱导形成丛生芽, 培养条件: 26~30℃, 1 500 lx, 每天光照 12 h。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。

1.2.3 壮苗和生根 把丛生芽分割成单株接种于 MS+6-BA 1 mg·L⁻¹+AD 3 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 的培养基上进行壮苗培养。25~30 d 后, 再转接至 1/2 MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹+香蕉汁 30 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 的培养基上进行生根培养 (培养条件: 26~30℃, 2 500 lx, 每天光照 12 h), 以诱导小芽形成完整的根系。

1.2.4 试管苗的移栽 将长根的瓶苗移置于室温自然光下炼苗 5~7 d, 打开瓶盖再放置 2~3 d, 然后移

收稿日期: 2014-03-09

作者简介: 咎丽梅 (1976-), 女, 助理农艺师。E-mail: zanlimei555@163.com

栽于 $V_{椰糠} : V_{河砂} : V_{表土} = 5 : 3 : 2$ 的基质上, 移栽 7 d 内每天喷雾保湿, 促进小苗成活。

2 结果与分析

2.1 无菌材料系的建立 苹果菠萝的顶芽或吸芽在初始培养基上培养 30 d 后, 腋芽开始萌发并抽生新芽, 但在外植体培养的初期会出现褐化现象。为了防止外植体的褐化, 新接材料先暗培养 (25 °C) 3 ~ 4 d, 然后移到自然散射光下培养, 以有效地抑制褐化的产生, 提高外植体的成活率 (图 1)。

2.2 继代增殖结果 将在初始培养阶段形成的芽切下, 并接种于 $MS + 6-BA 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上, 培养 30 ~ 40 d 后形成丛生芽 (图 2)。将从生芽切割成带 2 ~ 3 个芽的芽丛, 接种于相同的培养基上进行继代增殖, 继代周期为 30 ~ 40 d, 增殖系数达 3 ~ 5 倍。



图 1 苹果菠萝无菌材料的建立

Fig. 1 Establishment of aseptic in vitro culture of *Ananas comosus*

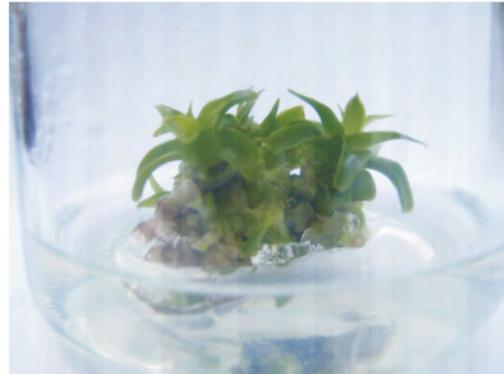


图 2 丛生芽

Fig. 2 The clustered shoots

2.3 壮苗和生根情况 当芽的继代增殖达到预期数量, 小芽高约 3 cm 时, 将其切成单株转接到壮苗培养基 ($MS + 6-BA 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{AD } 3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 上, 培养 25 ~ 30 d, 小苗长高至 4 ~ 6 cm (图 3)。此时, 再将小苗转接到 $1/2 MS + \text{NAA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{香蕉汁 } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上进行生根培养, 15 d 后小苗基部开始长出根点, 继续培养 20 ~ 25 d 后长出完整的根系 (图 4), 生根率达 100%。通过壮苗培养过程得到的组培苗生长整齐、商品性能好、出苗率高 (95% 以上)。



图 3 壮苗培养

Fig. 3 The elongated shoots

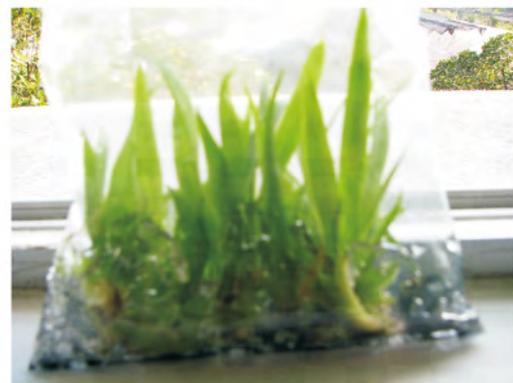


图 4 生根苗

Fig. 4 The rooting culture

2.4 炼苗与移栽结果 当袋内的生根苗高 6 ~ 8 cm 时, 将其移至室温, 于自然光下炼苗 5 ~ 7 d, 再打开瓶盖放置 2 ~ 3 d, 然后取出小苗, 洗去根部的培养基, 然后放入 1 000 倍的多菌灵液中浸泡 3 min, 并按 5 cm × 10 cm 的株行距移栽到苗床上 (图 5)。15 d 后新根长出, 30 d 后开始抽新叶, 移栽成活率达 95% 以上 (图 6)。



图5 试管苗的移栽

Fig.5 Transplanting of test-tube plantlets



图6 移栽成活的试管苗

Fig.6 The test tube seedlings successfully transplanted

3 讨论

孙伟生等^[4]对珍珠菠萝的组织培养和快速繁殖进行了研究,何业华等^[5]和蒋晶等^[6]分别用菠萝叶基愈伤组织诱导体细胞胚和用菠萝花药愈伤组织诱导等方法获得新植株,但目前有关苹果菠萝的组织培养鲜见报道。笔者以苹果菠萝顶芽或吸芽为材料进行增殖和扩繁,建立了苹果菠萝的快速繁殖体系,能够大规模繁殖其种苗,为开发和推广种植苹果菠萝打下了良好的基础。

本研究结果表明,外植体经过30 d培养可诱导其腋芽萌发,腋芽进行增殖培养约30 d可形成丛生芽,每30~35 d继代增殖1次,增殖率为3~5倍,壮苗和生根需50 d。这样,1个外植体在1年时间内可繁殖10次,至少可获得1.9万株优质的种苗。该体系的建立为苹果菠萝的工厂化育苗奠定了基础。

参考文献:

- [1]石伟琦,孙伟生,习金根,等.我国菠萝产业现状与发展对策[J].广东农业科学,2011(3):181-186.
- [2]刘海清,李光辉,黄媛媛,等.世界菠萝生产及贸易状况分析[J].世界农业,2012(6):47-52.
- [3]杨林洪,姜伟.加快发展湛江菠萝产业所存在的问题和对策[J].热带农业科学,2012,32(1):78-81.
- [4]孙伟生,竇美安,孙光明.珍珠菠萝组织培养与快速繁殖[J].亚热带植物科学,2009,38(2):70-71.
- [5]何业华,罗吉,吴会桃,等.菠萝叶基愈伤组织诱导体细胞胚[J].果树学报,2007,24(1):59-63.
- [6]蒋晶,竇美安,孙伟生.菠萝花药愈伤组织诱导及褐变影响因素[J].中国农学通报,2010,26(11):366-369.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Ananas comosus* ‘Apple’

ZAN Limei^{1,2}, ZHANG Jiayun^{1,2}, WU Weijun^{1,2}

(1. South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong 524091, China; 2. Hainan Center of Pineapple Engineering Technology in Improvement and Utilization of Germplasm Resources, Zhanjiang 524091, China)

Abstract: The apical buds and suckers of pineapple cultivar ‘Apple’ (*Ananas comosus* ‘Apple’) were inoculated onto MS medium containing 6-BA 3 mg · L⁻¹ and 30 g · L⁻¹ sucrose for inducing shoots. The shoots were bourgeoned after cultured for 30 d. They were then transferred onto MS medium supplemented with 6-BA 2 mg · L⁻¹, NAA 0.05 mg · L⁻¹ and 30 g · L⁻¹ sucrose for inducing cluster buds, and the cluster buds were produced after 30-40 d of culture. The proliferation ratio of the cluster buds was about 3-5 per month. The cluster buds were cultured on MS medium containing 6-BA 1 mg · L⁻¹, AD 3 mg · L⁻¹ and 30 g · L⁻¹ sucrose for about 25-30 d to produce strong shoots. These shoots were transferred onto 1/2 MS rooting medium containing NAA 0.50 mg · L⁻¹, 30 g · L⁻¹ banana juice and 30 g · L⁻¹ sucrose, and the roots were induced to strike after about 30 d of culture. The rooted plantlets had about 95% of survival rate when transferred onto the soil.

Key words: *Ananas comosus* ‘Apple’; tissue culture; rapid propagation