

胡选萍. 不同生长调节因子对大樱桃吉塞拉的再生效应[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6): 142–144.

不同生长调节因子对大樱桃吉塞拉的再生效应

胡选萍

(陕西理工学院生物科学与工程学院/陕西省资源生物重点实验室, 陕西汉中 723000)

摘要:以大樱桃矮化砧木吉塞拉 5 号、吉塞拉 6 号为试验材料, 采用正交试验研究不同生长调节因子对大樱桃茎芽再生的效应。结果表明: 3 种生长调节因子(6-BA、KT、IBA)对大樱桃茎芽脱分化表现出明显的遗传背景差异性; 3 种调节因子对大樱桃茎芽分化作用明显, 无论是静态的增殖系数还是动态的增殖速度均表现出明显的生理分化效应; 对于大樱桃塞拉 5 号、6 号的最适生长调节因子组合配比均为 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L IBA + 0.2 mg/L KT。

关键词:大樱桃; 生长调节因子; 脱分化; 分化

中图分类号: S662.504+.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0142-03

大樱桃属于蔷薇科李属典型樱桃亚属植物, 果实色泽艳丽, 味道鲜美, 营养丰富, 成熟期早, 素有“春果第一枝”的美誉^[1-2]。大樱桃吉塞拉砧木于 20 世纪末引入我国, 近年来在胶东半岛、云南、四川、甘肃、河北、陕西等地广泛栽培。传统根蘖或压条繁殖速度慢、苗质差、易变异, 不能满足当前大面积栽培及推广优良品种的需要^[3]; 而利用细胞组织培养技术生产的种苗优质, 繁殖速度快、稳定性高, 是解决其规模化、规范化栽培种苗问题的有效方法。本研究以大樱桃矮化砧木吉塞拉 5 号、吉塞拉 6 号为试材, 采用正交试验设计, 分析不同生长调节因子对大樱桃矮化砧木吉塞拉茎芽再生的贡献程度与效应, 筛选出适合大樱桃离体再生的最佳生长调节因子组合配比, 为大樱桃高效扩繁与大规模快速培养提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所使用的矮化砧木大樱桃品种吉塞拉 5 号、吉塞

拉 6 号, 由山东省烟台市大樱桃苗木基地提供。

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 选择生长势基本一致的 2 种大樱桃试管苗, 在超净工作台上无菌切分, 将其处理为长度约 1~2 cm 带有茎芽的切段。

1.2.2 无菌接种 无菌操作条件下, 将大樱桃吉塞拉 5 号、6 号预先切分合适的茎芽切段, 再分别接种至相应培养基(表 1)中, 每个处理接种的外植体 ≥ 30 个。

1.2.3 培养观察 光照强度 1 500~2 000 lx, 光照时间 16 h/d, 培养温度 (22 ± 2) °C, 相对湿度 50%~60%, 定期观察记录。

1.3 指标界定

分化率 = 分化外植体数/接种的外植体总数 × 100%; 增殖系数 = 最终分化的芽数/接种的外植体总数; 增殖速度 = $(N_k - N_0)/(K \times \text{接种外植体总数})$, N_k 代表第 K 天分化的芽数, N_0 代表最初分化的芽数。

2 结果与分析

2.1 各种生长调节因子对分化率的效应

分化率是衡量外植体脱分化再生的一项重要指标, 它能够从数量角度宏观确定离体培养过程中外植体形成不定芽的

收稿日期: 2012-10-29

基金项目: 陕西省科技厅重点实验室专项(编号: 2011HBSZS003)。

作者简介: 胡选萍(1975—), 女, 陕西韩城人, 硕士, 讲师, 主要从事植物细胞工程研究。E-mail: huxuanping@163.com。

要高, 说明部分白桦家系耐 NaHCO_3 能力强于耐 NaCl 的能力。

综上所述, 本试验中初步筛选出抗 NaCl 胁迫的白桦家系有 4、8、9、14、17、18、22、23、24 号; 抗 NaHCO_3 的白桦家系有 8、12、13、17、18、19、22、23、24 号。

参考文献:

- [1] 褚冰倩, 乔文峰. 土壤盐碱化成因及改良措施[J]. 现代农业科技, 2011(14): 309–311.
- [2] 赵可夫, 范海, 王宝增, 等. 改良和利用盐渍化土壤的研究进展[J]. 园林科技信息, 2004(1): 32–35.
- [3] 赵可夫, 李法曾, 樊守金, 等. 中国的盐生植物[J]. 植物学通报, 1999, 16(3): 201–207.
- [4] 赵可夫, 冯立田. 中国盐生植物资源[M]. 北京: 科学出版社,

2001: 34–35.

- [5] 齐曼·尤努斯, 李秀霞, 李阳, 等. 盐胁迫对大果沙棘膜过氧化和保护酶活性的影响[J]. 干旱区研究, 2005, 22(4): 503–507.
- [6] 马书燕, 李吉跃, 彭彰登. 人工老化过程中柔枝松种子丙二醛(MDA)含量变化研究[J]. 种子, 2011, 30(7): 1–3.
- [7] Chun W Y, Chong J N, Li C Y, et al. Osmotic adjustment and ion balance traits of all alkali resistant halophyte *Kochia sieversiana* during adaptation to salt and alkali conditions[J]. Plant Soil, 2007, 294: 263–276.
- [8] Cheesman J M. Mechanism of salinity tolerance in plants[J]. Plant Physiology, 1988, 87: 547–558.
- [9] Katsuhara M, Kawasaki T. Salt stress induced nuclear and DNA degradation in meristematic cells of barley roots[J]. Plant Cell Physiology, 1996, 37: 169–173.
- [10] 王业遴, 马凯, 姜卫兵, 等. 五种果树耐盐力初报[J]. 中国果树, 1990(3): 8–12.

表 1 大樱桃茎芽再生培养基设计

处理编号	6-BA (mg/L)	IBA (mg/L)	KT (mg/L)
1	1.0	0.1	0.1
2	1.0	0.5	0.2
3	1.0	1.0	0.3
4	2.0	0.1	0.2
5	2.0	0.5	0.3
6	2.0	1.0	0.1
7	3.0	0.1	0.3
8	3.0	0.5	0.1
9	3.0	1.0	0.2

合适条件。以 3 种生长调节因子为自变量,以不同品系大樱桃离体再生的分化率为因变量进行多因素方差分析,探索各种生长调节因子对大樱桃茎芽分化的效应(表 2)。

由表 2 可见,试验选择的 3 种生长调节因子对大樱桃茎

表 2 各种生长调节因子对大樱桃分化率的多因素方差分析

变异来源	吉塞拉 5 号				吉塞拉 6 号			
	均方	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2	均方	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2
模型	2.101	3888.402	0.000	1.000	0.004	0.683	0.668	0.271
6-BA	0.014	25.292	0.000	0.821	0.001	0.118	0.890	0.021
KT	0.021	38.749	0.000	0.876	0.001	0.150	0.862	0.027
IBA	0.006	11.950	0.002	0.685	0.010	1.780	0.214	0.245

注:吉塞拉 5 号 $R^2=0.999$;吉塞拉 6 号 $R^2=0.126$ 。

由表 3 可知,试验选择的 3 种生长调节物质对大樱桃茎芽分化均表现出明显的生理调控作用,3 种生长调节因子对吉塞拉 5 号、吉塞拉 6 号分化增殖的贡献率分别达到 99.9%、81.2%,但 3 种生长调节因子对不同大樱桃品系的效应存在差异。对于吉塞拉 5 号,3 种调节因子的贡献顺序为 6-BA>KT>IBA;而对于吉塞拉 6 号而言,IBA 的效应程度

表 3 各种生长调节因子对增殖系数的多因素方差分析

变异来源	吉塞拉 5 号				吉塞拉 6 号			
	均方	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2	均方	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2
模型 Model	12.793	1464.493	0.000	0.999	0.452	7.923	0.002	0.812
6-BA	0.614	70.248	0.000	0.927	0.676	11.865	0.002	0.683
KT	0.260	29.753	0.000	0.844	0.265	4.644	0.034	0.458
IBA	0.050	5.693	0.020	0.509	0.414	7.258	0.010	0.569

注:吉塞拉 5 号 $R^2=0.999$;吉塞拉 6 号 $R^2=0.812$ 。

表 4 各种生长调节因子对增殖速度的多因素方差分析

变异来源	吉塞拉 5 号				吉塞拉 6 号			
	均方	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2	均方	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2
模型	0.007	224.006	0.000	0.993	0.001	9.932	0.001	0.844
6-BA	0.001	27.774	0.000	0.835	0.001	12.464	0.001	0.694
KT	0.001	25.253	0.000	0.821	0.001	7.809	0.008	0.587
IBA	0.000	3.083	0.086	0.359	0.001	9.524	0.004	0.634

注:吉塞拉 5 号 $R^2=0.993$;吉塞拉 6 号 $R^2=0.844$ 。

同样,由多因素方差分析结果可知,3 种生长调节因子对吉塞拉 5 号、吉塞拉 6 号的贡献效应程度分别为 99.3%、84.4%,表现出明显的生理调控效应,这一点与其对增殖系数的效应从总体上表现出良好的一致性,但 3 种调节因子的效应大小在不同大樱桃品系之间存在差异。吉塞拉 5 号对 IBA 的效应在统计学上差异不显著($F=3.083,P>0.05$),6-BA 与

芽脱分化是否具有重要调控作用与大樱桃品种关系极为密切。3 种生长调节因子 6-BA、KT、IBA 对吉塞拉 5 号茎芽的离体脱分化作用极显著($P<0.01$),而且对茎芽脱分化的总贡献率高达 99.9%,贡献从大到小依次为 $KT>6-BA>IBA$ 。试验选择的 3 种生长调节因子对吉塞拉 6 号茎芽脱分化效应均不显著($P>0.05$),而且三者的综合贡献仅有 12.6%。由此可见,大樱桃不同遗传基因型对各种生长调节因子的生理敏感性确实存在明显差异。

2.2 各种生长调节因子对增殖系数的效应

增殖系数是评价外植体再生效果的重要指标。对于离体组织培养而言,培养基中外源生长调节物质的种类和含量对芽的分化起关键调节作用。以 3 种生长调节因子为自变量,以增殖系数为因变量,进行多因素方差分析,探索生长调节因子对大樱桃茎芽分化的效应(表 2)。

优先于 KT,3 种因子的贡献顺序为 6-BA>IBA>KT。

2.3 各种生长调节因子对增殖速度的效应

增殖速度是评价大樱桃茎芽外植体在特定培养条件下不定芽数量动态增长程度的一个重要变量。以 4 种因素为自变量,增殖速度为因变量,作方差分析,结果见表 4。

KT 的效应基本相当,贡献率分别为 83.5%、82.1%;3 种生长调节因子对吉塞拉 6 号分化的动态特征上效应非常明显,三者的贡献顺序分别为 6-BA>IBA>KT。

2.4 大樱桃茎芽离体再生培养条件的综合选择

对大樱桃吉塞拉 5 号、吉塞拉 6 号不同培养条件下的分化率、增殖系数和增殖速度采用归一化法进行极值标准化法

处理,将所有指标转化为[0,1]之间无量纲的数据,对 9 种培养基中的大樱桃吉塞拉 5 号、吉塞拉 6 号丛生芽的高频再生进行评价。

由表 5 可以看出,大樱桃吉塞拉 5 号在处理 2 中的综合指数高于其余 8 种,接近于 0.9。同样,大樱桃吉塞拉 6 号在

处理 2 中的综合指数(0.987)也高于其余 8 种,表现出良好的综合效应的一致性。因此,从宏观上综合分化率、增殖系数与增殖速度 3 个测量指标效应,对于大樱桃矮化砧木吉塞拉 5 号、吉塞拉 6 号而言,最适生长调节剂组合配比均为 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L + KT 0.2 mg/L。

表 5 3 种因素的归一化综合计算结果

处理 编号	吉塞拉 5 号				吉塞拉 6 号			
	分化率	增殖系数	增殖速度	总和	分化率	增殖系数	增殖速度	总和
1	0.018	0.184	0.153	0.355	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.291	0.252	0.333	0.876	0.333	0.321	0.333	0.987
3	0.156	0.333	0.284	0.773	0.185	0.333	0.266	0.784
4	0.043	0.000	0.000	0.043	0.232	0.135	0.131	0.498
5	0.269	0.152	0.189	0.610	0.097	0.006	0.035	0.138
6	0.000	0.105	0.119	0.224	0.260	0.043	0.078	0.381
7	0.276	0.118	0.137	0.531	0.292	0.185	0.163	0.640
8	0.333	0.168	0.214	0.715	0.130	0.252	0.263	0.645
9	0.201	0.161	0.133	0.495	0.182	0.311	0.309	0.802

3 结论与讨论

从大樱桃茎芽外植体的脱分化情况来看,3 种生长调节因子的调控效应表现出明显的品种差异性。试验选择的 3 种生长调节因子对于吉塞拉 5 号生理效应极显著,总贡献率高达 99.9%;而对吉塞拉 6 号则统计学检验差异不显著,表现出相反的低效应水平,或者说宏观上的无效应状态。这一点可能与不同品种大樱桃对不同生长调节因子的敏感性以及吸收利用程度差异有关,也可能表现在生长调节因子调控作用发挥的“时间区间”差异上,而这在一定程度上能够在大樱桃后期分化的效果上得到部分验证。因此,在研究过程中将大樱桃离体脱分化过程,按时间顺序人为细分为若干阶段如前期、中期与后期,分别探索每一阶段不同生长调节因子对大樱桃脱分化的效应程度与大小,对于类似于吉塞拉 6 号这种宏观上表现为脱分化“不敏感”的品系类型,确定生长调节因子的作用方式,筛选合适培养条件具有重要意义。

生长调节因子对植物离体再生具有非常重要的调控作用,选择合适的生长调节剂种类和浓度是外植体分化的关键因素。谷鸿飞等报道 6-BA 对大樱桃吉塞拉 5 号扦插生根具有明显效应^[4]。刘庆忠等报道 6-BA、IBA 对大樱桃叶片再生具有重要调控作用^[5]。黄文江等以 6-BA 与 IBA 两种生长调节因子为核心变量,筛选对吉塞拉叶片再生的合适培养体系^[6]。本研究通过 6-BA、KT、IBA 等 3 种生长调节物质组合配比,从吉塞拉茎芽外植体静态增殖与动态分化 2 个方面,探索不同生长调节因子对大樱桃茎芽外植体分化的效应大小与程度。结果表明,从综合效应上分析,3 种生长调节因子对大樱桃茎芽分化作用明显,无论是对静态的增殖系数还是对动态的增殖速度均表现出明显的生理分化效应,但是对大樱桃茎芽外植体分化增殖的贡献程度不完全相同。就增殖

效果而言,3 种生长调节因子对吉塞拉 5 号的总贡献率在 99% 以上,其效应程度明显大于 6 号品系。就 3 种生长调节因子的效应大小来看,三者对吉塞拉 6 号茎芽外植体静态与动态分化的贡献顺序均为 6-BA > IBA > KT。对于吉塞拉 5 号而言,增殖系数的效应排序为 6-BA > KT > IBA,而 IBA 对增殖速度的效应差异不显著,即在静态分化与动态分化之间表现出明显的不一致性,这种不一致性可能是由于吉塞拉 5 号茎芽外植体在离体培养的不同时间段细胞分化再生的快慢不同造成的。

虽然吉塞拉 5 号、吉塞拉 6 号在离体再生过程中对于不同生长调节因子的效应因遗传背景不同而产生明显差异,但是如果分化率、增殖系数与增殖速度 3 个因变量将大樱桃矮化砧木吉塞拉 5 号、6 号的最适生长调节因子组合配比均为 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L + KT 0.2 mg/L。

参考文献:

[1] 满 红. 樱桃褐腐病的发生与防治[J]. 北京农业, 2009 (19): 26.

[2] 刘志恒,白海涛,杨 红,等. 大樱桃褐腐病菌生物学特性研究[J]. 果树学报, 2012, 29(3): 423-427.

[3] 吕平会,何桂林,季志明. 陕西大樱桃生产现状及发展对策[J]. 西北园艺, 2007(6): 5-6.

[4] 谷鸿飞,艾治国,李海伟,等. 不同 IBA 浓度对樱桃吉塞拉 5 号嫩枝扦插生根的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(11): 5989-5990.

[5] 刘庆忠,赵红军,李志强. 甜樱桃矮化砧木吉塞拉(Gisela)的离体叶片再生植株研究[J]. 果树学报, 2001, 18(5): 255-257.

[6] 黄文江,刘庆忠,樊圣华,等. 甜樱桃砧木吉塞拉(Gisela)叶片再生体系研究[J]. 园艺学报, 2004, 31(2): 221-223.