

许建兰,周 懋,马瑞娟,等. 帚形山桃离体快繁技术研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(10):40-41.

帚形山桃离体快繁技术研究

许建兰,周 懋,马瑞娟,俞明亮,沈志军

(江苏省农业科学院园艺研究所,江苏南京 210014)

摘要:以帚形山桃春季嫩梢为材料,研究不同消毒方法对帚形山桃外植体污染率、死亡率、成活率的影响,探讨不同激素种类及浓度对芽增殖生长的影响。结果表明,先用 75% 乙醇处理茎段和茎尖 1 min,然后用 0.1% HgCl_2 消毒茎尖 12 min,用 0.1% HgCl_2 消毒茎段 18 min,茎尖和茎段成活率最高。最佳增殖培养基为 $\text{MS} + 1.0 \text{ mg/L } 6\text{-BA} + 0.5 \text{ mg/L IBA} + 20 \text{ g/L 蔗糖} + 5 \text{ g/L 琼脂粉}$,增殖系数可达 3.2,植株生长健壮,无玻璃化现象发生。

关键词:帚形山桃;离体快繁

中图分类号: S662.104⁺.3;Q943.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0040-02

帚形山桃是山桃的变异类型,树干笔直、树皮光滑,观赏价值较高,同时也可作为观赏桃的优良砧木。由于帚形山桃开花早,加之近年春季气温不稳定,时常出现倒春寒,在长江流域及其以南地区很难收到帚形山桃的种子。目前已有关于桃及砧木组织培养研究^[1-4],但尚未见关于帚形山桃的报道。本研究以帚形山桃嫩梢为材料,探讨不同消毒方法及激素配比对帚形山桃试管苗生长的影响,并建立帚形山桃离体快繁体系,旨在为开发利用帚形山桃提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为帚形山桃,保存于江苏省农业科学院园艺研究所国家果树种质南京桃资源圃。

1.2 方法

1.2.1 外植体取材与消毒 帚形山桃春季芽萌发后生长一段时间,取其茎段和茎尖,先用实验室流水冲洗 2 h,然后用 75% 乙醇处理 1 min,无菌水清洗 5 次,采用 3 种不同消毒方法进行消毒。方法 1:用 0.1% HgCl_2 消毒 12 min;方法 2:用

0.1% HgCl_2 消毒 15 min;方法 3:用 0.1% HgCl_2 消毒 18 min。最后无菌水冲洗 6 次,分别将茎段和茎尖接种于初代培养基^[4]。每处理接种 30 个试管,2 周后调查茎段和茎尖的污染率、死亡率、成活率。

1.2.2 基本培养基的筛选 分别以 MS、WPM、F14 为基础培养基,添加相同浓度和配比的 $1.0 \text{ mg/L } 6\text{-BA}$ 和 0.5 mg/L IBA 。每处理接种 10 个试管,重复 3 次,30 d 后观察统计外植体生长情况。

1.2.3 生长素的筛选 以 MS 为基础培养基,添加 $1.0 \text{ mg/L } 6\text{-BA}$,添加不同种类生长素 IBA 和 NAA,浓度均设为 0.5 mg/L ,筛选适宜生长素。

1.2.4 诱导与增殖培养条件的筛选 以 MS 为基础培养基,添加不同种类、浓度的外源激素 6-BA (0.5 、 1.0 、 1.5 、 2.5 mg/L)、IBA (0.5 、 1.0 mg/L),比较试管苗增殖情况。

以上所有培养基均加入 20 g/L 蔗糖 及 5 g/L 琼脂粉 ,灭菌前调节 pH 值为 5.8 , 121°C 下高压灭菌 20 min。温度为 $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$,光周期为 12 h/d,光照强度约为 $2\,500 \text{ lx}$ 。

2 结果与分析

2.1 外植体消毒方法比较

从表 1 可见,相同消毒时间下,茎段的污染率明显高于茎尖,死亡率低于茎尖。随着 HgCl_2 消毒时间的延长,2 种外植体污染率均不断降低,死亡率不断提高。茎尖采用方法 1 消

收稿日期:2013-05-07

基金项目:农业部种质保护项目(编号:NB2013-2130135-07)。

作者简介:许建兰(1976—),女,江苏兴化人,硕士,助理研究员,主要从事桃新品种选育和种质资源研究。Tel:(025)84390225;E-mail:jlxsjaas1976@yahoo.com.cn。

为 $6\text{-BA } 0.3 \text{ mg/L} + \text{IAA } 0.1 \text{ mg/L}$ 最适合铁皮石斛袋式生根培养^[1];蒋慧萍等以 $1/2\text{MS}$ 为基本培养基,NAA 浓度为 2.0 mg/L 时袋式生根效果最好^[2],本试验结果表明以 MS 为基本培养基,NAA 浓度为 2.0 mg/L ,香蕉泥 100 g/L 时铁皮石斛袋式生根效果最好。

参考文献:

- [1] 仲 磊,徐宏强,刘海一. 铁皮石斛兰的袋式组织培养[J]. 林业科技开发,2006,20(4):72-73.
- [2] 蒋慧萍,庾韦花,张向军,等. 袋式培养在铁皮石斛组培苗生根中应用研究和效率评价[J]. 西南农业学报,2009,22(5):1420-1423.

- [3] 郑宽瑜,邓君浪,赵 辉. 铁皮石斛快繁技术体系研究[J]. 云南农业科技,2009(增刊):57-59.
- [4] 蒋波杨,存 亮,黄 捷,等. 原球茎生长分化及生根壮苗研究[J]. 玉林师范学院学报:自然版,2005,26(3):66-69.
- [5] 李 莹,谭鹏鹏,彭方仁,等. 铁皮石斛组培快繁技术[J]. 林业科技开发,2012,26(1):96-99.
- [6] 杨立昌,乙 引,张宇斌,等. 铁皮石斛快速繁殖体系研究[J]. 北方园艺,2010,2(22):136-138.
- [7] 洪香娇,瑜晚之,熊正葵. 铁皮石斛的组织培养与快速繁殖洪香娇瑜晚之熊正葵[J]. 现代园艺,2008(7):9-10.
- [8] 戴小英,张淑霞,周莉荫,等. 铁皮石斛不同外植体组培快繁技术比较研究[J]. 中国农学通报,2011,27(10):122-126.

表 1 不同消毒方法下帚形山桃茎段和茎尖的污染率、死亡率、成活率

方法	茎尖(%)			茎段(%)		
	污染率	死亡率	成活率	污染率	死亡率	成活率
1	46.67	26.67	26.67ab	56.67	23.33	20.00b
2	36.67	50.00	13.33c	40.00	36.67	23.33b
3	20.00	70.00	10.00c	23.33	46.67	30.00a

注:同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

毒较为适宜,成活率为 26.67%;茎段采用方法 3 进行消毒成活率较高,达 30%。

2.2 基本培养基的筛选

分别以 MS、WPM、F14 为基础培养基,添加相同种类和浓度的 6-BA 和 IBA。30 d 后观察发现,接种到 MS 培养基的芽体生长健壮,叶色绿;F14 培养基中的玻璃化植株较多;接种到 WPM 培养基中的外植体长势较差,叶色黄且顶芽发枯。由此可知 MS 培养基较适宜帚形山桃的生长,增殖倍数达 3.2 倍(表 2)。

表 2 不同基本培养基中帚形山桃外植体生长情况

基本培养基	增殖倍数(倍)	生长状况
WPM	1.9c	叶色发黄,生长点不明显
MS	3.2a	生长健壮,叶色绿
F14	2.8b	叶片易玻璃化

2.3 不同生长素对外植体生长的影响

从表 3 可以看出,虽然 IBA 与 NAA 处理之间增殖倍数差异不显著,但 IBA 处理下外植体叶色绿、生长健壮,NAA 处理下外植体生长势较弱、生长点不明显。由此可知,IBA 更有助于帚形山桃的生长。

表 3 不同生长素种类对帚形山桃外植体生长的影响

激素种类及浓度(mg/L)		增殖倍数	生长状况
NAA	IBA	(倍)	
0.5	0	2.4a	生长势弱、生长点不明显
0	0.5	3.2a	叶色绿、生长健壮

2.4 激素水平对试管苗增殖的影响

从表 4 可以看出,在相同生长素条件下,随着 6-BA 浓度的逐渐升高,帚形山桃外植体增殖倍数呈明显上升趋势。当 6-BA 浓度为 2.5 mg/L,IBA 浓度为 0.5、1.0 mg/L 时,试管苗增殖倍数均较高,分别达 6.5、6.2 倍,与其他处理差异显著;但增殖芽呈丛生状态,玻璃化苗较多。当 6-BA 浓度为 0.5 mg/L,IBA 浓度为 1.0 mg/L 时,试管苗叶色绿,叶片大而舒展,植株生长健壮;但增殖倍数低,不利于继代扩繁。当 6-BA 浓度为 1.0 mg/L,IBA 浓度为 0.5 mg/L 时,增殖倍数为 3.2 倍,适宜试管苗增殖生长。

3 结论与讨论

本研究将外植体材料按老嫩程度分为茎尖及茎段,先用

表 4 不同激素种类及浓度对比对帚形山桃外植体增殖生长的影响

激素种类及浓度(mg/L)		增殖倍数	生长状况
6-BA	IBA	(倍)	
0.5	0.5	2.1de	生长正常
1.0	0.5	3.2c	生长健壮
1.5	0.5	4.9b	有玻璃化现象
2.5	0.5	6.5a	玻璃化多
0.5	1.0	1.6e	生长正常
1.0	1.0	2.8cd	生长健壮
1.5	1.0	4.3b	有玻璃化现象
2.5	1.0	6.2a	玻璃化多

75%乙醇处理 1 min,然后分别采用 0.1% HgCl₂ 处理 12、18 min。消毒时间过长会对材料产生杀伤作用,导致外植体变褐致死,影响成活率。实际操作时应根据植株生长状况采用不同的消毒方法,较嫩的芽应适当缩短消毒时间。有学者认为,F14 培养基更适合核果类果树的组织培养,桃、樱桃、杏在 F14 培养基上的成活率均高于 MS、L、G 培养基^[5]。陈宗礼等对 MS、改良 MS、F14 培养基进行比较,发现 MS 基本培养基较适合晚蜜桃组织培养^[6]。本试验中初代培养及继代增殖时均以 MS 为培养基的植株生长健壮。影响芽生长分化的调节物质包括 BA、IBA、GA、TDZ、IAA、IBA、NAA 等^[7-9],单独加细胞分裂素虽能获得更多的嫩芽,但芽细弱、质量差,对快速繁殖不利;单独加生长素,材料不增殖且呈伸长生长。两者配合使用,可以获得满意的增殖倍数和嫩芽^[10]。不同品种、不同类型外植体适合的生长调节物质种类和浓度不同。研究表明,1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L IBA 配合使用较适合帚形山桃的离体快繁,增殖倍数可达 3.2 倍。

参考文献:

[1] 尚敏克,姜国斌,尹伟伦,等. 晚熟桃的离体组织培养[J]. 辽宁林业科技,2002(3):5-7,20.
[2] 白美发. 桃树的组培快繁试验[J]. 落叶果树,2004(3):7-8.
[3] 许建兰,马瑞娟,俞明亮,等. Damas 1869 李组培繁殖技术研究[J]. 果树学报,2008,25(5):740-743,785.
[4] 李佳莹,俞明亮,马瑞娟,等. 三种桃砧木的离体快繁技术研究[J]. 江苏农业学报,2009,25(3):635-639.
[5] 何碧珠,陈振光. 榛的离体繁殖[J]. 福建农业大学学报,1998,27(3):296-300.
[6] 陈宗礼,冯晓东,云涛,等. 晚蜜桃离体培养初探[J]. 延安大学学报:自然科学版,2003,22(2):60-61,64.
[7] 范子南,肖华山,范晓红,等. 冬桃的离体繁殖[J]. 植物生理学通讯,1996,32(3):199-200.
[8] Eldeen S, Sdeed W T, Hassablla I A. Micrpropagation of peach rootstocks[J]. University of Cairo,1998,49(4):549-562.
[9] Zimmerman T W, Scorza R. Benzyl adenine and shortened lightly dark cycles improve *in vitro* shoot proliferation of peach[J]. Hortscience, 1994,29(6):698.
[10] 杨宁,李胜,王秀春,等. 扁桃优良砧木离体快繁[J]. 西北植物学报,2004,24(2):324-328.