

梨矮化砧木云南槲栎离体快繁研究

徐凌飞, 李致慧, 贾东峰, 李 慧

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以梨矮化砧木云南槲栎的茎段为外植体,进行了离体快繁研究。结果表明:茎芽增殖的适宜培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L 或 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L,增殖系数分别为 3.65 和 3.58,并且试管苗长势健壮;云南槲栎不定根诱导的适宜培养基为 1/2MS+NAA 0.3 mg/L,生根苗移栽成活率为 92%。

关键词:梨;矮化砧木;云南槲栎;离体快繁

中图分类号:S 661.204⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)05-0113-03

矮化栽培是现代果树栽培的发展趋势,利用矮化砧木是实现矮化栽培的重要途径。槲栎(*Cydonia oblonga* Mill.)是欧洲在西洋梨上广泛应用的矮化砧^[1]。梨矮化砧木在我国梨的密植栽培中尚未广泛应用,其主要原因是没有适宜的矮化砧木^[2]。陕西应用云南槲栎作为基础,以西洋梨品种“哈代”作为亲和中间砧在其上嫁接砧山酥梨、早酥梨等,相比以杜梨为砧木的乔化栽培,表现树体矮小、结果早、品质优等特点^[3]。目前国内外槲栎组织培养主要集中在槲栎 BA-29^[4]、槲栎 A^[5]和新疆苹果型槲栎^[6]等材料。云南槲栎繁殖采取扦插繁殖^[7],尚未见到离体快繁研究的报道。以云南槲栎幼嫩茎段为外植体,系统进行茎芽增殖、生根和移栽研究,以期云南槲栎无性快速繁殖和无性系选择研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2009年5月,在西北农林科技大学梨种质资源圃采集2a生云南槲栎植株嫩梢部分。剪取其10~15cm长的嫩梢,去掉叶片,带回实验室备用。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌苗的培养 将采集的嫩梢剪成5cm左右长的茎段,用流水冲洗30~60min,在超净工作台内用70%的酒精浸泡30s,再用0.1% HgCl₂溶液灭菌8min,最后用无菌水摇晃冲洗3次,然后将嫩梢剪成1.5cm左右长的带腋芽茎段,接入MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA

0.3 mg/L的初代培养基中,每瓶接种2个茎段。初代培养25d后,用镊子小心取出试管苗,切成1.5~2.0cm带芽茎段,接种到继代培养基MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1~0.3 mg/L中,每瓶接3~4茎段。

1.2.2 茎芽的增殖培养 选取继代培养同一批生长期30d左右的、长势好的试管苗,将其切成1.5~2.0cm带芽茎段接入各种不同成分的增殖筛选培养基中,每种处理最少接10瓶,每瓶接种3个茎段,试管苗培养30d后,观察试管苗生长状况,统计其增殖系数及试管苗高度。增殖系数=植株大于1cm长的分支/接种时茎段的数量×100%。

1.2.3 生根培养和试管苗移栽 切取3~4cm的试管苗茎段,接种到生根培养基上,30d后统计生根率和生根条数等。然后将长势好的生根苗转入练苗室进行练苗,瓶内练苗5d后,移栽入基质中练苗,15d试管苗已发新根,统计成活率。生根率=生根植株数/接种茎段总数×100%;生根条数为植株基部诱导出的第一级根的条数;移栽成活率=移栽成活数/移栽生根苗数×100%。

1.2.4 培养条件 以上培养基pH均为5.8,蔗糖30g/L,琼脂7g/L,培养条件为温度(25±2)℃,光照时间16h/d,光照强度1800lx。

1.2.5 统计分析 数据运用DPS数据分析软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 茎芽增殖

2.1.1 不同浓度6-BA和IBA组合对茎芽增殖的影响

由表1可看出,不同浓度6-BA和IBA的组合对云南槲栎茎芽增殖有不同的影响。增殖系数最高的是3.65,最低的是1.88。当6-BA浓度不变,为0.5mg/L或

第一作者简介:徐凌飞(1969-),男,博士,副教授,现主要从事梨树种质资源和生物技术改良研究工作。E-mail: lingxu@yahoo.com。

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-29-40)。

收稿日期:2011-12-02

2.0 mg/L时,不同浓度的 IBA 处理之间的增殖系数没有显著差异,6-BA 浓度过低或过高都不适宜云南槲栎茎芽增殖。IBA 对茎芽增殖有重要影响,缺乏 IBA 组合的茎芽增殖系数较低。适宜的茎芽增殖培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L,增殖系数最高,达到 3.65,试管苗平均高度为 2.35 cm,试管苗生长健壮。

表 1 不同浓度的 6-BA 和 IBA 组合对云南槲栎茎芽增殖的影响

激素组合/mg·L ⁻¹		增殖系数	平均苗高/cm
6-BA	IBA		
0.5	0.0	2.35 def	2.39
0.5	0.1	2.55 cdef	3.08
0.5	0.3	2.15 ef	2.63
0.5	0.5	2.20 ef	2.74
1.0	0.0	2.00 f	2.64
1.0	0.1	2.02 f	2.53
1.0	0.3	3.65 a	2.35
1.0	0.5	3.09 abc	2.70
1.5	0.1	1.88 f	3.54
1.5	0.3	2.34 ef	2.47
1.5	0.5	2.69 bcde	2.21
2.0	0.1	3.03 abcd	2.19
2.0	0.3	3.25 ab	2.77
2.0	0.5	3.23 ab	2.00

注:不同小写字母表示差异达 0.05 显著水平,下同。

2.1.2 不同浓度的 6-BA 和 NAA 组合对茎芽增殖的影响 由表 2 可知,6-BA 1.0 mg/L 与不同浓度 NAA 组合的增殖系数均低于 6-BA 0.5 mg/L 与不同浓度 NAA 组合。云南槲栎茎芽增殖适宜培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L,增殖系数最高,达到 3.58,平均苗高为 3.23 cm,并且试管苗健壮,长势好。

表 2 不同浓度的 6-BA 和 NAA 组合对云南槲栎茎芽增殖的影响

激素组合/mg·L ⁻¹		增殖系数	平均苗高/cm
6-BA	NAA		
0.5	0.1	2.87 ab	2.83
0.5	0.3	3.45 ab	2.93
0.5	0.5	3.58 a	3.23
1.0	0.1	2.64 b	2.51
1.0	0.3	2.79 b	2.76
1.0	0.5	2.66 b	2.45

2.2 生根

附加不同浓度 IBA、NAA 于 1/2MS 培养基上,进行生根诱导。由表 3 可知,当培养基没有附加生长素时,生根率为零;附加 IBA、NAA 均有生根。说明生长素对云南槲栎试管苗生根是必需的。单独使用 NAA 时,生根率普遍较高,平均生根率及平均生根数明显高于单独使用 IBA 或者 IBA 与 NAA 的组合。NAA 浓度为 0.1~0.5 mg/L 的各处理中,0.3 mg/L 的 NAA 处理生根率高,并且根粗,须根密。

表 3 不同浓度的 IBA、NAA 及二者组合对云南槲栎生根的影响

激素组合/mg·L ⁻¹		平均生根率/%	平均生根数/条
IBA	NAA		
0.0	0.0	0.0	0.0
0.1	0.0	45.8	2.55
0.3	0.0	12.5	1.67
0.5	0.0	12.5	2.00
0.0	0.1	54.2	2.62
0.0	0.3	62.5	1.86
0.0	0.5	41.7	3.00
0.1	0.1	33.3	1.86
0.1	0.3	28.6	1.67
0.3	0.1	5.6	3.00
0.3	0.3	27.8	2.19

2.3 移栽

将生根苗转入练苗室进行练苗,瓶内练苗 5 d 后,移栽入基质进行覆盖保湿。移栽 15 d 后,成活的移栽苗有新根发出,茎杆逐渐直立、叶片平展、长势健壮,试管苗移栽成活率为 92%。

3 结论与讨论

茎芽增殖是微繁的关键时期,微繁的失败多数都是在这个时期发生的^[8],该研究表明,6-BA 与 NAA、IBA 不同浓度组合对云南槲栎的试管苗增殖有着重要的影响。6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L 组合的试管苗增殖系数为 3.65,6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 组合的增殖系数为 3.58,二者的试管苗长势均较好,均可以作为云南槲栎茎芽增殖的适宜培养基,但 6-BA 的浓度有一定差异,说明试管苗增殖和生长不仅与激素种类和浓度有关,还与不同激素的相对比例密切相关。

生根时一般应用一种生长素 IBA 或 NAA,也有使用 2 种生长素配合提高生根率。李云等^[9]研究表明,IBA 和 NAA 配合有利于四倍体宽叶刺槐无性系生根,最适的组合是 IBA 0.4 mg/L+NAA 0.25 mg/L。但对于云南槲栎试管苗生根,IBA 和 NAA 组合并不能提高生根率,单一生长素 NAA 生根效果好,这与材料的基因型有关。

参考文献

- [1] Schuch M W, Cellini A, Masia A, et al. Aluminium-induced effects on growth, morphogenesis and oxidative stress reactions in *in vitro* cultures of quince[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 125: 151-158.
- [2] 徐凌飞, 尚晓峰, 邓丰产, 等. 梨异属矮化砧密植栽培模式要点[M]//张绍铃. 梨产业技术研究与应用. 北京: 中国农业出版社, 2010: 315-317.
- [3] 徐明义, 姚芳玲. 矮化中间砧梨简介[J]. 农业科技与信息, 1996(10): 12.
- [4] D'Onofrio C, Morini S. Somatic embryo, adventitious root and shoot regeneration in *in vitro* grown quince leaves as influenced by treatments of different length with growth regulators[J]. Scientia Horticulturae, 2006, 107: 194-199.

激素配比对不同基因型番茄再生体系的调控

孙靖棣, 未晓巍, 蔡蕊, 周晓馥

(吉林师范大学 生物资源与环境信息吉林省高校重点实验室, 吉林 四平 136000)

摘要:以“粉桃”、“春秀”、“中蔬四号”、“齐研矮粉”、“红润”5种基因型番茄品种为试材,取7 d的无菌苗子叶作为外植体,研究不同激素配比对不同基因型番茄愈伤组织、不定芽及根诱导的影响。结果表明:不同基因型番茄再生体系受不同激素配比的调控差异显著。筛选得出愈伤组织诱导最佳培养基为:MSB₅+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2~0.5 mg/L;不定芽诱导最佳培养基为:MSB₅+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.15~0.50 mg/L;不定芽生根最佳培养基为:1/2MS+IBA 0.5 mg/L。

关键词:番茄;基因型;激素配比;再生体系

中图分类号:Q 943.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)05-0115-04

番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 系茄科 (Solanaceae) 番茄属 (*Lycopersicon*) 1 a 生或多年生草本双子叶植物,具有营养丰富,生长周期短,遗传背景较清楚等优点,是基因工程研究中重要的模式植物。

番茄再生体系的建立是成功进行遗传转化的前提和保障。据国内外研究报道,番茄外植体离体培养受到

激素及基因型^[1]的影响,在相同的培养基上不同基因型的番茄生长状态存在差异^[2-4]。也有研究发现,番茄外植体的选择与再生体系的建立也存在着密切的关系^[5]。为了使番茄植株再生体系得到进一步的优化,该研究以“粉桃”、“春秀”、“中蔬四号”、“齐研矮粉”、“红润”为试材,选取番茄子叶为外植体,系统地研究了供体基因型以及植物激素浓度配比对番茄再生体系的影响,以期建立一套优化的组织培养和再生体系,为进一步的番茄基因工程提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以番茄基因型“粉桃”、“春秀”、“中蔬四号”、“齐研矮

第一作者简介:孙靖棣(1981-),女,在读硕士,研究方向为番茄遗传转化。E-mail: wxw0610616@126.com。

责任作者:周晓馥(1964-),女,博士,教授,硕士生导师,现主要从事植物基因工程的研究工作。E-mail: zhouxiaofu@jlnu.edu.cn。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30970219)。

收稿日期:2011-12-08

[5] 魏国芹,戴洪义,孙玉刚,等. 椴椴离体培养繁殖的研究[J]. 山东农业科学, 2010(1): 5-9.

[6] 秦伟,韩晶,马生军,等. 椴椴子叶不定芽再生研究初报[J]. 新疆农业大学学报, 2008, 31(5): 28-30.

[7] 徐凌飞,刘亚杰,李慧,等. 梨矮化砧木云南椴椴硬枝扦插繁殖试验

[J]. 北方园艺, 2011(17): 54-55.

[8] 李凌明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.

[9] 李云,田砚亭,钱永强,等. NAA 和 IBA 对四倍体刺槐试管苗生根影响及不定根发育过程解剖观察[J]. 林业科学, 2004, 40(3): 75-79.

Study on *in vitro* Propagation of Yunnan Quince as a Dwarf Rootstock of Pear

XU Ling-fei, LI Zhi-hui, JIA Dong-feng, LI Hui

(College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: The stem segments with axillary buds of Yunnan quince were used as the explants to develop *in vitro* propagation protocol. The results indicated that the optimal shoot multiplication medium was MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L or MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L, the multiplication rate was 3.65 and 3.58, and the new shoot was strong. The suitable rooting medium was 1/2MS+NAA 0.3 mg/L. The survival percentage was 92% when rooting plantlets were transplanted in soil.

Key words: pear; dwarf rootstock; Yunnan quince; *in vitro* propagation