

# 金桔组织培养的初步研究

林 荣 王秀琴 王润珍

(广西植物研究所)

## A PRELIMINARY STUDY ON THE TISSUE CULTURE OF FORTUNELLA MARGARITA

Lin Rong, Wang Xiu-qin and Wang Run-zhan

(Guangxi Institute of Botany)

金桔(*Fortunella margarita*(Lour.)Swingle)原产于我国,为柑桔类的优良品种之一。果实含有丰富的维生素、酸甜适中,可供生食,又可作蜜饯,畅销国内外,深受群众欢迎。

在植物组织培养的研究中,柑桔类的组织培养技术亦有很大的发展。柑桔的胚和胚乳培养分化植株<sup>1-3</sup>,茎尖、嫩茎、叶切块培养的器官分化已有研究<sup>4-7</sup>。但金桔的组织培养尚未见报导,我们进行金桔组织培养研究,为金桔良种的快速繁殖提供新的途径。

### 材 料 和 方 法

材料采用广西阳朔县产的金桔,种子经表面消毒培养无菌苗。当苗长至4—5枚叶片时,采取胚轴和嫩茎,切成长约0.5厘米长的小段;子叶和叶片切成约5×5毫米<sup>2</sup>的小块,每处理一般接种20块。

采用MS<sup>8</sup>和N<sub>6</sub><sup>9</sup>作为基本培养基,根据试验要求分别附加不同浓度的6-苄氨基嘌呤(BA)、萘乙酸(NAA)、吲哚丁酸(IBA)和水解乳蛋白(LH)。蔗糖浓度为2—5%,琼脂为0.7—1.0%。pH为5.8。以1公斤/厘米<sup>2</sup>高压蒸汽灭菌20分钟,接种后培养于20—35℃,每天用日光灯照光9—10小时,约2,000勒克司。

### 结 果 和 讨 论

#### 一、不同基本培养基对形成芽的影响

采用MS和N<sub>6</sub>两个不同的基本培养基,附加相同激素的试验结果(见表1),两者均可诱导胚轴和茎段形成芽,但以N<sub>6</sub>为基本培养基,其诱导芽频率较高,上胚轴为41.94%,茎段为90.70%;而MS为基本培养基,上胚轴为21.43%,茎段为72.09%,因此,N<sub>6</sub>作为金桔的基本培养基较为适宜。

表1 不同基本培养基对形成芽的影响

基本培养基	外植体	外植体 数量(块)	形 成 芽	
			块	%
N <sub>6</sub>	上胚轴	31	13	41.94
	茎 段	43	39	90.70
MS	上胚轴	42	9	21.43
	茎 段	43	31	72.09

#### 二、不同激素组合对形成芽的影响

在N<sub>6</sub>基本培养基中附加不同浓度的BA和IBA组合对培养的上胚轴和嫩茎形成芽的影响(见表2)。在试验浓度的范围内,带节茎段均能诱导形成芽;而节间和上胚轴,在IBA 0.5毫克/升存在的情况下,随着BA浓度从0.5毫克/升增至2.0毫克/升,形成芽的频率也随着增加。在N<sub>6</sub>基本培养基,不加任何激素的情况下,亦能诱导上胚轴和嫩茎形成芽,但频

\* 本项工作还有韦春榕、唐海平两同志参加。

表2 不同激素组合对形成芽的影响

激素组合和浓度(毫克/升)		上 胚 轴			节 间			芽生长情况
BA	IBA	外植体 数量(块)	形 成 芽		外植体 数量(块)	形 成 芽		
			块	%		块	%	
0	0	20	8	40.00	20	3	15.00	单生1
0.5	0.1	20	12	60.00	15	4	26.67	丛生
1.0	0.1	20	12	60.00	15	4	26.67	丛生
2.0	0.1	20	12	60.00	20	10	50.00	丛生
0.5	0.5	20	8	40.00	16	3	18.75	丛生
1.0	0.5	27	18	66.67	25	16	64.00	丛生
2.0	0.5	20	14	70.00	20	14	70.00	丛生

率较低，同时形成单芽，这说明金桔的上胚轴和嫩茎，含有内源激素较多，可使其形成芽，但附加激素对芽的形成有促进作用。以N<sub>0</sub>基本培养基，附加IBA0.5毫克/升和BA1.0—2.0毫克/升配合使用，效果较好。

### 三、有机附加物的作用

在附加有BA1.0毫克/升和IBA0.5毫克/升的N<sub>0</sub>培养基中，再加入不同浓度LH，以不附加LH作对照，其试验结果(见表3)表明，添加适量的水解乳蛋白明显促进上胚轴形成芽，以附加400毫克/升，效果最为明显。随着LH浓度的增加，形成芽的频率反而下降，这可能由于浓度高，致使产生有毒物质所致。

表3 不同浓度的LH对上胚轴形成芽的影响

水解乳蛋白 (毫克/升)	外植体 数量(块)	形 成 芽	
		块	%
0	20	9	45
400	20	16	80
700	20	13	65
1000	20	8	40

### 四、不同外植体对形成芽的影响

采用金桔的下胚轴、子叶、上胚轴、叶片、嫩茎(带节茎段和节间)及根尖等不同外植体。在附加有IBA0.5毫克/升和BA2.0毫克/升的N<sub>0</sub>培养基上，其试验结果(见表4)表明，不同的外植体对芽的形成有明显的差异。嫩茎和胚轴，形成芽的频率较高，同时形成丛生绿芽；子叶仅个别形成芽，而根尖和叶组织均无形成芽。因此，植物组织培养诱导形成芽，不仅与外源激素有关，而且因植物材料而异。金桔的嫩茎作为无性系快速繁殖是较好的培养材料。

表4 不同外植体对形成芽的影响

外植体	外植 数量(块)	形 成 芽		芽生长 情况
		块	%	
下胚轴	20	11	55	丛生
子叶	20	1	5	单生1
上胚轴	20	14	70	丛生
叶片	20	0	0	—
带节茎段	20	20	100	丛生
节间	20	14	70	丛生
根尖	20	0	0	—

金桔的嫩茎在适宜的培养基，培养后约一周可见茎组织开始膨大，颜色逐渐转为淡绿色，培养约二周开始形成愈伤组织，培养约一个月，在愈伤组织开始形成许多小绿芽，随后长出茎叶，将茎叶转入生根培养基，获得完整再生植株(图1—3)。并将丛生小芽分开转到新鲜的培养基继续培养，可促进芽的增殖，培养约两个月，可长出粗壮的绿芽、茎叶和密集的小芽，又可将密集的小芽分开切成小块进行继代培养，能繁殖大量绿苗。

### 五、根的诱导和幼苗移栽

金桔组织培养诱导形成芽，长出茎叶在原培养基上，一般不能形成根，必需将已形成茎叶的无根苗，切下转入含有生长素的生根培养基，一般转管后一个月左右开始形成根，获得完整植株。经试验结果表明，以 $\frac{1}{2}$ MS基本培养基，附加0.2毫克/升，效果较好，不仅生根

率高，且根系粗壮，从茎基部长出根，有利于移栽成活；在不含有生长素的N<sub>6</sub>培养基，亦能诱导生根，但生根率较低；而含有较高浓度NAA的培养基，则形成大量愈伤组织，然后长出根系，移栽洗根时容易脱落，影响移栽成活。

金桔的试管苗，移栽前揭开试管塞，让幼苗在自然光下或培养室

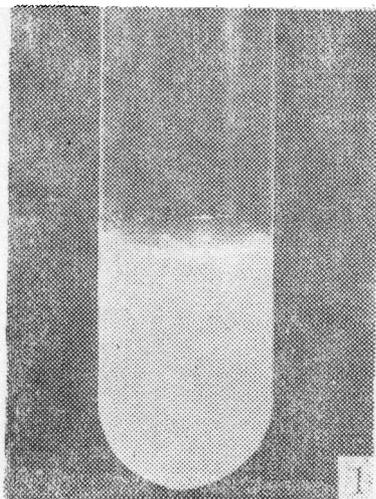


图1 茎段增大和形成愈伤组织

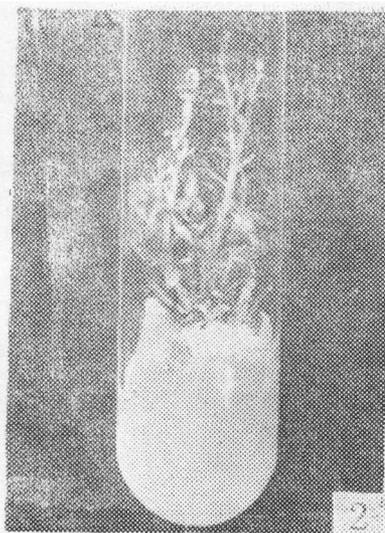


图2 形成绿芽和长出茎叶

光照下锻炼两天，取出幼苗，立即栽植于营养钵或盆中，基土用三分之二草皮泥和三分之一砂混合，栽植后盖上玻璃罩2—3周，待幼苗长出新叶后揭盖，让幼苗在自然条件下生长，幼苗移栽获得成活（图4），一般成活率在60%左右。

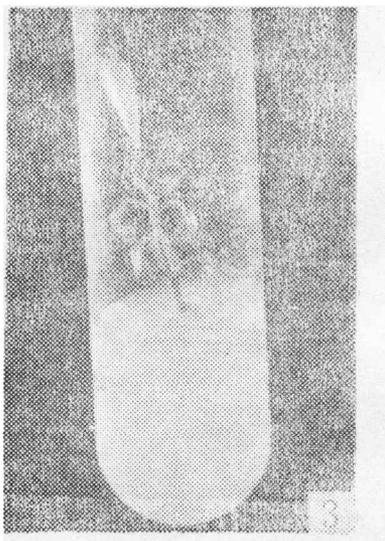


图3 再生完整小植株

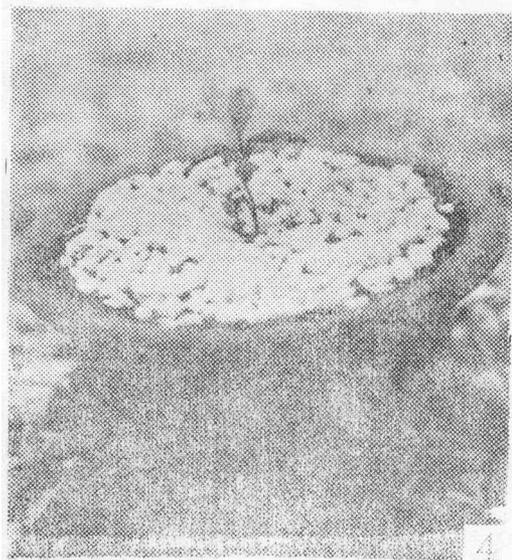


图4 移栽成活的小植株

### 参 考 文 献

- 〔1〕 王大元等，1975。柑桔胚的人工培养。植物学报，17（2）：190—192。
- 〔2〕 王大元等，1978。用组织培养法繁殖柑桔。遗传学报，5（2）：133—137。
- 〔3〕 王大元等，1978。从胚乳培养再生三倍体柑桔植株。中国科学，（4）：452—455。
- 〔4〕 广东省兴宁县合水柑桔场等，1975。采用离体培养方法培育柑桔无病毒木。遗传与育种，（4）：26—28。
- 〔5〕 李耿光等，1978。柑桔茎尖培养的初步研究。植物生理学报，4（2）：189—196。
- 〔6〕 Chaturvedi, H.C.& G.C.Mitra, 1974. Clonal propagation of Citrus from somatic Callus Cultures. Hortsci., 9: 118—120。
- 〔7〕 Chaturvedi, H.C.& G.C.Mitra, 1975. A shift in morphogenetic pattern in Citrus Callus tissue during prolonged Culture. Ann.Bot., 39: 683—687。
- 〔8〕 Murashige, T.& F.Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue Culture. Physiol.-Plant., 15: 473—497。
- 〔9〕 朱至清等，1975。通过氮源比较建立一种较好的水稻花药培养基。中国科学，（5）：484—486。