

抗寒苹果“新冠”的茎尖组织培养

张虎平¹, 张志明¹, 樊宪伟², 张录霞¹, 马兵钢¹

(1.石河子大学农学院园艺系 新疆 石河子 832003; 2.广西亚热带生物资源保护利用重点实验室, 广西大学生命科学与技术学院, 广西 南宁 530005)

摘 要:以苹果“新冠”茎尖为材料, 通过研究不同的激素配比对芽增殖和生根的影响, 探索抗寒苹果“新冠”的最适增殖培养基和生根培养基。结果表明:“新冠”的最适诱导培养基为 MS+0.1 mg/L NAA+1.5 mg/L 6-BA; 最适增殖培养基为 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.05 或 0.08 mg/L NAA, 其增殖系数达到 7.4; 最适生根培养基为 1/2MS+0.2 mg/L IBA+0.6 mg/L IAA, 其生根率达到 90.5%。

关键词:新冠苹果; 茎尖组织培养; 增殖培养; 生根培养

中图分类号:S 661.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)02-099-03

“新冠”为蔷薇科苹果属植物, 是以金冠为母本, 新冬为父本进行杂交育成的抗寒苹果新品种。“新冠”树势健壮, 萌芽率、成枝率高, 幼树结果早, 其抗寒性、丰产性、果实大小、品质、成熟期、贮藏期等均优于国内其他抗寒苹果品种。目前已有国内 9 个省 86 个单位引种推广, 面积已达 667 hm² 以上^[1-4]。茎尖组织培养繁殖系数高, 可在短时间内为生产提供大量整齐一致的优良苗木, 是快速繁殖优良苗木的有效途径。而且茎尖组织培养能在一定程度上脱除病毒。苹果茎尖培养可直接分化成苗, 具有操作方便, 容易成活, 成苗时间短, 幼苗生长势强等特点^[5]。苹果的组织培养国内有不少报道, 但有关抗寒苹果品种“新冠”的茎尖组织培养未见报道。该研究以“新冠”为试材, 初步建立了其茎尖组织培养的快速体系, 旨在为“新冠”的快速繁殖和无病毒试管苗的建立提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料来源

试验材料取自石河子大学农学院实验站, 以春季 1 a 生健壮枝条萌发抽生的新梢茎尖为外植体。

1.2 材料处理

将所取材料用流水冲洗 40 min, 然后剪成 2~3 cm 长带一个腋芽的茎段。在超净工作台上, 将材料用 75% 酒精浸泡 20 s, 再用 0.1% 升汞消毒 8 min, 用无菌水浸泡、冲洗 5~6 次。用无菌滤纸吸干水分, 切取 3~5 mm 的茎尖接种在起始培养基上, 诱导芽分化。

第一作者简介:张虎平(1978-), 男, 硕士, 主要从事果树生物技术研究工作。E-mail: zhanghuping@126.com。
基金项目:石河子大学自然科学与技术创新基金资助项目(ZRKX2005052)。
收稿日期:2008-08-24

1.3 培养基及培养条件

初代培养基和增殖培养基均以 MS+蔗糖 3%+琼脂 0.5%, pH 5.8, 附加不同浓度配比的激素; 生根培养基以 1/2MS+蔗糖 3%+琼脂 0.5%, pH 5.8, 附加不同浓度配比的激素。培养基在 121℃ 湿热灭菌 20 min。培养温度为 (25±2)℃, 光照强度约 2 000 lx, 光照时间 16 h/d。

1.4 增殖与分化培养

当外植体萌发展叶分化成芽丛后, 将丛生芽分成单株, 转接到增殖培养基上进行增殖培养。增殖培养基分别设置 6-BA 为 1.0、1.2、1.5 mg/L 与 NAA 为 0.05、0.08、0.1 mg/L 相对应的 9 个组合, 25 d 后统计增殖系数和生长量。观察不同浓度条件下对增殖生长的影响, 筛选出 6-BA 和 NAA 的最佳组合。

1.5 生根培养

待无根苗继代培养到一定数量后, 取颜色鲜绿、具 3 片以上幼叶、生长健壮、高 2~3 cm 的芽苗, 从基部剪下, 单个接种到 1/2MS 附加不同激素水平的生根培养基上, 观察生长情况。30 d 后统计平均生根率和平均根长。

2 结果与分析

2.1 茎尖接种培养的动态观察

接种在 MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0~2.0 mg/L 3 种培养基上的茎尖于接种后第 2~3 天开始转绿。经 4~5 d, 芽体明显膨大; 再经 2~3 d 腋芽生长较快, 15~20 d 开始诱导出丛生芽, 25 d 后高度可达 3.0~4.0 cm。但 6-BA 浓度对腋芽萌发率有明显影响, 这 3 种培养基的萌发率有明显差异。当 6-BA 浓度为 1.5 mg/L 时培养基的萌发率最高达 65.3%, 该培养基上萌发的腋芽生长速度快, 长势较好(图 1-a)。6-BA 浓度为 1.0 mg/L 和 2.0 mg/L 培养基的萌发率次之, 分别为 42.9% 和 22.8%。其他 NAA 浓度为 0.01 mg/L 和 0.05

mg/ L 组合的培养基的萌发率最低, 均低于 15%, 这些培

养基上的腋芽生长缓慢, 长势弱。

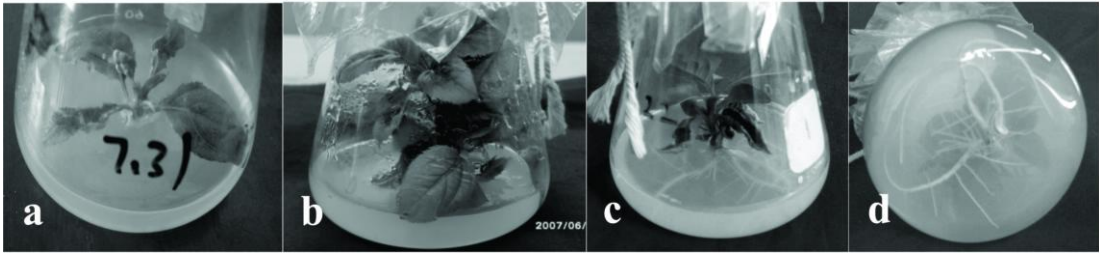


图1 不同的激素对比对芽增殖和生根影响

2.2 增殖与分化培养

从表 1 可以看出, 6-BA 和 NAA 不同浓度组合对增殖系数及其生长量有很大的影响, 芽的增殖和嫩梢的增长不仅取决于 6-BA 和 NAA 的绝对量, 而且取决于二者的相对比例。就试验所涉及的浓度范围而言, 当 6-BA 浓度一定时, NAA 浓度对新冠的增殖系数影响较小。当 NAA 浓度一定时, 增殖系数随 6-BA 浓度的增加而减少。当 6-BA 浓度为 1.0 mg/ L 时的试管苗增殖系数普遍较高, 其中当 NAA 浓度为 0.05 或 0.08 mg/ L 时增殖系数可达 7.4, 且试管苗生长正常, 嫩茎粗壮, 基部无愈伤组织(图 1-b)。较高浓度 6-BA 与 NAA 配合时, 增殖系数减少, 幼苗生长势减弱, 不利于生根培养。

表 1 不同比例的 6-BA 和 NAA 浓度对嫩茎增殖的影响

6-BA / mg ° L-1	NAA / mg ° L-1	增殖 系数	新梢长 度/ cm	生长表现
1.0	0.05	7.45	6.4	分化较多 健壮 生长正常
	0.08	7.42	6.7	分化较多 健壮 生长正常
	0.10	7.44	4.3	分化较多 生长较弱 基部少量
1.2	0.05	5.23	5.3	愈伤组织分化较多 较细弱
	0.08	6.70	6.1	分化较多 生长较正常化 基部少量愈伤组织
	0.10	5.32	6.3	分化较多 生长较正常化 基部少量愈伤组织
1.5	0.05	1.29	4.3	分化少 细弱
	0.08	2.45	3.9	分化少 生长细弱 基部少量愈伤组织
	0.10	1.00	2.7	分化少 生长弱

2.3 生根培养

从表 2 看出, 当 IBA 浓度为 0 或 0.4 mg/ L 组合时, 平均生根率普遍下降, 随着 IAA 浓度增加, 根部愈伤组织较大, 所生根直接着生在愈伤组织上, 不利于试管苗移栽成活。当 IBA 浓度为 0.2 mg/ L, 平均生根率及平均根长随 IAA 浓度增加而提高, 超过 0.6 mg/ L 时生根率反而下降, 出现愈伤组织。因此, 生根效果以 1/ 2MS+ 0.2 mg/ L IBA+ 0.6 mg/ L IAA 的培养基为最好, 生根率高达 90.5%, 且株均生根条数最多, 根系最长, 生根时间最短(图 1-c,d)。

表 2 不同比例的 IBA 和 IAA 浓度对生根的影响

IBA/ mg ° L-1	IAA/ mg ° L-1	平均生根率 %	生根天数/ d	平均根长/ cm
0	0.2	15.8	11	0.7
	0.4	23.5	10	0.9
	0.6	37.8	9	0.8
	0.8	72.3	9	1.5
0.2	0.2	45.6	11	1.2
	0.4	74.2	10	1.3
	0.6	90.5	9	1.8
	0.8	63.2	10	1.3
0.4	0.2	36.4	11	1.6
	0.4	77.1	10	1.4
	0.6	56.5	10	1.7
	0.8	37.8	9	1.6

3 结论

研究以 MS 为基本培养基, 以“新冠”田间树体茎尖为外植体, 获得了无菌培养材料, 研究了不同的激素对比对增殖培养的影响以及不同生长素组合对试管苗生根的影响, 确定了“新冠”苹果茎尖组织培养合适的培养基。接种在 MS+ 0.1 mg/ L NAA+ 1.5 mg/ L 6-BA 培养基上的茎尖, 萌发率和腋芽的生长均优于其他培养基, 是“新冠”苹果茎尖诱导较适宜的培养基。MS+ 1.0 mg/ L 6-BA+ 0.05 或 0.08 mg/ L NAA 的培养基增殖效果最好, 可以作为“新冠”苹果茎尖组织培养的继代培养基, 具体使用时针对不同的需要进行选择。进行生根培养时, 整体上看当 IBA 为 0.2 mg/ L 时植株生根情况较好, 以 1/ 2MS+ 0.2 mg/ L IBA+ 0.6 mg/ L IAA 培养基的诱根效果最好, 无愈伤组织, 根系粗壮, 生根率高达 90.5%。不加 IBA 的外植体的根系则较细弱, 且生根率低, 不利于生根培养。

参考文献

[1] 王淑杰, 王连君, 王家民 等. 果树抗寒性研究进展[J]. 北方园艺, 1998(5): 28-29.
[2] 王晓红. 抗寒苹果矮化砧研究现状及发展方向[J]. 北方园艺, 1998(1): 42-43.
[3] 王培录, 李惠军, 曹兵, 等. 抗寒苹果品种——新冠引种栽培试验初报[J]. 宁夏农林科技, 2000(4): 17-18.
[4] 李国萍, 廖庆安, 凌一章. 新冠苹果适宜授粉品种的选择[J]. 新疆农业科学, 1994(4): 172-174.

马铃薯品种大西洋试管苗愈伤诱导研究

贺学勤, 蒙美莲, 李巧玲

(内蒙古农业大学 农学院 内蒙古 呼和浩特 010019)

摘 要:为筛选适合加工型马铃薯大西洋试管苗诱导愈伤的器官来源和培养基,以大西洋试管苗的叶和茎段为材料,分别在3种培养基上进行愈伤诱导,比较接种后10、20和40 d的出愈率及愈伤组织外观。结果表明:在接种10 d和20 d时大西洋茎段诱导愈伤的速度和出愈率均高于叶片的,在接种40 d时3种培养基均可诱导出大量的愈伤,但以MS添加3 mg/L 2,4-D和0.2 mg/L KT的培养基上诱导产生的愈伤速度快、颜色亮黄、外观疏松且在随后的继代培养中不随培养时间延长而产生褐化现象。

关键词:马铃薯;愈伤组织;诱导

中图分类号:S 532.035.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2009)02—0101—03

大西洋(Atlantic)是目前国内外主要的马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)炸片加工用品种之一,具有产量高、食味好、油炸成品质量好等优良性状,但同时也表现出晚疫病抗性差、适应性差、大薯空心等明显缺陷^[1]。由于马铃薯栽培种基因库贫乏,缺乏抗逆性基因,因此用常规方法已很难选育出高水平的品种^[2]。通过采用辐射和化学诱变大西洋体细胞无性系,对改良大西洋不良性状具有广阔的应用前景。

愈伤组织是辐射及化学诱变的材料来源之一,由于愈伤组织是大量的单个细胞组成,诱变后由愈伤组织上长出的小苗为同质突变体,因此获得良好的愈伤组织是前提。目前以不同马铃薯品种的茎^[3-5]、叶^[4,6]、块茎^[5,7]等为材料在不同的培养基上诱导出了愈伤组织,但对于大西洋而言,采用何种器官何种培养基才能快速诱导出高质量的愈伤组织,尚无可供参考的资料。因此研究以大西洋试管苗的茎段和叶片为材料,分别在3种培养基上进行愈伤诱导,以期明确大西洋试管苗不同器官诱导愈伤的效果,以及诱导愈伤的合适培养基。

1 材料与方法

1.1 材料

以内蒙古农业大学农学院马铃薯研究室保存的大西洋脱毒试管苗为材料。

第一作者简介:贺学勤(1970-),女,博士,副教授,现从事作物遗传育种研究工作。E-mail: hexueqin2002@yahoo.com.cn。
基金项目:内蒙古农业大学博士启动基金资助项目(BJ04-46);内蒙古自治区高等学校科学研究资助项目(NJ06103)。
收稿日期:2008-09-19

[5] 周萍,司少鹏.嘎啦苹果的茎尖组织培养[J].江苏林业科技 1996 23 (4): 51-52.

Shoot-Tip Tissue Culture of Cold-Resistant *Malus Xinguan*

ZHANG Hu-ping¹, ZHANG Zhi-ming¹, FAN Xian-wei², ZHANG Lu-xia¹, MA Bing-gang¹

(1. Department of Horticulture, College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China; 2. Guangxi Key Laboratory Subtropical Bioresources Conservation and Utilization, College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530005, China)

Abstract: The effect of different phytohormone ration on the multiplication and rooting of shoot-tip explants from *Malus Xinguan* were studied. The results indicated that the most suitable induced medium was MS+0.1 mg/L NAA+1.5 mg/L 6-BA; the most suitable multiplication medium was MS+1.0 mg/L 6-BA+0.05 or 0.08 mg/L NAA, the multiplication index was 7.4; the best rooting media was 1/2MS+0.2 mg/L IBA+0.6 mg/L IAA, the rooting rate was 90.5%.

Key words: *Malus Xinguan*; Shoot-tip tissue culture; Multiplication culture; Rooting culture