

沂州木瓜初代培养技术研究

杨凤玲

(临沂大学 实验中心, 山东 临沂 276000)

摘 要:利用沂州木瓜新长出 10 d 左右的嫩茎为外植体,采用不同消毒剂、灭菌时间、不同浓度 6-BA 对其进行初代培养试验。结果表明:沂州木瓜最佳消毒药剂及时间是 70%酒精 10 s+0.1%升汞 2~4 min。当 NAA 浓度为 0.05 mg/L 时,沂州木瓜试管苗生长适宜的 6-BA 浓度为 0.5 mg/L。

关键词:沂州木瓜;细胞分裂素;丛生芽;外植体

中图分类号:S 661.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)17-0144-02

沂州木瓜为蔷薇科木瓜属皱皮木瓜种 (*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai) 或 (*C. lagenaria* (Loised) Koidz.)^[1]。多年生落叶灌木,已有二千多年的历史,为我国北方木瓜中别具特色的可食性珍贵品种。沂州木瓜适应性强,病虫害少,耐粗放管理,极具观赏价值,是园林绿化的理想树种^[2-3]。

沂州木瓜中含有丰富的蛋白质、矿物质、维生素和 17 种氨基酸,每 100 g 鲜果中含各种氨基酸 529 mg,含钙 24.79 mg,磷 6.04 mg,铁 4.53 mg,以及锌、锰、铜、钴、硒等元素;还含有维生素 C 96.80 mg,维生素 E 1.75 mg,维生素 A 6.35 mg;特别是维生素 C 和 E 的含量以及钾、磷、铁、锌、硒的含量均高于苹果、梨,是一种高级保健水果^[4-5]。

沂州木瓜常规繁育主要采用播种、扦插和嫁接^[6-9],繁育速度较慢,为了加快该优良品种的推广进程,研究沂州木瓜的快繁技术具有重要意义。一般来说,无论何种类型的组织培养技术,起始阶段均涉及外植体取材、灭菌、接种与培养等基本过程。取得的外植体通过一些消毒剂来杀死植物材料表面的微生物,还应尽可能保持植物材料的生命力。由于沂州木瓜获得无菌培养物有一定难度,所以该研究对沂州木瓜初代组织培养过程中影响的因素进行了研究,为该优良品种的快速推广奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

外植体取自河东区汤河,品种为“罗扶”,选取新长

出 10 d 左右的嫩茎。

1.2 试验方法

1.2.1 不同消毒剂的使用效果 选择健壮无病的嫩梢条,先用流水冲洗除去表面污物,然后用毛刷蘸去污粉洗刷。冲洗干净后用 0.1% HgCl₂、2% 次氯酸钠、10% 过氧化氢、70% 酒精(10 s)+0.1% HgCl₂ 分别进行消毒处理 5 min,以找出最佳消毒药剂。

1.2.2 不同灭菌时间对灭菌效果的影响 先将外植体用 70% 酒精处理 10 s,然后用 0.1% HgXCl₂ 分别消毒 6、4、2、1 min;污染率=(污染外植体数/接种外植体数)×100%;成功率=(萌芽不污染外植体数/接种外植体数)×100%。

1.2.3 不同浓度 6-BA 对外植体生长的影响 以 MS 为基本培养基,附加蔗糖 30 g/L,琼脂 7 g/L,pH 5.8,附加 NAA 0.1 mg/L,设计 6-BA 浓度为 0.1、0.5、1.0、1.5 mg/L,共 4 个处理,3 次重复,每瓶接种外植体 3 个,培养 30 d,调查沂州木瓜试管苗的生长情况。按常规方差分析方法进行数据处理。

1.3 培养条件

培养温度(25±2)℃,日光灯照射时间 12 h/d 左右,光照强度为 2 000 lx 左右。

2 结果与分析

2.1 沂州木瓜外植体不同消毒剂的使用效果

由表 1 可看出,将茎段用 70% 的酒精浸 10 s,然后用 0.1% HgCl₂ 5 min 消毒效果最好。但是对植物体的毒害性比较大,说明灭菌时间有点长。在多种植物组织培养过程中,都可以用 0.1% HgCl₂ 来消毒,且效果较好。而用次氯酸钠、溴水消毒虽然有一定的成活率,但污染率较高,分别达 50% 和 66.7%。

作者简介:杨凤玲(1978-),女,山东临沂人,硕士,讲师,现从事园林植物相关科研工作。E-mail:yangfengling@lyu.edu.cn。

收稿日期:2011-05-24

表 1 不同消毒剂对沂州木瓜外植体消毒效果的影响

处理	外植体总数/个	死亡数/个	成活数/个	成功率/%	污染数/个	污染率/%
0.1% HgCl ₂ 5 min	30	30	0	0	0	0
2% 次氯酸钠 5 min	30	27	3	10	15	50
10% 过氧化氢 5 min	30	27	3	10	20	66.7
70% 酒精(10 s)+0.1% HgCl ₂ 5 min	30	20	10	33.3	0	0

2.2 不同灭菌时间对外植体灭菌效果的影响

由表 2 可看出,随着消毒时间的延长,初代培养物的污染率下降。从消毒 1 min 到 2 min 时,污染率急剧下降,之后污染率趋向缓和,当消毒时间达到 6 min 时,绝大多数病原菌已被杀死,但褐化现象严重。故对

表 2 0.1% HgCl₂ 不同消毒时间的消毒效果

处理	外植体总数/个	死亡数/个	成活数/个	成功率/%	污染数/个	污染率/%	褐化情况
70% 酒精 10 s+0.1% HgCl ₂ 6 min	60	48	10	16.6	2	3.3	严重
70% 酒精 10 s+0.1% HgCl ₂ 4 min	60	26	30	50	4	6.7	无
70% 酒精 10 s+0.1% HgCl ₂ 2 min	60	25	33	55	4	6.7	无
70% 酒精 10 s+0.1% HgCl ₂ 1 min	60	25	24	40	11	18	无

2.3 不同浓度 6-BA 对沂州木瓜外植体生长的影响

试管苗的形成不仅取决于生长调节剂的浓度,还取决于生长调节剂之间的比例,该试验以 MS 为基础培养基,以生长素 NAA 和细胞分裂素作为供试因子,研究二者配合使用的效应,结果见表 3。*F* 测定结果表明,各处理间丛生芽数差异显著, $F=7.0^*(F_{0.05}=4.1)$ 。随着 6-BA 浓度增加,外植体丛生芽数均增加,但是超过 1.0 mg/L 时,当 6-BA 浓度为 1.5 mg/L 时,丛生芽数则减少;故以 6-BA 0.5 mg/L 时为最佳,达 4 个。因此,沂州木瓜外植体生长分化的最适 6-BA 浓度为 0.5 mg/L。

表 3 6-BA 浓度对沂州木瓜外植体的影响
(附加 NAA 0.05 mg/L)

处理号	BA/mg·L ⁻¹	丛生芽数/个	<i>F</i> 检验
1	0.1	2	7.0*
2	0.5	4	
3	1.0	3	
4	1.5	2.3	

3 结论与讨论

沂州木瓜外植体用 70% 的酒精浸泡茎段 10 s,然后用 0.1% HgCl₂ 消毒效果最好,消毒时间 2~4 min。以 MS 为基本培养基,附加 NAA 0.05 mg/L、6-BA 0.5 mg/L、蔗糖 30 g/L、琼脂 7 g/L,培养 30 d,沂州木瓜的

于沂州木瓜初代培养的外植体用 0.1% HgCl₂ 消毒时,消毒时间以 2~4 min 为宜,但处理过的材料要经过多次冲洗才可残留的药剂除尽,一般用无菌水冲洗至少 5 次。通常材料消毒后,将剪口与药剂接触的部分剪去再接种。

初代培养生长最佳。

试验中的褐变现象不只与消毒时间有关,也与外植体基因型、幼嫩程度、残留消毒液多少等因素有关,因此,在实际应用中,可根据外植体幼嫩程度,可适当延长或缩短消毒时间。沂州木瓜组织培养的基本培养基的选择以及不同基本培养基和植物生长调节剂组合对初代培养的影响有待于进一步研究。

参考文献

[1] 郑万钧. 中国树木志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1989: 1027-1030.
[2] 刘宏斌. 花香鸟语[J]. 园林, 2003(2): 51.
[3] 管恩桦, 王瑞良, 张雷, 等. 适合园林绿化的果树品种-沂州木瓜[J]. 烟台果树, 2008(2): 35-36.
[4] 王绍美, 何照范, 郁建平. 木瓜营养成分分析[J]. 营养学报, 2000, 20(2): 190-192.
[5] 唐春红, 叶志义, 项昭保, 等. 木瓜营养保健作用研究动态[J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(4): 97-100.
[6] 周根土. 宣木瓜丰产栽培技术[J]. 经济林研究, 2003, 21(4): 85-86.
[7] 刘大勇, 于万俊, 赵翠华, 等. 曹州木瓜早实丰产栽培技术[J]. 烟台果树, 2003(1): 45.
[8] 佟金红, 许金兰, 许国臣, 等. 木瓜引种栽培试验初报[J]. 河北林业科技, 2003, 2(4): 3-5.
[9] 刘贵利, 徐同印. 皱皮小瓜的栽培技术[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(5): 319-320.

Studies on the Initial Culture Technology of Yizhou Pawpaw

YANG Feng-ling
(Experiment Center, Linyi University, Linyi, Shandong 276000)

Abstract: The 10 days new buds of Yizhou pawpaw were used as the explants. These explants were cultured primarily with different disinfectors and different sterilizing time and different concentration of 6-BA. The results showed that it was the best for the explants to treat with 70% alcohol for 10 s and 0.1% HgCl₂ for 2~4 min. When the concentration of NAA was 0.05 mg/L, the suitable concentration of 6-BA for Yizhou pawpaw test-tube plantlet growth was 0.5 mg/L.

Key words: Yizhou pawpaw; cytokinin; multiple shoots; explant