

苹果矮化砧木新品系“矮砧 6 号”茎尖组培快繁研究

王 淼 淼, 马 晓 月, 张 学 英, 徐 继 忠

(河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071001)

摘 要:以苹果矮化砧木新品系“矮砧 6 号”茎尖为外植体,研究了培养基中不同植物生长调节剂配比对芽苗增殖和生根的影响,以筛选出适合“矮砧 6 号”茎尖组培快繁的培养基配方。结果表明:苹果矮化砧木“矮砧 6 号”茎尖用 0.1% HgCl_2 杀菌处理的适宜时间为 8 min;以 MS 为基本培养基,附加蔗糖 30 g/L、琼脂 6 g/L,适宜增殖培养的植物生长调节剂配比为 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05~0.10 mg/L,增殖系数可达到每 4 周 4.53 倍;有利于生根的继代培养基的植物生长调节剂配比为 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,适宜组培苗生根的植物生长调节剂为 IAA 1.0 mg/L+IBA 0.4 mg/L,平均生根率为 90%以上,平均生根数为 6 条左右,根系发达,移栽后成活率达 90%以上。

关键词:苹果;矮化砧木;茎尖培养;组培快繁;植物生长调节剂

中图分类号:S 661.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)22-0102-03

苹果矮化密植以其经济利用土地、早果丰产、果实产量高且品质好、易于管理、适于机械化作业等优点,已成为现代苹果生产发展的趋势^[1]。应用适宜的矮化砧木是实现矮化密植的主要途径之一,各国都应该因地制宜选育苹果矮化砧。中国目前苹果矮化砧木的主要利用方式为应用矮化中间砧^[2-3],而欧美等生产国主要推广矮化自根砧^[4],矮化自根砧苗木个体生长差异小,整齐一致^[5]。自根砧的无性繁殖方式主要有扦插、压条与组织培养等^[6]。与扦插、压条相比,利用组织培养技术繁育自根苗不受季节限制,短时间内可以获得大量的砧木苗。

河北农业大学苹果课题组从苹果矮化砧木 SH₄₀ 实生后代中选出的“矮砧 6 号”,作为中间砧嫁接的“红富

士”表现早花、矮化性好^[7],为尽快进行自根砧苗木的试验与示范,以及资源的离体保存,现以苹果砧木新品系“矮砧 6 号”为试材,采用茎尖培养的方法,建立其快繁体系,以期无病毒苗木生产打下基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2013 年 3 月 19 日,河北省顺平县试验园取“矮砧 6 号”未萌芽枝条,水培于光照培养箱内,隔天更换清水 1 次,待芽萌发后取大于 1.5 cm 的嫩梢,用流水冲洗干净备用。

1.2 试验方法

1.2.1 HgCl_2 处理时间对外植体灭菌效果的影响 将冲洗干净的材料放入三角瓶中在超净工作台上用 70% 乙醇消毒 30 s,然后用 0.1% 的 HgCl_2 溶液分别处理 6、8、10 min,共 3 个处理,再用无菌水洗涤 4~5 次,接种在 MS+蔗糖 30 g/L+琼脂 6 g/L+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L 的启动培养基上(表 1)。15 d 后统计污染率,25 d 后调查外植体成活情况。

1.2.2 6-BA 与 NAA 配比对组培苗继代增殖的影响 将组培苗的幼嫩茎段切成单芽茎段,接种在 MS 培养基+蔗糖 30 g/L+琼脂 6 g/L 附加不同浓度 6-BA、

第一作者简介:王淼淼(1989-),女,河北石家庄人,硕士研究生,研究方向为果树生物技术。E-mail:920487374@qq.com.

责任作者:张学英(1972-),女,博士,教授,现主要从事果树生物技术及果树栽培生理与生态等研究工作。E-mail:zhangxueying1996@163.com.

基金项目:河北省科技厅资助项目(14226307D-5);农业部公益性行业科研专项资助项目(201203075-05)。

收稿日期:2014-07-16

Abstract: Taking aseptic rose stem segments as materials and MS as basal medium, effect of exogenous 6-BA, TDZ on rose stem proliferation, TDZ and NAA on plant height and internode, active carbon concentration on rooting were explored. The results showed that 6-BA 4.0 mg/L had a maximum bud proliferation, so MS+6-BA 4.0 mg/L+active carbon 0.6 g/L was the optical proliferation medium. When TDZ was 1.0 mg/L, NAA was 0.05 mg/L, seedling had the maxium height of 5.02 cm and internode 0.40 cm. The optimum rooting medium was 1/2 MS+active carbon 1.0 g/L with a 92.9 rooting rate.

Keywords: rose; exogenous hormones; active carbon; *in vitro* regeneration system

NAA 的继代培养基上(表 2)。每处理接种 3 瓶,每瓶接种 5 株,重复 3 次。接种 30 d 后,调查芽的生长状况,统计增殖系数。

1.2.3 不同浓度 IBA 对生根的影响 根据 1.2.2 筛选出的 2 种较优继代培养基中高度为 2~3 cm 的健壮芽苗,分别接种于 1/2MS+蔗糖 15 g/L+琼脂 6 g/L+IAA 1.0 mg/L 附加 IBA 0.3、0.4、0.6 mg/L 的生根培养基上(表 3),共 6 个处理。每个处理接种 3 瓶,每瓶接种 5 株,重复 3 次。接种 20 d 后统计芽苗的生根情况。

1.2.4 培养条件 接种材料在光照培养室内培养,温度(25±2)℃,光照强度 1 500~2 000 lx(30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹),光/暗周期 12 h/12h。

2 结果与分析

2.1 HgCl₂ 消毒时间对外植体灭菌效果的影响

由表 1 可以看出,用 0.1% HgCl₂ 消毒 6 min 的嫩梢的污染率最高达 27.5%,而消毒 8 min 和 10 min 的污染率均低于 10%。但消毒 10 min 的处理成活率为 65.0%,低于消毒 8 min 的成活率(77.5%),因此,较适宜苹果砧木“矮砧 6 号”的 HgCl₂ 消毒时间为 8 min。

表 1 HgCl₂ 消毒时间对外植体灭菌效果的影响

Table 1 Effect of different disinfection time of HgCl₂ on the explants sterilizing effect

| 消毒时间 Disinfection time/min | 接种数 Number of vaccinations | 污染数 Number of pollution | 污染率 Pollution rate/% | 成活数 Number of survivals | 成活率 Survival rate/% |
|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| 6 | 40 | 11 | 27.5 | 18 | 45.0 |
| 8 | 40 | 3 | 7.5 | 31 | 77.5 |
| 10 | 40 | 2 | 5.0 | 26 | 65.0 |

2.2 6-BA 与 NAA 配比对组培苗继代增殖的影响

由表 2 可以看出,3 个处理的分枝高度为 1.54~1.79 cm,处理间差异不显著;3 个处理中增殖系数最高的是处理 C(图 1-1)为 4.53,极显著高于处理 B 的增殖系数(3.07),与处理 A 的增殖系数之间差异不显著。综合认为,适合于“矮砧 6 号”继代培养的植物生长调节剂配比为 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05~0.10 mg/L。

表 2 6-BA 与 NAA 浓度对组培苗继代增殖的影响

Table 2 Effect of different concentrations of 6-BA and NAA on the multiplication of the apple dwarf rootstock

| 处理编号 The number of treatment | 6-BA 浓度 Concentration of 6-BA/(mg·L ⁻¹) | NAA 浓度 Concentration of NAA/(mg·L ⁻¹) | 增殖系数 Multiplication coefficient | 分枝高度 Branch height/cm |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| A | 1.0 | 0.05 | 4.18 aA | 1.59 aA |
| B | 0.5 | 0.05 | 3.07 bB | 1.79 aA |
| C | 1.0 | 0.10 | 4.53 aA | 1.54 aA |

2.3 IBA 浓度对生根的影响

无根继代苗接种于生根培养基 7 d 后芽原基开始出现,10 d 后芽原基膨大,进而长出不定根。由表 3 可以看出,生根率最高的是处理 5,为 99.20%,显著高于处理 3 和处理 6 的生根率,与其它处理差异不显著。生根率最低的是处理 6,仅为 86.7%。A、C 2 种继代培养基的组培苗在 IBA 浓度为 0.4 mg/L 时的生根率均略高于其它 2 个浓度的生根率,其中接种于 C 培养基的继代苗转至 IBA 浓度为 0.4 mg/L 的生根培养基中,生根率显著高于 IBA 浓度为 0.6 mg/L 的生根率。

在生根数方面,处理 5 的生根数最高为 6.7 条,极显著高于其它处理的生根数。生根数最低的是处理 1 为 4.9 条,与处理 3 的生根数差异不显著,与其它处理的差异均达到差异极显著水平。处理 A、C 的继代培养基的组培苗在 IBA 浓度为 0.4 mg/L 时的生根数目均极显著高于 IBA 浓度为 0.3 mg/L 和 0.6 mg/L 时的生根数。

在生根长度方面,处理 1 的生根长度最长为 1.84 cm,除与处理 2 的生根长度无显著性差异外,与其它处理的差异均达极显著水平。生根长度最短的是处理 6,仅为 0.80 cm,极显著低于处理 1、2 和 4 的生根长度,与其它处理则差异不显著。试验中发现,在 IBA 浓度为 0.3 mg/L 时,组培苗的根较细弱,IBA 浓度为 0.4 mg/L 时(图 1-2),根生长状态较好。

综合生根率、生根数和生根长度,认为适宜“矮砧 6 号”砧木组培苗生根的培养基的植物生长调节剂配比为 IAA 1.0 mg/L+IBA 0.4 mg/L。

由表 3 还可以看出,继代培养基对组培苗生根也有一定的影响。相同 IBA 浓度条件下,继代于 C 培养基的组培苗生根数均极显著高于 A 培养基,平均根长均略低,其中 IBA 浓度为 0.4 mg/L 时,二者差异显著,IBA 浓度为 0.3 mg/L 和 0.4 mg/L 时,继代于 C 培养基的组培苗生根率略高于 A 处理,但生根率差异不显著。由此认为,有利于组培苗生根的继代培养基的植物生长调节剂配比为 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

2.4 练苗与移栽

在培养室生根培养 20 d 后,将生根苗移到温室中练苗,7 d 后,去掉瓶膜,使幼苗与外界接触以适应温室环境。3 d 后将组培苗从瓶中取出,用清水将根部残留的培养基冲洗干净待用。将蛭石和草炭(体积比 1:1)拌匀后放入营养钵中(要求 2/3,另 1/3 用纯蛭石覆盖),将冲洗干净的组培苗移栽至营养钵中,移栽后立即用 0.1% 多菌灵溶液浇透,最后搭塑料小拱棚覆盖。以后每 3 d 喷 1 次多菌灵溶液,经过 14 d 左右,长出新叶(图 1-3),统计成活率在 90% 以上。

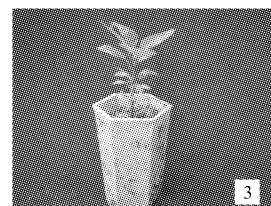
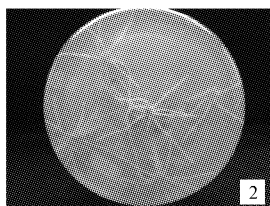
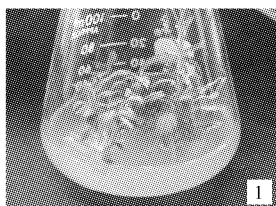
表 3

IBA 浓度对组培苗生根的影响

Table 3

Effect of different concentrations of IBA on rooting of the apple dwarf rootstock

| 处理编号 The number of treatment | 继代培养基编号 Number of subculture medium | 生根培养基 IBA 浓度 Concentration of IBA on rooting medium/(mg · L ⁻¹) | 生根率 Rooting ratio/% | 生根数 Number of roots | 生根长度 Root length/cm |
|---------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 1 | A | 0.3 | 93.30 abA | 4.9 dC | 1.84 aA |
| 2 | A | 0.4 | 96.98 abAB | 6.0 bB | 1.55 abAB |
| 3 | A | 0.6 | 89.10 bA | 5.1 dC | 0.82 dC |
| 4 | C | 0.3 | 96.98 abA | 5.7 cB | 1.40 bcAB |
| 5 | C | 0.4 | 99.20 aA | 6.7 aA | 1.05 cdBC |
| 6 | C | 0.6 | 86.70 bA | 5.6 cB | 0.80 dC |



注:1:增殖培养;2:生根培养;3:驯化移栽。

Note:1; Multiplication; 2; Rooting; 3; Transplanting domestication.

图 1 新品系“矮砧 6 号”的组织培养过程及驯化移栽

Fig. 1 Tissue culture process and transplanting domestication of the new strain ‘Short Stock No. 6’

3 结论

苹果矮化砧木新品系“矮砧 6 号”用 0.1% HgCl_2 杀菌适宜的处理时间为 8 min; 组培苗继代培养的适宜植物生长调节剂配比为 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 ~ 0.10 mg/L; 利于生根的继代培养基的植物生长调节剂配比为 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; 适宜“矮砧 6 号”砧木生根的植物生长调节剂配比为 IAA 1.0 mg/L + IBA 0.4 mg/L。

参考文献

[1] 韩振海. 苹果矮化密植栽培——理论与实践[M]. 北京: 科学出版社, 2011.

[2] 刘国荣, 陈海江, 徐继忠, 等. 矮化中间砧对红富士苹果果实品质的影响[J]. 河北农业大学学报, 2007, 30(4): 24-26.

[3] 宋春河, 张明勇, 宋秀玲, 等. 矮化中间砧长富 2 苹果树早期丰产技术[J]. 中国果树, 1999(4): 42-44.

[4] 原永兵, 刘成连, 马德功, 等. 欧洲苹果矮化自根砧苗木繁育技术[J]. 烟台果树, 2010(2): 30-31.

[5] 邓丰产, 马锋旺. 苹果矮化自根砧嫁接苗繁育技术研究[J]. 园艺学报, 2012, 39(7): 1353-1358.

[6] 王荣, 沈向, 黄翠香, 等. 关于苹果砧木与自根砧快繁技术的综述[J]. 天津农业科学, 2012, 18(3): 115-119.

[7] 郭静, 魏晓雯, 王菲, 等. SH₄₀ 实生后代嫁接红富士苹果对其树体生长的影响[J]. 贵州农业科学, 2013, 40(10): 146-148.

Study on Rapid-Micropropagation Technique by Shoot Tip Culture of New Apple Dwarf Rootstock Strain ‘Short Stock No. 6’

WANG Miao-miao, MA Xiao-yue, ZHANG Xue-ying, XU Ji-zhong

(College of Horticultural, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071001)

Abstract: Taking the new strain ‘Short Stock No. 6’ of apple dwarf rootstock as materials, the effects of plant growth regulators on multiplication and rooting of seedlings *in vitro* were researched to select the optimal medium. The results showed that the sterilization time of shoot tip using 0.1% HgCl_2 was 8 minutes. The basic medium was MS supplemented with sugar 30 g/L and agar 6 g/L, the optimal plant growth regulators in subculture medium were 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 ~ 0.10 mg/L, and the coefficient of multiplication reached 4.53 times every four weeks. The optimal plant growth regulators of subculture medium that suited rooting were 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L, the optimal plant growth regulators for rooting were IAA 1.0 mg/L + IBA 0.4 mg/L, the rooting rate was more than 90%, and the average number of root was about 6. Then the rooted plantlets were transplanted, the survival rate was more than 90%.

Keywords: apple; dwarf rootstock; shoot tip culture; rapid-micropropagation; plant growth regulator