

三江大蕉快速繁殖体系建立及优化

程志号,孙佩光,孙长君,王必尊,吴琼

(中国热带农业科学院海口实验站,海南 海口 570107)

摘要:三江大蕉(*Musa* spp. AAB Group cv. Plantain)是优异的海南地方品种,属于典型的酸蕉类型。文中以三江大蕉的吸芽为外植体,首次建立并优化了其快速繁殖体系。启动吸芽增殖的培养基为 MS + 4 mg/L 6-BA,启动率高达 100%;吸芽增殖培养基为 MS + 3 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L NAA,每代增殖效率为 5.76;生根培养基为 1/2 MS + 0.05 mg/L NAA,生根迅速,生根率高达 98%。通过建立并优化三江大蕉的快速繁殖体系,为三江大蕉的品种推广示范以及进一步的品种改良奠定了基础。

关键词:三江大蕉;快繁体系;生根优化

中图分类号:S668.104

文献标识码:B

香蕉(*Musa* spp.)是芭蕉科芭蕉属多年生单子叶大型常绿草本果树,起源中心位于东南亚^[1],是重要的水果和粮食作物。据 FDA 统计,我国香蕉种植面积约 40 万 hm^2 ,居世界第 5 位,总产量 1 200 多万 t,世界排名第 3。中国消费总量占世界第 2,人均 9.65 kg,远远低于实际人均消费量 15.83 kg,国内消费量超过 40% 依赖进口。我国国内香蕉产业总产值在 5 000 亿元以上,相关产业从业人员众多,是我国热区重要的经济支柱。

我国是香蕉重要的起源中心之一,有悠久的香蕉种植传统,不少区域还保留了不少在抗性、风味、品质等方面有特色的地方品种^[2]。三江大蕉(*Musa* spp. AAB Group cv. Plantain)是中国农业科学院在海南地方品种中发现和筛选的一个优良香蕉品种,染色体数目为 33,通过西蒙德分类法和核型分析,确定属于 AAB 型香蕉,具有产量高、品质好,且对叶斑病等病害有一定的抗性等特点。三江大蕉可溶糖含量 23.61%,还原糖含量(以葡萄糖计) 22.88%,总酸含量 4.69 g/kg,维 C 含量 0.39 mg/100g,果质软糯,甜度较高,酸甜适中,属于典型的酸蕉,市场前景非常好^[3-4]。香蕉组培苗技术是一项推动现代香蕉产业迅速发展的重要技术,通过香蕉组培苗替代传统的吸芽繁殖方法,在生产上好处非常多。首先,工厂化生产的组培苗能满足优良品种的迅速大面积推广的需要,有利于品种的更新换代;其次,组培苗经过严格选择并脱毒,可以遏制蕉园发病率逐年增加的问题;再次,组培苗生产过

程也是一个引种选种、良种繁育示范过程,更是一个种性提纯复壮过程;最后,组培苗统一种植,便于管理,发育整齐,生育期统一且方便预测,有利于产期调节和反季节上市^[5]。目前,三江大蕉组织培养快速繁殖相关的技术十分欠缺。本试验以三江大蕉的吸芽为外植体,通过建立并优化三江大蕉的快速繁殖体系,为三江大蕉的品种推广示范以及进一步的品种改良奠定基础,进一步了解该种质资源的情况,为以后的香蕉育种工作提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

选取 2016 年种植的优选三江大蕉(*Musa* spp. AAB Group cv. Plantain)单株吸芽为外植体,采样地点为海南省澄迈县福山镇红光农场三江大蕉蕉园。于连续天晴数天后,在蕉园中选取无明显传统病害、长势健壮、正常挂果的母株,挖取刚露出地面,高度在 20 cm 以下且无叶片展开的完整吸芽为外植体,带回实验室备用。

1.2 方法

外植体表面灭菌及切割方法:清洗台清洗吸芽表面泥土,切除假茎部分和部分球茎外围,保留球茎直径约为 5~6 cm,长 7~8 cm 后,进行超净台外植体表面灭菌^[6]。灭菌方法参考香蕉组培的相关方法,为 70% 乙醇 15~30 min,转入 10% 次氯酸钠溶液中 20~30 min,无菌水冲洗 3~5 次,每次 1~2 min^[7]。在超净台中用吸水纸吸干多余

。 收稿日期:2018-11-26

基金项目:海南省重点研发计划项目(ZDYF2017055);中国热带农业科学院院级创新团队项目(17CXTD-02)

作者简介:程志号(1982-),男,博士,助理研究员,研究方向为香蕉遗传育种及种质资源创新。

通讯作者:吴琼(1974-),辽宁铁岭人,博士,研究员,主要研究方向为热带果树遗传改良。

E-mail:wuqiong2046@126.com

水分后,进行两次纵切,将球茎等分为 4 份,每份接种 1 瓶,7 d 后统计污染率以及褐化情况。

初代培养基:MS 培养基是植物生长的基本培养基。以下所有组合的培养基均使用 MS 作为基本成分。三江大蕉初代吸芽增殖培养基选择 A-C 3 种培养基(如表 1 所示),每种培养基每瓶接种 1/4 个灭菌球茎,接种 28 d 后,每个组合统计不少于 20 瓶的启动增殖效率以及吸芽生长发育情况。

增殖培养基:以三江大蕉初代吸芽为外植体,选取 A~I 9 种培养基为增殖培养基,每 28 d 为一代,连续继代 3 次,统计吸芽增殖率及增殖系数,观察吸芽生长发育情况。

生根培养基:生根培养基选用 R1:1/2 MS;R2: 1/2 MS + NAA 0.05 mg/L;R3: 1/2 MS + NAA 0.1 mg/L 这 3 种培养基,以再生吸芽为材料,生根 28 d 后,统计生根效率,平均生根条数,平均生根长度,褐化程度等指标,每个配方统计不少于 50 株,筛选并优化三江大蕉的生根培养条件。该种质资源的情况,为以后的香蕉育种工作提供理论基础。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对香蕉球茎启动增殖的影响

经试验发现:灭菌方法为 70% 乙醇 15~30 min,再转入 10% 次氯酸钠溶液中 20~30 min,无菌水冲洗 3~5 次,每次 1~2 min 时,污染率均能控制在 10% 以下,且褐化程度比较轻,能为吸芽的启动增殖奠定良好基础。28 d

后,通过对接种于 3 种初代芽启动增殖培养基上的三江大蕉切割球茎的观察发现:A~C 的启动增殖率分别为 70%、90%、100%;组合 A 和组合 B 存在不同程度的褐化,且吸芽的叶、芽存在发育不完全或生长缓慢等问题;组合 C 的褐化程度最轻,且芽、叶分化完全,叶脉清晰,叶片翠绿,生长旺盛,最适合三江大蕉初代吸芽启动增殖。

2.2 不同培养基对三江大蕉增殖效率的影响

试验结果表明,细胞分裂素较高的组合容易出现吸芽纤瘦,叶间包裹松散的问题,细胞分裂素较低的组合虽然吸芽状态较好,但繁殖系数不高,影响最终的组培苗的产率;适当添加生长素,使激素比例适中,有利于吸芽的增殖,同时也有利于叶片的生长和发育;同时,在增殖较快的组合中,较容易出现褐化的问题,可能与细胞活力高,相应的代谢产物积累高有关;通过对比发现,组合 E 增殖率和增殖系数最高,且吸芽生长迅速,发育良好比较适合于三江大蕉吸芽的增殖培养。

表 1 不同培养基组合及其激素浓度组成

Table 1 Hormone concentration composition of different medium combinations

NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)		
	2	3	4
0	A	B	C
0.05	D	E	F
0.1	G	H	I

表 2 不同培养基对三江大蕉球茎启动增殖的影响

Table 2 Effect of different Culture medium on Sanjiang dajiao sucker initiate proliferation

启动增殖 培养基组合	启动 增殖率	褐化 程度	增殖芽分化及 生长情况
A	70%	重	芽、叶分化不完全,芽小或不完全可见,叶片白色或淡黄色,生长缓慢
B	90%	中等	芽、叶分化完全,芽小,叶片淡绿色,叶脉不清晰,生长缓慢
C	100%	轻	芽、叶分化完全,芽粗壮,叶片翠绿,叶脉清晰,生长旺盛

表 3 不同培养基对三江大蕉吸芽增殖的影响

Table 3 Effect of different Culture medium on Sanjiang dajiao sucker micro-proliferation

增殖培养基	增殖率 (%)	增殖系数	褐化程度	增殖芽分化、生长情况
A	76	3.33	轻	增殖慢、吸芽饱满、叶片嫩绿色、叶片间包裹紧密
B	80	4.21	轻	增殖慢、吸芽饱满、叶片翠绿色、叶片间包裹紧密
C	86	4.82	中等	增殖快、吸芽纤瘦、叶片淡黄色、叶片间包裹松散
D	94	5.13	轻	增殖较快、吸芽饱满、叶片翠绿色、叶片间包裹紧密
E	98	5.76	轻	增殖最快、吸芽饱满、叶片翠绿色、叶片间包裹紧密
F	96	5.61	中等	增殖较快、吸芽纤瘦、叶片淡黄色、叶片间包裹松散
G	82	4.76	中等	增殖快、吸芽饱满、叶片翠绿色、叶片间包裹紧密
H	90	5.45	重	增殖较快、吸芽饱满、叶片淡黄色、叶片间包裹紧密
I	88	5.41	重	增殖较快、吸芽纤瘦、叶片淡黄色、叶片间包裹松散

2.3 不同培养基对三江大蕉生根效率的影响

试验结果表明,R2、R3 在生根率,生根条数以及生根长度等指标上明显超过 R1,且 3 种生根培养基 28 d 后均未发现明显的根褐化现象;R2 和 R3 相比,生根率、平均生根条数、平均生根长度、根褐化程度等方面均优于 R3,但

差异不显著,且 R2 中毛状根的数量要优于 R3;42 d 后,R3 中有明显的根褐化发生。生产上,组培苗由于天气以及市场变化等原因,生根组培苗货架期通常要长于 28 d,才能下地炼苗。同时,从生产节约成本的角度考虑,选用 R2 为三江大蕉的生根培养基比较适宜。

表 4 不同培养基对三江大蕉吸芽生根的影响

Table 4 Effect of different culture medium on Sanjiang dajiao sucker rooting

培养基	生根率	生根条数 (条/株)	生根长度 (cm/条)	根生长发育情况	42 d 褐化程度
R1	86%	6	5.1	根粗壮,分支少,根毛少	轻
R2	98%	7.3	6.33	根细长,分支多,根毛多	轻
R3	96%	7.78	6.09	根细长,分支多,根毛多	中度褐化

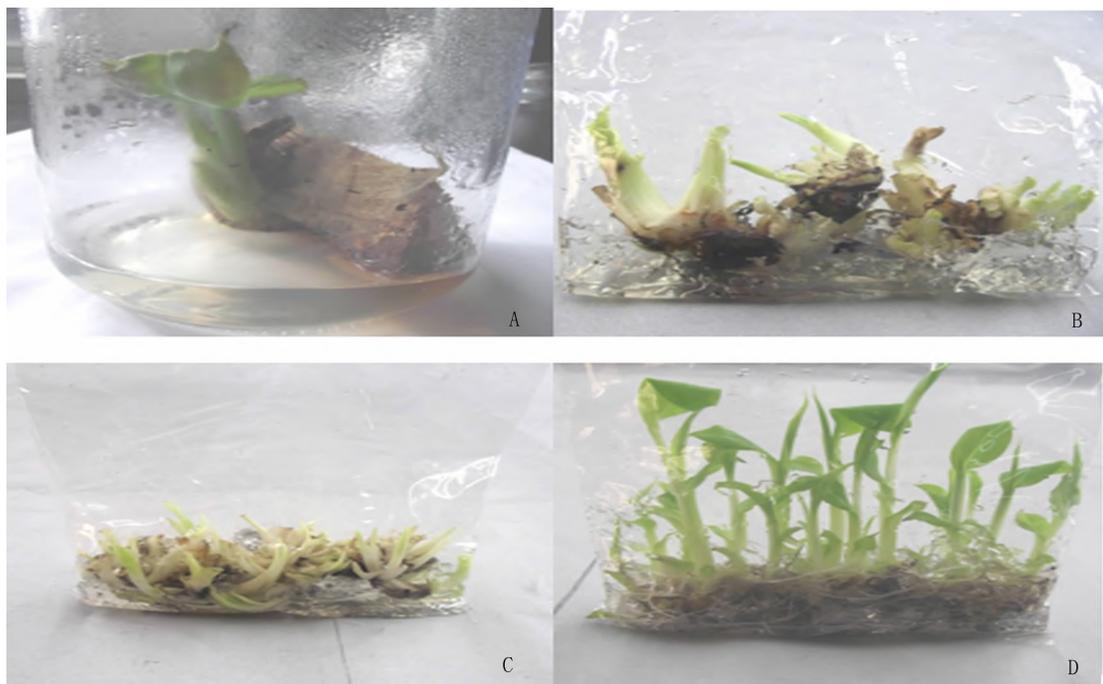


图 1 三江大蕉快速繁殖过程

Figure 1 Rapid micro-propagation process of Sanjiang plantain

注:图 A:三江大蕉初代吸芽启动增殖;图 B:三江大蕉初代吸芽增殖;图 C:三江大蕉继代吸芽增殖;图 D:三江大蕉吸芽生根

Note: A: Sanjiang plantain sucker initiate proliferation, B: Sanjiang plantain sucker micro-proliferation, C: Sanjiang plantain sucker micro-proliferation, D: Sanjiang plantain sucker rooting

3 讨论

西蒙德认为香蕉的起源中心在东南亚,而我国也是重要的起源中心,有丰富的香蕉野生种和栽培种^[8]。近些年来,香蕉组培苗生产技术伴随着我国香蕉产业的不断发展,是香蕉品种多样化和标准化的重要保证。20 世纪 60 年代,国外开展香蕉组培苗生产技术的研究,国内相关研究略晚于国外,台湾和广东分别于 20 世纪 70 年代和 80 年代开展相关研究,1985 年,中国科学院华南热带植物研究所成功将香蕉组培苗生产技术转化,推动东南 6

省工厂化生产,产生了巨大的经济效益和社会效益。本单位前期研究发现,海南地方品种“三江大蕉”具有产量较高、品质好,而且对叶斑病等病害有一定的抗性,果实甜度高、酸度高、酸甜比适宜,口感较好,市场前景广阔。通过开展田间筛选、鉴定和驯化等工作,为进一步品种审定奠定了坚实的基础。同时,本文通过对三江大蕉快速繁殖技术进行建立和优化,发现:三江大蕉吸芽启动增殖的培养基为 C: MS + 6-BA 4 mg/L,启动增殖快,叶、芽分化完全,生长发育迅速;吸芽增殖培养基为 E: MS + 6-BA

3 mg/L + NAA 0.05 mg/L, 吸芽增殖率高, 吸芽分化健壮, 生长迅速; 生根培养基为 R2: 1/2 MS + NAA 0.05 mg/L, 生根效率高, 根生长发育状态好, 能满足生产上的需要。

目前, 我国香蕉主要栽培种以 AAA 类型的巴西蕉系列或威廉斯系列为主, 其次是 AA 类的皇帝蕉、小米蕉等二倍体香蕉, 这两年 ABB 类粉蕉种植面积有所上升, 因此, 生产上的香蕉组培苗也主要以这 3 个种类为主(香蕉产业体系内部交流)。通过横向对比, 发现生产上 AAA 类使用的吸芽启动和增殖培养基均为 MS + 6-BA 3 mg/L, 生根培养基 1/2 MS 或 1/2 MS + NAA 0.05 ~ 0.1 mg/L; AA 类使用的吸芽启动和增殖培养基为 MS + 6-BA 2 ~ 4 mg/L, 并添加一定浓度的 AP, 生根培养基 1/2 MS 或 1/2 MS + NAA 0.05 ~ 0.1 mg/L; ABB 粉蕉类使用的吸芽启动和增殖培养基均为 MS + 6-BA 2 ~ 3 mg/L + NAA 0.05 ~ 0.1 mg/L, 生根培养基 1/2 MS + NAA 0.1 ~ 0.2 mg/L。生根褐化主要添加 Vc 和活性炭^[9], 调节生根快慢通常添加多效唑和氯化胆碱^[10]。三江大蕉通过前期表型鉴定和核型分析发现为 AAB 类型, 该类型在分类地位上比较特别, 通过生物信息学和分子生物学的研究表明, 该类亲缘关系与 BB 类更近且比 ABB 与 BB 类的亲缘关系近。目前该类型的香蕉组培苗生产体系还报道不多。根据上述试验结果发现, 三江大蕉在快繁体系上的确有其自身的

特点。本文通过建立并优化快速繁殖体系, 一方面为海南优良地方品种三江大蕉的示范推广以及进一步的研究奠定基础, 另一方面也为未来 ABB 类香蕉组培苗的生产提供参考。

参考文献:

- [1] R. H. Stover, N. W. Simmonds, Banans (Third edition). Vol. 1. 1987, Singapore: Longman Singapore Publisher(Pte) Limited. 37.
- [2] 李锡文. 云南芭蕉科植物[J]. 植物分类学报, 1978, 16(3): 54 ~ 64.
- [3] 孙长君, 程志号, 孙佩光, 等. “三江大蕉”植物学性状观察及分类学地位[J]. 中国热带农业, 2018(2): 35 ~ 39.
- [4] N. W. Simmonds, S. E. The taxonomy and origins of the cultivate bananas[J]. Linnean society of botany, 1955(55): 302 ~ 313.
- [5] 解辉. 香蕉开放式组织培养研究[D]. 海口: 海南大学硕士学位论文, 2011.
- [6] 李华平, 胡晋生, 王敏, 等. 香蕉茎尖遗传转化法研究[J]. 热带作物学报, 2000, 21(4): 33 ~ 39.
- [7] 张建斌, 贾彩红, 刘菊华, 等. 香蕉未成熟雄花组织培养与快速繁殖研究[J]. 热带作物学报, 2012, 33(7): 1125 ~ 1129.
- [8] 吴德邻. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1981.
- [9] 陈友, 冯慧敏. 海南野生蕉吸芽组培防褐化研究[J]. 热带农业工程, 2012, 36(6): 12 ~ 16.
- [10] 韦家川, 张慧英, 郑比兰. 多效唑和氯化胆碱对香蕉试管苗生长的影响[J]. 广西农业科学, 1999, 18(1): 39 ~ 41.

Establishment and Optimization of Rapid Micro-propagation System for Sanjiang Dajiao

CHENG Zhi-hao, SUN Pei-guang, SUN Chang-jun, WANG Bi-zun, WU Qiong

(Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 570102)

Abstract: Sanjiang dajiao (*Musa* spp. AAB Group cv. Plantain) is an excellent Hainan banana cultivar, which belongs to the typical sour banana type. In this paper, the rapid micro-propagation system of Sanjiang dajiao was established and optimized for the first time. MS medium with 4 mg/L 6-BA was used as suckers initiate proliferation medium, and the initiation rate was as high as 100%. MS medium with 3 mg/L 6-BA and 0.05 mg/L NAA were used for suckers micro-propagation, and with 5.76 multiplication efficiency per generation. The rooting medium was 1/2 MS medium with 0.05 mg/L NAA, and the rooting rate was as high as 98%. This paper establishes and optimizes the rapid propagation system of Sanjiang dajiao, which lays a foundation for the extension and demonstration and the further improvement of Sanjiang dajiao.

Key words: Sanjiang dajiao; Tissue and organ culture; Micro-propagation system