

“男恋姬”苹果的茎尖培养与快繁

牛爱国 刘刚 朱海波 侯丽娟 包永信 董向丽

(山东省威海市农业科学技术中心生物研究室)



第一作者简介 牛爱国, 1978年毕业于黑龙江省北安农校农学系。毕业后曾在黑龙江省农科院浆果研究所从事研究工作。现在山东省威海市农业科学技术中心生物研究室从事植物组织培养工作, 高级农艺师。工作期间, 多次荣获国家、省院(市)科技进步

奖, 发表科研论文 20 余篇。

摘要 以日本早熟苹果新品种“男恋姬”为试材, 研究苹果茎尖离体培养与快繁, 结果表明, 起始培养以 $MS+BA_1+IAA_{0.2}+GA_{0.1}+VC_8$ 为最佳。继代增殖阶段以 $MS[(NH_4)_2SO_4^{649}]+BA_1+IBA_{0.2}$ 为最佳。生根培养以 $1/2MS+IBA_{0.2}+NAA_{0.1}$ 效果最好。试管苗移栽前经强光闭瓶炼苗 20d, 移栽后气温控制在 $20^{\circ}C \sim 28^{\circ}C$, 空气相对湿度在 90% 以上, 光强在 20000LX 时, 并经常喷药剂保护防止根颈发病, 成活率可达 80%。

关键词 苹果 茎尖培养 快繁

我国苹果茎尖培养研究起步较晚, 但进展很快^[1]。1977 年以来已在金冠、富士、长富 2 号、新红星、新乔纳金等 10 余个品种上组培快繁获得成功, 并相继在生产上开始应用^[1, 2, 3]。但是, 由于苹果品种间遗传特性的显著差异^[1], 给组培工作带来很多麻烦。不同品种组培采用相同的培养基及激素组合获得较高的茎尖诱导率、增殖率、生根(成苗)率困难很大, 甚至不可能。至今有些优良品种组培仍未成功或分化增殖率低, 生长缓慢, 生根率低或根本不生根。^[1, 3]日本早熟苹果新品种“男恋姬”就是其中之一, 有关“男恋姬”苹果茎尖培养与快繁的研究目前国内尚未报道。现将 1996 年~1997 年我们的研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料来源 取材于山东省威海市农业科学技术中心高新技术实验场母本园二年生苹果树。品种为“男恋姬”。该品种系 1995 年冬由我中心从日本引入。

1.2 试验方法 ①消毒接种: 春季母树新梢抽出后剪取其顶端 3~5cm 用清水冲洗干净, 置于 75% 酒精中消毒 0.5min, 再用 0.1% 升汞消毒 6~8min, 最后用无菌水冲洗 4 次, 剥取 0.2mm 左右的茎尖接种培养。②培养基: 起始培养基: (a) $MS+BA_1+IAA_{0.2}$ (单位为 mg/L, 以下同); (b) $MS+BA_1+IAA_{0.2}+GA_{0.1}$; (c) $MS+BA_1+IAA_{0.2}+VC_8$; (d) $MS+BA_1+IAA_{0.2}+GA_{0.1}+VC_{20}$ 。增殖培养基: (a) $MS+BA_{0.5}$; (b) $MS+BA_1$; (c) $MS+BA_2+IBA_{0.2}$; (d) MS 改(大量元素为 MS 的 1/2, 其它同 MS) + $BA_1+IBA_{0.2}+GA_{0.1}$; (e) $MS[(NH_4)_2SO_4^{649}]$, 即将 MS 培养基中 NH_4NO_3 更换为相应克分子的 $(NH_4)_2SO_4^{13}$ + $BA_1+IBA_{0.2}$ 。生根培养基: (a) $1/2MS+IBA_{0.2}+NAA_{0.05}$; (b) $1/2MS+IBA_{0.2}+NAA_{0.1}$; (c) $1/2MS+IBA_{0.4}+NAA_{0.2}$; (d) $1/2MS+IBA_{0.6}+NAA_{0.1}$ 。上述培养基用白糖代替蔗糖, 除生根培养用量为 2.5% 外, 其它为 3%。琼脂 0.6%~0.7%。③培养条件: 每天光照 12h, 光强 2000LX, 培养温度 $26 \pm 1^{\circ}C$, 培养室内相对湿度 70% 左右。④试管苗移栽: 移栽前将生根苗带瓶一同移入温室, 在 20KLX 的强光下闭瓶炼苗 20d 再打开封口膜敞口适应 2d 然后移栽到蛭石、蛭石+河沙=1:1, 蛭石+泥炭土=1:1 三种基质中各 200 株。移栽后育苗箱放于塑料大棚中经常弥雾保持叶面湿润, 每周喷 45% 可湿性多菌灵 1000 倍液一次, 以保护根颈防止病害发生。

2 结果与分析

2.1 起始培养 接种的茎尖先在弱光下培养 7d, 以后一直光照培养。茎尖在不同培养基激素组合上成活情况见表 1。从表 1 可看出, 茎尖成活率以培养基 3 最高, 4 次之, 从观察看出, 茎尖成活率低的原因除个别茎尖发生污染外, 主要是受褐变的影响。培养基 a、b 中茎尖褐变较重, 虽经 1~2 次培养基更新转移但仍全部死亡。c、d 中由于培养基加入抗氧化剂 VC 茎尖

未发生褐变或褐变较微,成活均较好,生长情况也未表现出明显的差异。培养 15d 茎尖即开始萌动转绿,30d 生长速度明显加快,肉眼可见分化幼叶,培养 60~90d,90%以上茎尖长高 2~3cm,形成无根单芽试管苗。经过 2~3 次继代培养可分化出丛生苗。

表 1 茎尖在不同培养基上的成活情况

| 培养基 | 接种茎尖数(个) | 成活茎尖数(个) | 成活率(%) |
|-----|----------|----------|--------|
| a | 20 | 0 | |
| b | 26 | 0 | |
| c | 20 | 8 | 40.0 |
| d | 23 | 7 | 30.4 |

2.2 增殖培养 待茎尖分化呈丛生芽后,按芽或节(至少带一片叶)切段转移至增殖培养基上培养,分化增殖生长情况见表 2。从表 2 中数字及观察看出,分

表 2 不同培养基对茎段分化、增殖生长的影响

| 培养基 | 接种茎段(芽)数(个) | 增殖数(倍) | 分化生长情况 |
|-----|-------------|--------|------------------------------------|
| a | 45 | 2.4 | 生长缓慢,无丛生芽发生,芽高 1.5cm。 |
| b | 38 | 5.6 | 生长缓慢,有 1.5 个丛生芽,芽高 1.4cm。 |
| c | 48 | 8.4 | 生长较慢,丛生芽 7.5 个,芽高 0.7cm,芽细弱,部分玻璃化。 |
| d | 50 | 7.9 | 生长较快,丛生芽 4.2 个,芽高 2.1cm,生长较好,叶色较绿。 |
| e | 50 | 8.6 | 生长较快,丛生芽 4.3 个,芽高 2.3cm,生长健壮,叶色浓绿。 |

注:表中数字为培养 28d 的结果。

化增殖生长情况以培养基 e 中芽苗最为理想,分化增殖率高,生长健壮;培养基 d 次之。虽然培养基 c 中芽苗分化增殖率较高,但由于苗生长不好,且玻璃化,故不适宜。培养基 a、b 中芽苗增殖率低且长势弱也不理想。通过多次不同继代时间比较试验,结果表明,增殖芽苗最佳继代时间为 25~35d。间隔时间过长茎易老化。叶变黄脱落;间隔时间太短影响增殖,易发生玻璃化芽。

2.3 生根培养 “男恋姬”苹果分化增殖芽苗较难生根,我们先后重点以 MS、1/2MS 改良(大量元素为 1/2MS,微量元素有机成分为 MS 的 1/10,铁盐同 MS)、C₁₇^[4] 和 1/2MS 为基本培养基,附加不同浓度的 IBA(0.2~0.6)、IAA(0~1.5) 及 NAA(0.1~0.2) 或 NAA(0.1~0.2) 配比处理组合共计 45 种做生根试验,结果表明前三种基本培养基及其不同种类浓度的激素处理组合芽苗几乎不生根或生根率很低。仅 1/2MS 附加 IBA 和 NAA 不同浓度的配比部分处理组合生根效果较好。详见表 3。通过大量的生根比较试验,找出了增殖芽苗生根效果最佳的培养基(表 3 培养基 b),即 1/2MS+IBA_{0.2}+NAA_{0.1},在这种培养基上芽苗生根速度快,根系发育好,生根率高,植株生长健壮,叶片

表 3 不同培养基对增殖芽苗生根影响

| 培养基 | 调查芽苗数(个) | 生根时间(d) | 生根率(%) | 根系数(条) | 须根 |
|-----|----------|---------|--------|--------|----|
| a | 100 | 25 | 46.0 | 2.4 | 有 |
| b | 100 | 17 | 96.0 | 3.8 | 有 |
| c | 100 | 23 | 84.0 | 3.4 | 无 |
| d | 100 | 23 | 76.0 | 3.3 | 少有 |

注:(1)用于生根芽苗均系在增殖培养基上培养 25d 的健壮芽苗,取其顶部 1.5cm,以保证较好的生根效果;(2)生根时间指肉眼最初见根尖伸长时间;(3)表中数字为芽苗生根培养 30d 的结果。

浓绿。

2.4 试管苗移栽成活情况 在三种不同基质的移栽试验中,移栽苗成活率以蛭石+泥炭土=1:1 的基质最好,成活率达 80%;蛭石+河沙次之;蛭石最差。移栽后缓苗时间与生长情况不同基质差别也较大,这可能与苗根系所处不同基质中的水分、空气、养分等环境因素有关。详见表 4。

表 4 不同基质对试管苗移栽成活及株高的影响

| 基 质 | 缓苗期(d) | 成活率(%) | 株高(cm) |
|--------|--------|--------|--------|
| 蛭石 | 20 | 46.0 | 7.6 |
| 蛭石+河沙 | 18 | 52.0 | 9.2 |
| 蛭石+泥炭土 | 15 | 80.0 | 12.3 |

注:株高为移栽后 45d 的数值。

参考文献

- 曹孜义等.实用植物组织培养技术教程,甘肃科学技术出版社,1996:62~71
 - 王国平等.苹果病毒病防治,北京金盾出版社,1994:94~99
 - 姜淑荣等.几种苹果砧木和品种茎尖组培苗的培养基筛选试验,北方果树,1994(2):9~11
 - 王培等.C₁₇培养基在花药培养中应用的研究,植物学报,1986,28(1):38.
- (邮编 264200)

花椰菜折叶覆盖法

在花椰菜现蕾后,采用折叶覆盖法,可提高花菜质量。其方法:花椰菜的菜球长到 0.25kg 左右时,利用晴天的下午,每株选取一张干净的花椰菜外叶,将其折过来覆盖在花球上,让花椰菜的花球在花椰菜外叶的覆盖下生长,经折叶覆盖的花椰菜花球因避免太阳光的直接照射,球体长得结实,白嫩,新鲜。

在折叶覆盖时,要注意不能折断叶脉,更不能将外叶剥下来覆盖,否则会选成花椰菜基部积水,花球腐烂。(刘爱国)