

黄桃新品种‘黄金魁’再生植株的获得

杨宗芳, 孟庆杰, 王光全, 王洪霞, 孔维龙

(聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252059)

摘要:以黄桃新品种‘黄金魁’的带芽茎段为外植体,通过筛选不同的培养基,研究得出‘黄金魁’再生植株的最佳培养组合。结果表明:70%酒精表面消毒 15 s,无菌水冲洗 3 次,0.1%升汞处理 10 min 的灭菌效果最好;芽诱导的适宜培养基为 WPM+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L;幼芽形成根的最佳培养基为 WPM+IBA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,获得了‘黄金魁’桃的再生植株。该研究结果为黄桃的快速繁殖及育种奠定了基础。

关键词:‘黄金魁’黄桃;组织培养;激素

中图分类号:S 662.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)09-0113-03

‘黄金魁’桃是聊城大学选育的罐藏黄桃新品种。‘黄金魁’果实大,平均单果重 287.7 g,最大单果重 585 g,近圆形,果顶圆平。果形整齐匀称,金黄色,其向阳面也无红晕出现,外观靓丽。果肉金黄色,硬溶质,有香气,果实硬度 10.65 kg/cm²,抗挤压、耐贮运。果核较小,粘核,近核处无红色素。加工成熟含可溶性固形物 12.0%~13.5%,鲜食成熟果可溶性固形物 15.5%,可溶性糖 12.5%~14.6%,有机酸含量较低为 0.28%,鲜食香甜浓郁;蛋白质为 0.65%;胡萝卜素 2.18 mg/100g 果肉;维生素 C 含量高达 8.86 mg/100g 果肉,是一般鲜食白桃(3~5 mg/100g 果肉)的 2~3 倍;果实可食率 93.5%,高出一般黄桃 3~4 个百分点。罐藏加工性能良好,成品罐头块形整齐,果块大,边缘光滑,金黄一致,有光泽,色卡 8 级,核窝小,肉肥厚,肉质细腻,软硬适度,酸甜适口,香味浓厚诱人。加工利用率高达 80%,超过‘锦绣’、‘丰黄’、‘金童’等黄桃的 15%以上。

‘黄金魁’桃为小乔木,树姿开张,树势较强,发枝力高。具有易成花、结果早、易丰产、见效快、易管理、经济效益高等特点。抗旱性强,对疮痂病和细菌穿孔病有极明显的抗性,正常管理基本不发病,对蚜虫、叶螨类抗性亦较强。

该研究旨在通过‘黄金魁’桃培养基的大量筛选和

改进,建立黄桃高效快繁再生体系,为新优黄桃品种的快繁推广、转基因育种以及桃的脱毒,提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物材料 聊城大学果树种质资源基地的‘黄金魁’品种。3~4 月份,分别取‘黄金魁’当年生的幼嫩枝条带芽茎段为外植体。

1.1.2 WPM 培养基母液 母液配制参考孙敬三等^[1]的方法。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体材料的灭菌 将剪取的‘黄金魁’桃外植体材料,先用洗洁精溶液浸泡 15 min 后,于自来水下冲洗 2 h。然后在超净工作台上,用 70%的酒精表面灭菌,无菌水冲洗 3 次,然后用灭菌剂处理,用无菌水冲洗 5 次。以 70%的酒精消毒时间和 0.1%的升汞、10%的次氯酸钠 2 种灭菌剂为影响因素分别对外植体进行处理(表 1)来获得灭菌效果最佳的处理方式。灭菌完再用无菌滤纸吸干材料表面的水分,备用。2 周后观察统计外植体的污染情况和存活情况。

1.2.2 芽诱导培养基的筛选 以 WPM 为基本培养基,附加不同浓度的 IBA 和 6-BA 激素组成处理组合,各培养基中均加入蔗糖 30 g/L,琼脂 7 g/L,pH 5.8。将灭菌处理的外植体材料接种到各培养基上,光照强度 2 000 lx,光照时间 14 h/d,温度(25±2)℃。4 周后观察统计‘黄金魁’培养材料生长增殖情况。

1.2.3 生根培养基的筛选 在 WPM 基本培养基中附加不同浓度的 IBA 和 NAA 激素,各培养基中均加入蔗糖 20 g/L,琼脂 7 g/L,pH 5.8。将诱导增殖得到的幼芽接种到各培养基上,光照强度 2 000 lx,光照时间 10 h/d,

第一作者简介:杨宗芳(1987-),女,山东莱州人,在读硕士,研究方向为资源植物与演化植物。E-mail:xiuzhudd@yahoo.com.cn。

责任作者:王光全(1957-),男,本科,教授,研究方向为园艺植物种质资源。E-mail:wqg@luc.edu.cn。

基金项目:山东省“十一五”农业科技成果转化基金资助项目(鲁科农(2010)79 号);山东省科技攻关资助项目(2009GG10009031);聊城大学重点科研基金资助项目(X071006)。

收稿日期:2012-02-16

温度(23±2)℃。3周后观察统计生根状况。

1.2.4 再生植株的练苗与移栽 将生根的幼苗先练苗2~3 d,取出冲洗去基部带出的残留培养基,移栽入高温灭菌过的细沙中,待长出新根后转移至苗圃中。

2 结果与分析

2.1 不同灭菌方式对外植体的影响

外植体材料的灭菌处理是组织培养的起始环节,也是重要环节。外植体材料灭菌的基本要求是既要有效地杀死材料表面的全部微生物,又要不伤害材料,因为表面灭菌剂对植物组织也是有害的^[2]。由表1可看出,用70%的酒精消毒15 s的成活率明显高于消毒45 s的,0.1%的升汞和10%的次氯酸钠灭菌效果相比较,0.1%升汞的效果明显优于10%次氯酸钠的。综合考虑以上因素先用70%酒精表面灭菌15 s,无菌水冲洗3次,再用0.1%的升汞灭菌10 min的处理方式对外植体进行灭菌。经过多次试验发现将灭菌后接种前的外植体材料的切口部位切掉可减小表面灭菌剂的影响。

表1 不同灭菌方式对外植体的影响

处理 编号	70%酒精处 理时间/s	灭菌剂处理时间/min		接种数	污染率 /%	成活率 /%
		0.1%升汞 灭菌	10%次氯酸 钠灭菌			
1	15	0	10	40	65	82
2	45	0	10	40	27	38
3	15	10	0	40	23	78
4	45	10	0	40	10	26

2.2 不同浓度的6-BA和IBA对芽诱导的影响

由外植体诱导不定芽的过程中,生长激素的浓度比是一个重要的影响因素。采取不同的6-BA和IBA浓度组合,研究观察对‘黄金魁’桃芽的诱导的影响,由表2可看出,6-BA和IBA不同浓度的组合对‘黄金魁’桃芽的诱导有很大的影响,6-BA浓度在0.5~2.0 mg/L茎段芽的诱导率随6-BA浓度的升高而有所升高,当6-BA浓度为2.0 mg/L时,诱导率最高达70%;在6-BA浓度相同时,茎段的诱导率随IBA浓度的升高而升高;随着6-BA浓度的升高单株诱导增殖出的幼芽的个数也是升高的,推测6-BA对诱导芽分化增殖的数量有正相关影响。因此,综合各方面的因素评价‘黄金魁’黄桃茎段诱导的最佳培养基为WPM+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂7 g/L,pH 5.8。

表2 不同浓度的6-BA和IBA对芽诱导的影响

处理	6-BA浓度 /mg·L ⁻¹	IBA浓度 /mg·L ⁻¹	芽诱导率/%	增殖情况
1	0.5	0.1	17	单株增殖1个芽
2	0.5	0.5	23	单株增殖1个芽
3	1.0	0.1	22	单株增殖1个芽
4	1.0	0.5	31	单株增殖1个芽
5	1.5	0.1	45	单株增殖2个芽
6	1.5	0.5	56	单株增殖2个芽
7	2.0	0.1	59	单株增殖3个芽
8	2.0	0.5	70	单株增殖3个芽

2.3 不同浓度的IBA和NAA对幼芽生根的影响

将诱导得到的不定芽转入壮苗培养基^[3](WPM+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.01 mg/L,蔗糖20 g/L,琼脂8 g/L,抗坏血酸100 mg/L)壮苗培养3周后,使不定芽适应芽诱导培养基与生根培养基的环境差异后继续转入添加不同浓度的IBA和NAA的生根培养基中培养生根,由表3可看出,激素IBA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L的浓度组合生根率最高,并且根的质量较好。在IBA浓度不变时,NAA浓度的变化对生根率的影响不明显,但是随着NAA浓度的增加诱导出的根由细长向粗短方向发展,可以推测在诱导生根时NAA的作用主要是使根粗壮,提高根的质量。随着IBA浓度的提高,生根率明显提高,因此说明IBA浓度是诱导生根的主要影响因素,生根率随IBA浓度的提高而提高。综合考虑‘黄金魁’黄桃幼芽最佳生根培养基为WPM+IBA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖20 g/L+琼脂7 g/L,pH 5.8。

细胞分裂素一般与生长素有拮抗作用,能抑制根的形成,所以生根培养基中不添加细胞分裂素。

表3 不同浓度的IBA和NAA对幼芽生根的影响

处理	IBA浓度/mg·L ⁻¹	NAA浓度/mg·L ⁻¹	接种数	生根率/%	生根情况
1	0.5	0	30	16	根细小
2	0.5	0.2	30	23	根细小
3	0.5	0.4	30	18	根粗短
4	0.5	0.6	30	21	根粗短
5	0.5	0.8	30	15	根粗短
6	1.0	0	30	38	根细长
7	1.0	0.2	30	58	根健壮
8	1.0	0.4	30	33	根健壮
9	1.0	0.6	30	41	根粗短
10	1.0	0.8	30	36	根粗短

2.4 再生植株的练苗与移栽

诱导成功的再生植株需要逐步适应外界的环境。将再生植株培养瓶的瓶盖拧松练苗2~3 d后,用镊子取出冲洗掉基部残留的培养基,移栽到经高温灭菌过的细沙基质中盖上薄膜保持湿度4~5 d,以后逐渐降低湿度。待植株开始生出新叶后即可移栽到苗圃中。10 d后观察统计平均成活率为75%。

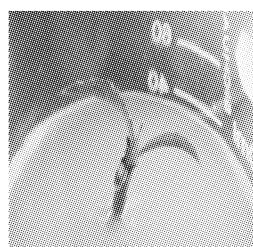


图1 诱导发芽的‘黄金魁’



图2 生根的‘黄金魁’再生植株

3 讨论

在选择外植体材料的过程中,秋、冬季的外植体材

料组培过程中污染率较高,不易继续诱导生长;早春的未萌动的休眠芽被鳞片层层包裹,在去鳞片过程中,易染菌,污染率较高^[3];夏季材料比冬季及早春和秋季的材料褐变的程度强^[4];因此最好选用早春当年生的幼嫩材料作为外植体。经多次重复试验得出早春的当年生幼嫩带芽茎段作为组织培养的外植体材料污染率低,生长旺盛,褐变较轻。VC是抗氧化剂,可有效抑制酶促的外植体褐变。一方面可以使多酚氧化酶失活而阻止酚类物质氧化;另一方面VC在酶催化下能消耗溶解氧,使酚类物质因缺氧而无法氧化。因此培养基中加入VC能够有效的防止褐变^[5]。该试验加入100 mg/L的抗坏血酸(VC)可有效抑制组培过程中的褐变。

铁元素是植物生长必需的微量元素之一,在组织培养中也是主要成分之一。受孙哲等^[6]的研究(表明柠檬酸铁对拟南芥下胚轴愈伤组织有良好的促进作用)启发,试验中用柠檬酸铁代替EDTA-Fe配制培养基,发现

含有柠檬酸铁的培养基上诱导得到的幼芽与含有EDTA-Fe的培养基上得到的幼芽相比,叶色深绿、叶宽且厚,说明柠檬酸铁对于离体组织的生长有一定的影响作用。但是具体作用原理尚不清楚,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 孙敬三,朱至清.植物细胞工程实验技术[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [2] 侯福林.植物生理学实验教程[M].北京:科学出版社,2004.
- [3] 郭伟伟,孟庆杰.‘黄金冠’桃组织培养的初步研究[J].北方园艺,2010(19):142-144.
- [4] 丰先红,李健.植物组织培养中褐变的研究进展[J].现代农业科技,2009(23):155-160.
- [5] 李新风,赵滢.植物组织培养褐化问题的研究进展[J].吉林农业,2010(1):66-67.
- [6] 孙哲,陈彦.不同铁盐对拟南芥下胚轴愈伤组织诱导的影响[J].聊城大学学报(自然科学版),2010(1):52-54.

Study on Plant Regeneration of New Peach Variety of ‘Huangjinkui’

YANG Zong-fang, MENG Qing-jie, WANG Guang-quan, WANG Hong-xia, KONG Wei-long
(School of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059)

Abstract: Taking stem section with bud from ‘Huangjinkui’ as experiment materials, the effect of different culture medium to bud and root induced were studied to get the best culture medium for ‘Huangjinkui’. The results showed that the best culture medium for germination was WPM + 6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L, and the best culture medium for striking root was WPM + IBA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L. This study got the regeneration plant and the results laid a foundation for the peach rapid breeding.

Key words: ‘Huangjinkui’ peach; tissue culture; hormone

黄 桃

1. **黄桃的介绍** 黄肉桃,俗称黄桃,属于桃类的一种,隶属于蔷薇科桃属,因肉为黄色而得名。黄桃的营养十分丰富,含有丰富的抗氧化剂(α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素、番茄黄素、番茄红素及维生素C,抗自由基等)、膳食纤维(果肉中的大量果胶是人体所需的纤维素,极易吸收等)、铁钙及多种微量元素(硒、锌等含量明显,高于其它水果,是果中之王)。黄桃食时软中带硬,甜多酸少,有香气、水分中等,成熟糖度14°~15°。常吃可起到通便、降血糖血脂、抗自由基、祛除黑斑、延缓衰老、提高免疫力等作用,也能促进食欲,堪称保健水果、养生之桃。

2. **品种分类和产地** 黄桃在中国西北、西南一带栽培较多,随着罐藏加工事业的发展,现华北、华东、东北等地栽培面积也日益扩大。主要特点:多数品种树姿偏直立,花芽着生部位高,果皮、果肉均呈金黄色至橙黄色,肉质较紧致密而韧,粘核者多。有:潼南黄桃、大连黄桃、荣成黄桃、上海光明黄桃。黄桃在3 000~4 000年前,在中国大地上已受到重视并已人工栽培,到秦汉时代,桃已培育出各种重要品种,延续繁衍成今天的黄肉桃种群。

3. **黄桃的营养价值** 黄桃含丰富的维生素C和大量的人体所需要的纤维素、胡萝卜素、番茄黄素、红素及多种微量元素。如硒、锌等含量均明显高于其它普通桃子,还含有苹果酸、柠檬酸等成分。锦绣黄桃的皮与果均显金黄色,甜多酸少,味道独特,每天吃2只可以起到通便、降血糖、血脂,抗自由基,祛除黑斑、延缓衰老、提高免疫功能等作用,也能促进食欲,堪称保健水果、养生之桃。

4. **贮藏加工** 由于黄桃极不耐储藏,除加工成罐头外,出口较为困难。冷冻黄桃的加工成本较低,国外市场用途广泛(可根据市场需求重新加工成罐头、桃汁、桃酱,也可直接用于甜点或冰点)因此倍受外商的欢迎。