

甜樱桃矮化砧木 ZY-1 组培快繁技术研究

刘仁道¹, 廖明安²

(1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳 621002; 2. 四川农业大学林学院园艺学院, 雅安 621054)

摘要: 利用 ZY-1 一年生的休眠芽为外植体进行组织培养, 研究得出最佳芽的诱导培养基为 MS+6-BA1.0 mg/L(毫克/升)+GA1.0 mg/L(毫克/升); 最佳增殖培养基为 MS+6-BA1.5 mg/L(毫克/升)+IAA1.0 mg/L(毫克/升)+GA0.5 mg/L(毫克/升); 生根培养基最佳配方为 1/2MS+0.8NAA mg/L(毫克/升), 蔗糖 1.5%, 琼脂 0.5%。将高度大于 1 cm(厘米)的试管苗以 MS+mIAA1.2 mg/L(毫克/升), 蔗糖 3%, 琼脂 0.6% 进行壮苗培养, 再直接移栽, 用 15 mg/L(毫克/升)IAA 诱导生根, 成活率可达 90%。移栽介质以泥炭+腐叶土(体积比 1:1)为佳, 成活率高, 且须根发达。

关键词: 甜樱桃矮化砧木; ZY-1; 组织培养; 增殖倍数; 成活率

中图分类号: S662.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2004)05-0061-03

欧洲甜樱桃幼树期生长势旺盛, 花芽形成较难, 进入结果期较晚, 3年生树有少量树开花, 5年生才进入结果期^[1], 因此, 利用矮化砧木嫁接栽培是欧洲甜樱桃提早结果的重要途径。

欧洲甜樱桃矮化砧木-ZY-1 是 1988 年中国农业科学院郑州果树研究所从意大利引进的, 与欧洲甜樱桃嫁接亲和力极强, 成活率高, 进入结果期早, 定植后 3 年可结果。具有显著的矮化效应, 幼树期植株生长较快, 成形快, 进入结果期以后, 生长势显著减弱。嫁接树冠高 2.5 m~3.5 m(米)^[2]。

试管苗生根移栽是获得完整植株的重要环节, 而试管苗长期生长在培养瓶内, 导致叶片海绵细胞层增加, 栅栏组织较差, 表皮蜡质层减少, 气孔发育差; 气孔保卫细胞含钾量低, 叶片光合能力低; 一般无根毛或根毛发育极差, 对土壤的附着、吸收能力较差^[3,4]。因此, 提高组培苗质量, 加强炼苗, 温、湿度控制, 培养介质的选择及消毒是提高组培苗成活率的关键。对于樱桃组织培养成功报道较多^[5~8], 但欧洲甜樱桃矮化砧木 ZY-1 组培快繁技术未见报道。为提高其繁殖系数, 达到在生产上快速应用推广的目的, 进行了组培快繁技术研究。

1 材料与方法

1.1 无菌材料的获取

以 ZY-1 为试材, 于 2002 年 12 月取一年生休眠芽枝条, 先用洗衣粉水洗净, 然后用自来水流水冲洗 20 min(分钟)。将洗净枝条的饱满芽外面几层鳞片剥去, 取下芽放入三角瓶中, 在超净工作台上用 0.1% HgCl₂ 消毒 5 min(分钟), 再用无菌水清洗 5 次。用无菌镊子剥去芽的内层鳞片, 用无菌刀切取嫩芽接种。

1.2 芽的诱导

诱导培养基采用 MS 基本培养基附加 6-BA、IAA 和 GA 的不同浓度配比, 3 因素(6-BA、IAA 和 GA)4 水平(4 种不同浓度), 采用 L(4⁵) 正交试验设计:

(1)MS; (2)MS+IAA0.5 mg/L(毫克/升)(单位下同)+

GA0.5; (3)MS+IAA1.0+GA1.0; (4)MS+IAA1.5+GA1.5; (5)MS+6-BA0.5+GA0.5; (6)MS+6-BA0.5+IAA0.5+GA1.0; (7)MS+6-BA0.5+IAA1.0+GA1.5; (8)MS+6-BA0.5+IAA1.5; (9)MS+6-BA1.0+GA1.0; (10)MS+6-BA1.0+IAA0.5+GA1.5; (11)MS+6-BA1.0; (12)MS+6-BA1.0+IAA1.5+GA0.5; (13)MS+6-BA1.5+GA1.5; (14)MS+6-BA1.5+IAA0.5; (15)MS+6-BA1.5+IAA1.0+GA0.5; (16)MS+6-BA1.5+IAA1.5+GA1.0

上述培养基均添加蔗糖 3% 和琼脂 0.6%。培养条件是温度 23±2℃, 光照时间 13 h(小时), 光照强度 2 000 Lx(勒克斯)。

1.3 继代增殖培养

芽诱导培养 35 d(天)后进行增殖培养, 培养基配方为(5)~(16)号培养基, 蔗糖 3%, 琼脂 0.6%。培养条件是温度 23±2℃, 光照时间 13 h(小时), 光照强度 2 000 Lx(勒克斯)。

1.4 生根培养及炼苗移栽

1.4.1 室内生根培养 以 1/2MS(大量元素减半)为基本培养基, 附加不同浓度的 NAA, 设 5 个处理—0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/L(毫克/升)NAA, 添加 1.5% 蔗糖, 0.5% 琼脂。取高度>1 cm(厘米)的试管苗进行接种。接种后暗培养 8 d(天), 然后转为光培养, 培养条件是温度 23±2℃, 光照时间 13 h(小时), 光照强度 2 000 Lx(勒克斯), 培养 20 d(天)统计生根情况。

1.4.2 室内壮苗、生根培养 壮苗培养取高度>1 cm(厘米)的试管苗接种到 MS 培养基上, 添加 3% 蔗糖, 0.6% 琼脂。壮苗培养 15 d(天)后接种到生根培养基上进行生根培养。生根培养基配方为 1/2MS+NAA0.8 添加 1.5% 蔗糖, 0.5% 琼脂。培养条件均为温度 23±2℃, 光照时间 13 h(小时), 光照强度 2 000 Lx(勒克斯)。

1.4.3 炼苗移栽 生根培养 20 d(天)后进行炼苗。先将培养瓶移入温室, 2 d(天)后揭开瓶盖, 用遮阳网遮荫 3 d(天), 然后取出苗木, 洗净根部琼脂, 用 1 000 倍多菌灵消毒 5 min(分钟), 再栽入温室苗床。培养介质设 5 个处理: A、泥炭+腐叶土(体积比 1:1)(下同); B、炭渣+腐叶土; C、河沙+腐叶

* 西南科技大学创新基金资助项目

收稿日期: 2004-05-03

土; D、泥炭; E、河沙。于栽植前 2 d(天)浇透水,并用 0.05% CuSO₄ 液消毒。栽苗后采用小拱棚覆盖塑料薄膜保湿,再覆盖遮阳网遮荫。每隔 3 d(天)浇水 1 次,10 d(天)以后每隔 5 d(天)浇 1 次营养液(MS 配方中大量元素稀释 3 倍),连续 3 次,15 d(天)时统计成活率。

1.4.4 壮苗、移栽生根培养 壮苗培养取高度 > 1 cm(厘米)的试管苗接种到 MS 为基本培养基附加不同 IAA 浓度的培养基上,添加 3%蔗糖,0.6%琼脂。设 5 个处理,IAA 浓度分别为 0.0.3.0.6.0.9.1.2 mg/L(毫克/升)。培养条件同 1.4.2 的壮苗培养。壮苗培养 20 d(天)后进行炼苗,炼苗方式同 1.4.3。移栽时取出试管苗洗净基部培养基,栽植于泥炭+腐叶土(1:1)的培养介质中。生根处理:分别用 2.5.8 mg/L(毫克/升)NAA 和 5.10.15 mg/L(毫克/升)IAA 浇灌,以清水为对照。管理方式同 1.4.3。15 d(天)时统计成活率。

2 结果与分析

表 1 不同培养基对增殖倍数的影响

培养基	增殖倍数		
	接种后 12 天	接种后 20 天	接种后 24 天
MS+6-BA0.5+GA0.5	1.33	1.86	2.28
MS+6-BA0.5+IAA0.5+GA1.0	3.00	3.90	4.10
MS+6-BA0.5+IAA1.0+GA1.5	3.50	3.92	4.00
MA+6-BA0.5+IAA1.5	1.92	2.33	2.47
MS+6-BA1.0+GA1.0	2.25	3.67	4.00
MS+6-BA1.0+IAA0.5+GA1.5	3.50	4.83	5.01
MS+6-BA1.0	2.00	2.92	3.83
MS+6-BA1.0+IAA1.5+GA0.5	3.33	4.42	5.42
MS+6-BA1.5+GA1.5	2.00	3.33	4.25
MS+6-BA1.5+IAA0.5	4.50	4.92	8.00
MS+6-BA1.5+IAA1.0+GA0.5	4.58	6.08	9.42
MS+6-BA1.5+IAA1.5+GA1.0	4.31	4.85	6.78

2.1 芽的诱导

接种后 7 d(天)芽开始萌动,10 d(天)叶片伸出,12 d(天)时不同培养基上的芽表现出差异,其中(1)~(4)号培养基生长最差,芽的高度仅为 0.1 cm(厘米);(7)、(8)、(11)、(12)、(14)、(16)号培养基生长一般,芽的高度为 0.2 cm(厘米)左右;(5)、(6)、(10)、(13)、(15)号培养基生长较好,芽的高度为 0.3 cm(厘米)左右;(9)号培养基生长最好,芽的高度为 0.4 cm(厘米)左右。22 d(天)时不同培养基上的芽的生长差异更加显著,其中(1)~(2)号培养基生长势极弱,且叶片黄化,无丛生芽;(3)~(4)号培养基生长势弱,无丛生芽;(7)、(8)、(11)、(12)、(14)、(16)号培养基生长势一般,芽的高度为 0.4 cm(厘米)左右,1~2 个丛生芽;(5)、(6)、(10)、(13)、(15)号培养基生长较好,芽的高度为 0.5 cm(厘米)左右,2~3 个丛生芽;(9)号培养基生长势最强,芽的高度达到 0.6 cm(厘米)左右,3~4 个丛生芽。可见,以 MS+6-BA1.0+GA1.0 为芽的最佳诱导培养基。

2.2 增殖培养

不同种类的激素及不同浓度配比对增殖影响很大。从表 1 可以看出,接种 24 d(天)后增殖倍数最高的是(15)号培养基,为 9.42 倍,最低的是(5)号培养基,仅为 2.28 倍,其余的培养基增殖倍数按从高到低的顺序依次为(14)、(16)、(12)、(10)、(13)、(6)、(7)、(9)、(11)、(8)。且 20 d(天)后增长速度

最快,如(15)号培养基从 6.08 倍增长至 9.42 倍,(14)号培养基从 4.92 倍增长至 8.00 倍,(16)号培养基从 4.85 倍增长至 6.78 倍。高浓度的细胞分裂素有利于芽的增殖。因此,以 MS+6-BA1.5+IAA1.0+GA0.5 为最佳增殖培养基。

2.3 生根培养

2.3.1 室内生根培养 生根培养过程中,通过 8 d(天)黑暗培养,再转为光培养 2 d(天)后开始发根,7 d(天)后发根数量迅速增加,根生长速度加快。从表 2 中可以看出,以 0.8 mg/L(毫克/升)NAA 发根最多,达到 5.73 条,与其余几种浓度达显著性差异;其次是 0.6 mg/L(毫克/升)NAA 和 1.0 mg/L(毫克/升)NAA,分别为 4.58 和 4.32 条,两者差异不显著,与 0.2 mg/L(毫克/升)NAA 和 0.4 mg/L(毫克/升)NAA 达显著性差异。从根的生长长度看,以 0.2 mg/L(毫克/升)NAA 最长,达 1.62 cm(厘米),与其余几种浓度达显著性差异;其余几种浓度之间差异不显著。从移栽成活情况看,发根数比根长对成活率影响大。因此,可以得出生根的最适宜培养基配方为 1/2MS+0.8 mg/L(毫克/升)NAA,蔗糖 1.5%,琼脂 0.5%。

表 2 不同 NAA 浓度对生根的影响

NAA(mg/L)	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
平均根数(条)	2.59Cc	2.76Cc	4.58Bb	5.73Aa	4.32Bb
平均根长(cm)	1.62Aa	1.17Bb	1.22Bb	1.24Bb	1.23Bb

注:SSR 法测验,表中大写字母代表 1%显著水平,小写字母代表 5%显著水平。

2.3.2 室内生根培养后的移栽成活率 由于试管苗较嫩弱,茎较细,叶色浅,所以成活率不高。但表 3 可以看出,不同培养介质对移栽成活率影响极大。以泥炭+腐叶土成活率最高,且须根发达,河沙+腐叶土成活率较高,须根较发达,炭渣+腐叶土成活率较高,骨干根长,但须根不发达。单独采用泥炭或河沙效果均差。

表 3 不同培养介质对移栽成活率的影响

培养介质	移栽苗数	成活苗数	成活率(%)
泥炭+腐叶土	50	23	46
河沙+腐叶土	50	20	40
炭渣+腐叶土	50	22	44
泥炭	50	0	0
河沙	50	2	4

表 4 IAA 对试管苗质量的影响

处理	接种数	接种时平均高度(cm)	培养 20 天后平均高度(cm)	生长情况
MS	29	1.03	1.95	生长势一般,叶色绿
MS+IAA0.3	33	1.04	2.37	生长势一般,叶色绿,1 株发根
MS+IAA0.6	26	1.02	2.40	生长势一般,叶色绿,1 株发根
MS+IAA0.9	27	1.00	2.35	茎较粗壮,叶色较深,1 株发根
MS+IAA1.2	35	1.03	2.75	茎粗壮,叶色深绿,2 株发根

2.3.3 IAA 对试管苗质量的影响 通过对高度 > 1 cm(厘米)的试管苗再接种到 MS 为基本培养基附加不同浓度的 IAA 进行壮苗培养,结果从表 4 中看出,比接种前苗增高增粗,叶色加深,生长势增强,其中以 MS+IAA1.2 效果最好,平均苗高达到 2.75 cm(厘米),且生长势健壮。

2.3.4 壮苗培养后再生根、移栽的成活率 通过 MS 培养基培养 15 d(天)后,茎增粗,皮色加深,叶色转绿,再接种于

1/2MS+NAA0.8 中进行生根培养,其根系质量比未通过壮苗而直接生根的好,表现为充实,木质化程度高,且移栽成活率大大提高。

从表 5 可以看出,苗质量对成活率有很大影响,壮苗的成活率达到 72%,而次苗的成活率仅为 38%。

表 5 苗质量对生根、移栽成活率的影响

	平均高度	平均叶片数	平均根数	平均根长	栽植苗数	成活苗数	成活率(%)
壮苗	2.15	4.1	4.75	1.53	58	42	72
次苗	1.57	2.8	3.43	1.09	13	5	38

2.3.5 无根试管壮苗直接移栽生根 通过壮苗过程后直接移栽,再用不同浓度的 NAA 和 IAA 浇灌诱导生根,结果从表 6 中看出,8 mg/L(毫克/升)NAA 和 10、15 mg/L(毫克/升)IAA 处理成活率分别为 75%、80%和 90%,均高于低浓度处理,也大大高于对照,同时均高于通过壮苗处理后进行生根培养,再移栽的成活率(72%)。所以从本次试验表明,用 15 mg/L(毫克/升)IAA 浇灌诱导生根效果最佳。

表 6 NAA、IAA 对无根试管壮苗直接移栽生根的影响

激素	浓度(mg/L)	移栽苗数	成活苗数	成活率(%)
NAA	2	20	9	45
	5	20	10	50
	8	20	15	75
IAA	5	20	13	65
	10	20	16	80
	15	20	18	90
清水对照		20	2	10

3 小结与讨论

ZY-1 组织培养,冬季取 1 年生枝条上的休眠芽为外植体,消毒容易,污染程度小。但消毒前必须将鳞片剥彻底。

芽的诱导培养基以 MS+6-BA1.0 mg/L(毫克/升)GA1.0 mg/L(毫克/升)为最佳,芽生长健壮,且能发生 3~4 个丛生芽。

增殖培养基以 MS+6-BA1.5 mg/L(毫克/升)IAA1.0 mg/L(毫克/升)GA0.5 mg/L(毫克/升)为最佳,24 d(天)后

增殖倍数可达 9.42 倍。

生根培养基最佳配方为 1/2MS+NAA0.8 mg/L(毫克/升),蔗糖 1.5%,琼脂 0.5%。但由于试管苗较嫩弱,茎较细,叶色浅,移栽成活率不高。

将增殖培养苗通过壮苗培养后,苗质量提高,再进行生根培养,移栽成活率大大提高。

壮苗培养以 MS+IAA1.2 mg/L(毫克/升),蔗糖 3%,琼脂 0.6%为最佳。

通过壮苗培养后直接移栽,用激素诱导生根,以 15 mg/L(毫克/升)IAA 为最佳,成活率可达 90%。且该方法可以缩短在培养室的培养时间,苗木生长健壮。

移栽介质以泥炭+腐叶土(体积比 1:1)为最佳。

壮苗培养添加的 IAA 浓度和移栽诱导生根的 NAA 及 IAA 浓度有待进一步试验。

参考文献:

- [1] 刘仁道,范理璋,李新贤等.川西北甜樱桃引种试验初报[J].绵阳经济技术高等专科学校学报,1998(1):24~28.
 - [2] 赵改荣,黄贞光.樱桃优质丰产栽培技术彩色图说[M].北京:中国农业出版社,2001:21.
 - [3] 李俊明编译.植物组织培养教程[M].北京:中国农业大学出版社,2002:267.
 - [4] 程家胜.植物组织培养与工厂化育苗技术[J].北京:金盾出版社,2003:67~73.
 - [5] 王翠杰,刘丽君,谷迎春等.影响樱桃砧木试管苗生根的因素[J].北方果树,2000(1):15.
 - [6] 孙满芝.樱桃矮化砧木 SD-13 组培快繁技术研究[J].山东林业科技,2000,129(4):25~27.
 - [7] 刘庆忠,赵红军.大樱桃矮化砧木吉塞拉(Gisela)的微体繁殖[J].植物生理学通讯,2001,37(3):236~237.
 - [8] 代汉萍,李宝江,林丽华等.草原樱桃茎尖培养技术试验[J].中国果树,2001(6):19~21.
- 注:园艺 2001 级林正涛、王丽娜、黄海涛、丁国勋参与了研究工作,特此致谢!

不一般的《西北园艺·蔬菜专刊》

《西北园艺·蔬菜专刊》:陕西省优秀科技期刊。来自中国杨凌农科城故里,立足北方独特的生态和区位优势,扎根反季节菜、设施菜和外销菜基地,追踪菜业品种更新、技术创新、产业发展和市场动向,突出先进生产技术和实用经营方略,专心服务专业菜农和菜业一线人士。16 开 64 页,逢单月出版。期价 3.00 元,年价 6 期 18.00 元。邮发代号 52-223。特向 2005 年度新老订户赠送本刊精编《2005 年(农历乙酉年)菜农历书》,订一份赠一册,寄邮局订单复印件向本刊索赠。邮购免收邮资,样刊付 0.8 元邮票即赠。地址:西安市习武园 27 号;邮编:710003;电话:(029)87322643。

欢迎订阅《吉林蔬菜》

《吉林蔬菜》由吉林省蔬菜花卉科学研究所主办,是北方地区唯一的蔬菜专业性刊物。荣获全国优秀农业期刊

和吉林省一级期刊。植根北方,面向全国,影响较大。本刊辟有试验总结报告、综述、工作研究、菜篮子工程专题报道等,尤其大量刊登有关蔬菜种植新技术、植物保护、家庭小菜园、致富天地、各地高产典型经验介绍及食用菌、蔬菜贮藏保鲜、蔬菜营养食疗、名优特菜和花卉栽培技术等文章。本刊面向全国城郊的广大蔬菜种植户、广大农技推广人员、院校师生、农业主管领导,提供学术交流园地,引菜农致富之路。

《吉林蔬菜》近两年来,影响日益增强。四封彩色及彩色插图广告,157 克进口铜版纸,内文胶版纸,印刷精美,堪称精品。其均发行量已达到 2 万余册。2005 年吉林蔬菜杂志将顺应市场经济发展需要,每期由原来的 48 页附赠相关页码,内容更充实,每期定价 5.00 元,双月刊,全年 6 期,总订价 30.00 元。全国各地邮局均可订阅,邮发代号:12-151。如果在当地邮局错过订阅时间,可随时通过邮局汇款到编辑部订阅。

地址:长春市自由大路 6152 号《吉林蔬菜》编辑部收,邮编:130033,电话(传真):(0431)4643043 转 8103 E-mail:jlshucui@163.com