费约果不同花器官愈伤组织培养初报

王 丹，周丽娟，黄海涛，张小雪，袁 涛

（西南科技大学 生命科学与工程学院，四川 绵阳 621000）

摘 要：探讨费约果（*Feijoa sallowiana* Berg.）的有效快繁，用费约果的不同花器官为外植体，利用正交试验设计分析比较了2,4-D、NAA、KT 3种激素浓度及其组合对费约果4种外植体的愈伤组织诱导的影响。结果表明：4种外植体均能形成愈伤组织，但愈伤组织发生率的表现存在差异。子房、花瓣、花萼、雄蕊愈伤组织诱导最优培养基分别：MS+2,4-D 1.0 mg/L+KT 0.5 mg/L；MS+2,4-D 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg+KT 1.0 mg/L；MS+2,4-D 1.0 mg/L+KT 1.0 mg/L；MS+2,4-D 2.0 mg/L+ NAA 0.1 mg/L。

关键词：费约果；花器官；愈伤组织诱导

中图分类号：S 668.903.6 **文献标识码**：A **文章编号**：1001－0009(2008)12－0169－04

费约果（*Feijoa sellowiana* Berg.），又名肥吉果、菲油果、南美稔、凤梨番石榴等，桃金娘科，费约果属，原产于南美洲的乌拉圭、巴拉圭、巴西和阿根廷的山野[1]，它是一种常绿亚热带灌木或小乔木，叶面光滑有光泽，叶脉清晰，叶背银白色有毛绒。花为两性花，单生或丛生，有4片肉质、卵圆形凹进的花瓣，花瓣外围为白色，内部略带紫红色，可食用。有丛状、直立紫色的雄蕊，花丝顶端为圆形金黄色花药。果实为长椭圆形、卵圆形或梨形，花萼一直附着于果实顶端。果皮薄且有白色绒毛覆盖直到果实成熟时才变为暗绿色或黄绿色，有时有红色或橙色光泽[2]。在幼果期果实散发出持久而强烈的香味，成熟时更加显著。果肉厚实，白色、多汁、半透明，种子包埋其中，味甜或略带酸味，其香味为凤梨和番石榴的混合或凤梨和草莓的混合。费约果叶片可治痢疾和霍乱[1]；其枝叶经修剪后，会释放令人愉快的芳香气体，有益于人体健康[3]。

在我国浙江、南京等地有少量费约果引种，但尚未形成商品化栽培格局。费约果一般采用播种繁殖，也可采用扦插、压条及嫁接法，但使用后3种方法繁殖困难、增殖速度慢。利用组织培养技术繁殖苗木，能够克服繁殖材料短缺的不足，在短时间内繁育出大量苗木供生产上推广，然而费约果的花器官组织培养技术在国内尚未见报道。该试验通过诱导不同花器官愈伤组织的初步研究，旨在为费约果快速繁殖提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 材料

材料采集于从新西兰林肯大学引种的2 a生费约果嫁接苗含苞待放花蕾，全部试验在四川省西南科技大学生命科学与工程学院实验室完成。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒方法及培养条件 在晴天从田间选取含苞待放花蕾，用湿沙布保湿带回实验室。用洗衣粉将其洗刷干净后，用自来水冲洗30 min，然后将材料转移到超净工作台内，用75%酒精浸泡30 s，无菌水洗两次，用0.1%升汞加1～2滴吐温-80，不断摇动，表面消毒6 min后用无菌水洗3次，再消毒4 min后用无菌水洗6次，最后用无菌滤纸吸干材料表面水分。将已消毒并干燥的花蕾在无菌操作台上进行操作，将子房、花药、花瓣和雄蕊分别进行接种。培养基均含30 g/L蔗糖、8.5 g/L琼脂，除花丝外均添加2 g/L活性炭，pH为5.8，培养温度为25℃，光照度为1 500～2 000 lx，光照时间为12 h/d。

表1 诱导愈伤组织正交设计方案 $L_9(3^3)$

处理	2,4-D/mg·L^{-1}	NAA/mg·L^{-1}	KT/mg·L^{-1}	空列
1	1(0.5)	1(0.0)	1(0.0)	1
2	1(0.5)	2(0.1)	2(0.5)	2
3	1(0.5)	3(0.5)	3(1.0)	3
4	2(1.0)	1(0.0)	2(0.5)	3
5	2(1.0)	2(0.1)	3(1.0)	1
6	2(1.0)	3(0.5)	1(0.0)	2
7	3(2.0)	1(0.0)	3(1.0)	2
8	3(2.0)	2(0.1)	1(0.0)	3
9	3(2.0)	3(0.5)	2(0.5)	1

1.2.2 外植体和培养基的选择 以2,4-D、NAA、KT作为参选因素，每因素采取3个水平，选用正交设计表$L_9(3^3)$进行组织培养设计方案（见表1），除子房每个处理接种15枚外植体外，其它每个处理接种20枚外植体，重

第一作者简介：王丹（1962-），女，硕士，教授，研究方向为园艺植物遗传育种。E-mail：wangdan@swust.eud.cn。

基金项目：四川省科技厅国际科技合作资助项目（2007H12-004）。

收稿日期：2008－08－03

复3次。接种50 d后统计接种到不同激素组合的培养基上的花萼、花瓣、子房、雄蕊的染菌率、褐化率和愈伤组织诱导率。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对子房愈伤组织诱导的影响

由表2可知,参试培养基中子房愈伤组织诱导率最高为100%,最低为53.33%,且每个处理的染菌率和褐化率均为0%。不同激素组合均可诱导子房外植体产生愈伤组织,但诱导率有差异,其中2、4、5、7号处理的愈伤组织诱导率均达到了100%;6号处理的诱导率最低为53.33%;在1、6、8号处理的3个组合中,培养基均没有加入KT,其愈伤组织诱导率均比加入KT的组合偏低,说明KT在子房外植体愈伤组织诱导中起着重要的作用。其中2、4、5、7号处理的愈伤组织诱导率均为100%,但4号处理的子房愈伤组织出现最早且长势最好,故最优培养基为MS+2,4-D 1.0 mg/L+KT 0.5 mg/L。

表2 不同激素组合对子房愈伤组织诱导的影响

处理	外植体个数	2,4-D /mg·L⁻¹	NAA /mg·L⁻¹	KT /mg·L⁻¹	染菌率/%	褐化率/%	愈伤率/%
1	45	1(0.5)	1(0.0)	1(0.0)	0	0	73.33
2	45	1(0.5)	2(0.1)	2(0.5)	0	0	100.00
3	45	1(0.5)	3(0.5)	3(1.0)	0	0	73.33
4	45	2(1.0)	1(0.0)	2(0.5)	0	0	100.00
5	45	2(1.0)	2(0.1)	3(1.0)	0	0	100.00
6	45	2(1.0)	3(0.5)	1(0.0)	0	0	53.33
7	45	3(2.0)	1(0.0)	3(1.0)	0	0	100.00
8	45	3(2.0)	2(0.1)	1(0.0)	0	0	66.67
9	45	3(2.0)	3(0.5)	2(0.5)	0	0	86.67

由表3可知,在子房愈伤组织诱导过程中,因素NAA、KT影响较大,达到显著水平,因素2,4-D的影响较小,未达到显著水平。因素主效应是指各因素水平之间的差异,由因素主效应多重比较结果可知:因素2,4-D不同水平间愈伤组织诱导率差异不显著。在因素NAA中,只有1水平的愈伤组织诱导率显著高于3水平;其余水平间的愈伤组织诱导率差异不显著。在因素KT中,2水平,3水平愈伤组织诱导率均显著于1水平。由此可见,各因素的影响显著性依次为KT>NAA>2,4-D。

表3 子房愈伤组织诱导的方差分析及多重比较

因素	F	水平	愈伤诱导率	0.05水平	0.01水平
2,4—D	0.14	3	84.45	a	A
		2	84.44	a	A
		1	82.22	a	A
NAA	10.43*	1	91.11	a	A
		2	88.89	ab	A
		3	71.11	b	A
KT	24.58*	2	95.56	a	A
		3	91.11	a	A
		1	64.44	b	A

注:小写字母代表0.05差异显著性水平,大写字母代表0.01差异显著性水平,具有相同字母表示差异不显著,具有不同字母表示差异显著。* 代表差异显著性水平,** 代表差异极显著性水平。下同。

2.2 不同激素组合对花瓣愈伤组织诱导的影响

由表4可知,参试培养基中花瓣愈伤组织诱导率最高为88.33%,最低为31.67%。费约果花瓣形成的愈伤组织受培养基中激素的种类和浓度的影响。8号和9号处理接种的外植体出现了染菌的情况,在接种的外植体周围长有淡黄色的菌类。其中9号处理的染菌率高于8号处理,染菌率为31.67%。根据愈伤组织诱导率可得到花瓣愈伤组织诱导最优培养基为配方5:MS+2,4-D 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 1.0 mg/L。

表4 不同激素组合对花瓣愈伤组织诱导的影响

处理	外植体个数	2,4-D /mg·L⁻¹	NAA /mg·L⁻¹	KT /mg·L⁻¹	染菌率/%	褐化率/%	愈伤率/%
1	60	1(0.5)	1(0.0)	1(0.0)	0	0	63.33
2	60	1(0.5)	2(0.1)	2(0.5)	0	0	60.10
3	60	1(0.5)	3(0.5)	3(1.0)	0	0	66.67
4	60	2(1.0)	1(0.0)	2(0.5)	0	0	71.67
5	60	2(1.0)	2(0.1)	3(1.0)	0	0	88.33
6	60	2(1.0)	3(0.5)	1(0.0)	0	0	50.00
7	60	3(2.0)	1(0.0)	3(1.0)	0	0	43.33
8	60	3(2.0)	2(0.1)	1(0.0)	11.6	0	38.33
9	60	3(2.0)	3(0.5)	2(0.5)	31.6	0	31.67

由表5可知,在花瓣愈伤组织诱导过程中,因素2,4-D影响最大,达到显著水平,因素NAA、KT均未达到显著水平。在因素2,4-D中,只有2水平的愈伤组织诱导率显著高于3水平;其余水平间的愈伤组织诱导率差异不显著。因素NAA不同水平间愈伤组织诱导率差异不显著。因素KT中,2水平,3水平愈伤组织诱导率均显著于1水平。由此可见,各因素的影响显著性依次为2,4-D>KT>NAA。

表5 花瓣愈伤组织诱导的方差分析及多重比较

因素	F	水平	愈伤诱导率	0.05水平	0.01水平
2,4—D	10.57*	2	70.00	a	A
		1	63.37	ab	A
		3	37.78	b	A
NAA	1.65	2	62.25	a	A
		1	59.44	a	A
		3	49.45	a	A
KT	2.39	3	66.11	a	A
		2	54.48	a	A
		1	50.55	b	A

表6 不同激素组合对花萼愈伤组织诱导的影响

处理	外植体个数	2,4-D /mg·L⁻¹	NAA /mg·L⁻¹	KT /mg·L⁻¹	染菌率/%	褐化率/%	愈伤率/%
1	60	1(0.5)	1(0.0)	1(0.0)	0	0	86.67
2	60	1(0.5)	2(0.1)	2(0.5)	0	0	96.67
3	60	1(0.5)	3(0.5)	3(1.0)	0	0	91.67
4	60	2(1.0)	1(0.0)	2(0.5)	0	0	85.00
5	60	2(1.0)	2(0.1)	3(1.0)	0	0	78.33
6	60	2(1.0)	3(0.5)	1(0.0)	11.67	0	68.33
7	60	3(2.0)	1(0.0)	3(1.0)	0	0	100.00
8	60	3(2.0)	2(0.1)	1(0.0)	0	0	73.33
9	60	3(2.0)	3(0.5)	2(0.5)	0	0	88.33

2.3 不同激素组合对花萼愈伤组织诱导的影响

由表6可知,参试培养基中花萼的愈伤组织诱导率最高为100%,最低为68.33%,只有6号处理染菌,其染菌率达到11.67%。其余处理均未染菌。其中7号处理培养基上愈伤组织诱导率最高为100%。根据花萼愈伤组织诱导率可得到最佳培养基为:MS+2,4-D 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L。

由表7可知,三因素对花萼愈伤组织诱导均未达到显著水平。各因素水平间也无显著性差异。说明花萼愈伤组织诱导受2,4-D、NAA、KT 3种激素组合影响不大。

表7 花萼愈伤组织诱导的方差分析及多重比较

因素	F	水平	愈伤诱导率	0.05水平	0.01水平
2,4-D	7.94	1	91.67	a	A
		2	87.22	a	A
		3	77.22	a	A
NAA	2.93	1	90.55	a	A
		2	82.78	a	A
		3	82.78	a	A
KT	9.33	1	90.00	a	A
		2	90.00	a	A
		3	76.11	a	A

表8 不同激素组合对雄蕊愈伤组织诱导的影响

处理	外植体个数	2,4-D /mg·L⁻¹	NAA /mg·L⁻¹	KT /mg·L⁻¹	染菌率/%	褐化率/%	愈伤率/%
1	120	1(0.5)	1(0.0)	1(0.0)	0	0	60.83
2	120	1(0.5)	2(0.1)	2(0.5)	0	0	54.17
3	120	1(0.5)	3(0.5)	3(1.0)	0	0	82.50
4	120	2(1.0)	1(0.0)	2(0.5)	0	0	88.33
5	120	2(1.0)	2(0.1)	3(1.0)	0	0	94.17
6	120	2(1.0)	3(0.5)	1(0.0)	0	0	32.50
7	120	3(2.0)	1(0.0)	3(1.0)	0	0	87.50
8	120	3(2.0)	2(0.1)	1(0.0)	0	0	95.83
9	120	3(2.0)	3(0.5)	2(0.5)	0	0	60.83

2.4 不同激素组合对雄蕊愈伤组织诱导的影响

由表8可知,参试培养基中雄蕊愈伤组织诱导率最高为95.83%,最低为32.50%。9个处理均未有染菌情况。5号和8号处理的愈伤组织诱导率均达到90%以上,其中8号处理的雄蕊愈伤组织诱导率最高,达到95.83%。6号处理长势相对较弱,其愈伤组织诱导率最低,为32.50%。从雄蕊愈伤组织诱导率的情况来看,8号处理为最优组合,其最优培养基配方为MS+2,4-D 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

由表9得出:因素对雄蕊愈伤组织诱导均未达到显著水平。多重比较结果表明:各因素水平间也无显著性差异。说明雄蕊愈伤组织诱导受2,4-D、NAA、KT 3种激素组合的影响不大。

表9 雄蕊愈伤组织诱导的方差分析及多重比较

因素	F	水平	愈伤诱导率	0.05水平	0.01水平
2,4-D	0.26	1	81.39	a	A
		2	71.67	a	A
		3	65.83	a	A
NAA	0.65	1	81.39	a	A
		2	78.89	a	A
		3	58.61	a	A
KT	0.74	1	88.06	a	A
		2	67.78	a	A
		3	63.05	a	A

3 讨论

在花瓣和花萼的愈伤组织诱导过程中发现有黄色和红色的细菌产生,而花丝却不存在此现象。分析其原因可能是由于花瓣和花萼处于花蕾外部,容易感染菌类物质;而花丝处于花蕾最里面部分,不易感染外部细菌。因此,在花瓣和花萼的培养基中应适当添加抗菌类药剂,以杜绝各种细菌的产生,从而提高诱导率。

在该试验中,雄蕊的愈伤组织形成期比其它3种花器官的愈伤组织形成期更慢,可能与花药的发育阶段有关,处于不用发育阶段的花药,其培养效果差别很大。只有花粉发育到一定的时期的花药,才对外界刺激最敏感[4]。因此,尽量采用花药相对成熟的花蕾作为组织培养外植体。

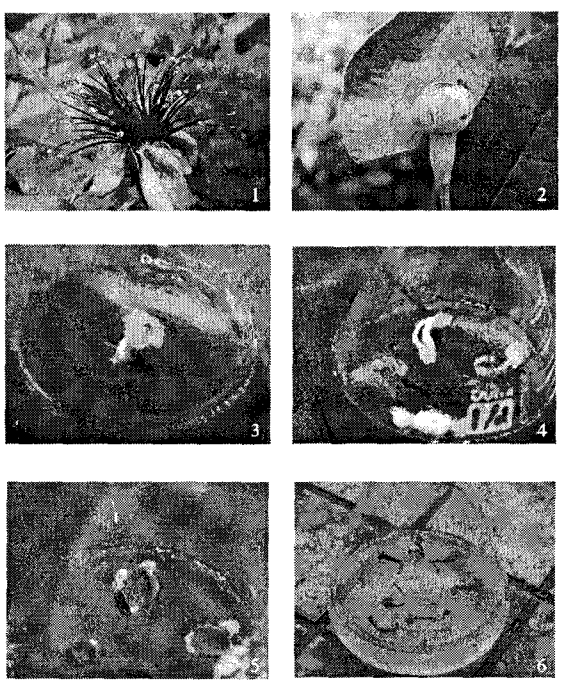

图1 费约果盛开的花朵 图2 费约果含苞待放的花蕾
图3 子房愈伤组织 图4 花瓣愈伤组织
图5 花萼愈伤组织 图6 雄蕊愈伤组织

王丹[5]等人用带芽嫩茎和嫩叶作为外植体进行愈伤组织诱导的过程中发现接种的茎段和嫩叶的染菌率

和褐化率较高，愈伤组织诱导率相对较低，Sant S[6]，J Canhot M[7]等人也有此报道，该试验采用费约果的不同花器官(子房、花瓣、花萼、雄蕊)作为外植体进行接种时，其染菌率较低，几乎没有褐化现象存在，愈伤诱导率明显高于用带芽嫩茎和嫩叶的愈伤组织诱导率。因此，费约果的花器官是进行组织培养的好材料，但究竟哪部分花器官是组培快繁的最佳外植体及对于愈伤组织诱导成苗还需要进一步探索。

该试验结果高于 Suzana 等人[8]所报道的诱导率。另外，花萼的诱导效果也较好。在 Suzana 等人的报道中只有雄蕊能够诱导出不定芽，希望通过优化试验条件，使其它花器官也能够诱导成苗。

4 结论

获得费约果组培愈伤组织诱导率高的最优培养基分别是：子房愈伤组织诱导最优培养基为 MS＋2,4-D 1.0 mg/L＋KT 0.5 mg/L；花瓣愈伤组织诱导最优培养基为 MS＋2,4-D 1.0 mg/L＋NAA 0.1 mg/L＋KT 1.0 mg/L；花萼愈伤组织诱导最优培养基为 MS＋2,4-D 1.0 mg/L＋KT 1.0 mg/L；雄蕊愈伤组织诱导最优培养基为 MS ＋2,4-D 2.0 mg/L＋NAA 0.1 mg/L。4 种外植体均能形成愈伤组织，但愈伤组织的发生率表现差异。不同花器官子房外植体诱导率最高，花萼和雄蕊次之，花瓣愈伤诱导率最低。

参考文献

[1] 福井正夫. 费约果的生物学特性与栽培技术[J]. 郭尚璜，译. 热带农业，1983，2(60)：42-50.

[2] David Bateman Ltd. Feijoas-Origins, Cultivation and Uses[M]. Auckland, New Zealand: The Horticulture and Food Research Institute of New Zealand Ltd, 2002: 7-79.

[3] 田松沪. 稀有菲油果首次开花[EB]. 北京：中国绿色时报. [2006-06-28]. http://www.cngreen.net/news/shownews.

[4] 苏华，金宝燕，任华中. 黄瓜花药培养中若干影响因素的研究[J]. 沈阳农业大学学报，2006，37(3)：470-472.

[5] 王丹，刘仁道，张冬雪，等. 食用观赏兼用果树新种类费约果的组织培养技术初探[J]. 中国南方果树，2007，36(2)：21-23.

[6] Bhojwani S S, Mullins K, cohen, D., Micropropagation of Feijoa Sellowiana Berg [S]. ISHS Acta Horticulture 212. Symposium on In Vitro Problem Related to Mass Propagation of Horticultural plants. Brussels: ISHS, 1987: 23-48.

[7] Canhot J M, Grus G S. Micropropagation of Pineapple Guave Through organogenesis and axillary shoot proliferation[C]// ISHS Acta Horticulture 520. International Horticultural Congress, Part 10: Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding-In Vitro Culture, Brussels: ISHS, 2000: 18-36.

[8] Suzana T, Dal Vesco Lirio Luiz, Ducroquet. Somatic embryogenesis from floral tissues of Feijoa(*Feijoa sellowiana* Berg) [J]. Sciential horticulturae, 2005, 105(1): 117-126.

Primary Study on the Effects of Different Flower Organs of *Feijoa* on the Callus Induction

WANG Dan, ZHOU Li-juan, HUANG Hai-tao, ZHANG Xiao-xue, YUAN Tao

(Life Science and Engineering College, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China)

Abstract: In order to study quick propagation of *Feijoa*, the explants were obtained from different flower organs of *Feijoa*. The effects of 2,4-D, NAA and KT in different concentrations and different combinations on callus induction of *Feijoa* were investigated by using orthogonal design $L_9(3^3)$. The data were subjected to variance analysis and multiple comparison. The results indicated that the calluses were induced from the four explants, but the rate of callus induction was different. The optimum media of callus induction were MS＋KT 0.5 mg/L＋2,4-D 1.0 mg/L; MS＋KT 1.0 mg/L＋2,4-D 1.0 mg/L＋NAA 0.1 mg/L; MS＋KT 1.0 mg/L＋2,4-D1.0mg/L; MS＋2,4-D 2.0 mg/L＋NAA 0.1 mg/L in ovary, petal, calyx, stamen.

Key words: *Feijoa sallowiana* Berg; Flower organs; Callus induction

现有 2000～2007 年《北方园艺》全年合订本出售，欲购者可与编辑部联系，定价：2000～2006 年每年每套 60 元，2007 年 100 元，挂号邮费：20 元。

地址：哈尔滨市南岗区学府路 368 号 黑龙江省农业科学院《北方园艺》编辑部

电话：0451－86674276　　邮编：150086