

提高早熟油桃胚培苗成苗技术研究

赵秀梅, 陈建军, 王玉安

(甘肃省农业科学院 林果花卉研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 对早熟油桃品种华光胚培异常芽苗的增殖和生根培养基进行了筛选, 结果表明: LE+6-BA 0.5~1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L 培养基上增殖培养效果良好; 在生根培养基 1/2 MS+IAA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 或 1/2 MS+IAA 1.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L 上, 生根率达 90.0%以上, 且生长良好。

关键词: 早熟油桃 胚培苗; 增殖; 生根

中图分类号: S 662.103.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)09-0154-03

一些核果类果树如桃、油桃、杏、樱桃等的早熟品种, 由于果实发育期太短, 种胚往往难以发育成熟, 从而导致难以直接播种萌发成苗^[1]。胚培养技术为核果类果树早熟和特早熟品种的育种提供了一条有效途径。采用胚挽救的方法, 可以获得早熟桃的杂种苗。但通过胚挽救获得的胚培苗有相当一部分生长比较弱或无根, 不能直接驯化移栽, 增殖扩繁这些胚培苗可以提高胚培苗的数量, 扩大繁殖效率。试验以早熟油桃品种华光胚培苗为材料, 对经胚挽救获得的胚培异常苗(不能直接移栽的无根苗或生长弱小的试管苗)进行扩繁生根, 通过筛选适宜的增殖和生根培养基, 扩大种胚的繁殖数量, 提高胚挽救成苗率, 为新优早熟油桃品种的快繁推广及遗传转化等提供技术资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验品种选用甘肃省农业科学院林果花卉所桃品种园 5a 生油桃品种“华光”, 取自然授粉的华光的未成熟种子, 经过胚培养获得的高度在 0.5~1.5 cm 的胚培异常苗(无根或生长弱小的正常试管苗)为供试材料。

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料的获得 花后 56 d 的华光果实, 冲洗干净后, 削去果肉, 砸破果核, 取出种子, 流水冲洗 20 min 后置于 500 mL 的广口瓶中, 在超净工作台上加入 75% 酒精浸泡 30 s, 用 0.1% 升汞溶液消毒 8~10 min, 无菌水冲洗 3~5 次, 在无菌滤纸上拭干, 剥除种皮后接种在萌发培养基上, 经 60 d 低温冷藏后培养室不见光 3~5 d, 室温条件下培养大约 20 d 后种胚萌发, 将萌发后生长弱

小的和无根的试管苗剪成 0.5~1 cm 左右单芽茎段, 分别接种在不同配方的增殖培养基上, 每瓶接种 3 个单芽茎段, 每个处理 10 瓶, 置于 (26±2) °C, 光照强度 1 500~2 000 lx, 12 h/d 光照条件下培养。

1.2.2 增殖培养基的筛选 以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 6-BA、NAA, 接种培养 1 个月后统计增殖情况, 并根据增殖生长情况进行培养基优化筛选。

1.2.3 生根培养基的筛选 将增殖培养的试管苗剪成约 2 cm 的茎尖茎段, 接种在以 1/2 MS 为基本培养基附加不同浓度的 IAA、NAA、IBA 及其组合的生根培养基上, 室温暗培养 1 周后见光培养 1 个月后统计生根率和生根情况。

1.2.4 生根苗的驯化移栽 在生根培养基中培养 1 个月左右, 大部分新梢可获得生长健壮、发达的根系, 这时即可移栽入土。

2 结果与分析

2.1 试验材料的获得

接种在萌发培养基为改良 SH+6-BA 1.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L+白糖 40 g/L 上的华光的未成熟种子, 此时胚的发育指数即 PF1 值为 0.263, 经过培养后获得了 87.5% 的正常苗, 其余萌发苗多为无根或根芽均弱小而不能直接移栽的异常苗, 在萌发的正常苗中, 有一半左右的试管苗, 其根芽均比较弱小, 移栽成活率很低, 因此将胚培后的异常苗以及生长弱小的正常苗作为试验材料进行继代扩繁和生根培养。

2.2 不同培养基对华光试管苗增殖的影响

2.2.1 激素及配比对华光试管苗增殖的影响 以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 6-BA 和 NAA, 调查增殖情况。由表 1 可知, 在编码为 A4 培养基上分化倍数最高, 但分化芽生长状况不良, 有玻璃化现象, 在 A2 和 A3 培养基上, 分化倍数比较高, 芽长势好, 只是叶色发黄, 而且随着试管苗继代次数的增多, 叶色黄化有加重

第一作者简介: 赵秀梅(1963-), 女, 陕西泾阳人, 硕士, 副研究员, 主要从事果树组织培养及果树生物育种工作。E-mail: zhaoxi-umei5@sohu.com。

收稿日期: 2008-04-13

表 1 华光胚培试管苗在不同培养基上的增殖情况						
培养基编号	6 BA/ mg ° L ⁻¹	NAA/ mg ° L ⁻¹	接种芽数/ 个	丛生芽分化数/ 个	丛生芽分化倍数	丛生芽长势情况
A1	0.1	0.05	30	4	0.13	分化芽很少
A2	0.5	0.05	30	68	2.27	新梢生长健壮, 叶色发黄
A3	1.0	0.05	30	104	3.47	新梢生长健壮, 叶色发黄
A4	2.0	0.05	30	114	3.80	生长不良 有玻璃化现象
A5	0.5	0.50	30	44	1.47	愈伤组织较多, 生长不良
A6	1.0	0.50	30	80	2.67	生长不良 叶色发黄, 有愈伤组织

注 各培养基中白糖用量均为 30 g/L, 琼脂用量均为 4 g/ L, pH 5.8~6.2.

的趋势。

2.2.2 基本培养基对华光试管苗增殖的影响 在以 MS 为基本培养基的增殖培养基上, 试管苗的叶片颜色常常出现不同程度地黄化及叶片脱落现象, 为此, 设计了 4 种不同配方的基本培养基, 分别为 LE、G、F14 和 MS, 其他成分保持不变。结果发现: 在基本培养基为 LE

的增殖培养基上生长情况最为良好, 叶色绿色, 在基本培养基为 F14 的培养基上, 叶片颜色也比较绿, 而在 G 和 MS 为基本培养基的增殖培养基上, 叶片颜色相对较黄, 因此筛选出比较理想的增殖分化培养基为 LE+BA 0.5~1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L+白糖 30 g/L+琼脂 4 g/L。

表 2 基本培养基对华光试管苗增殖的影响							
培养基编号	基本培养基	6-BA/ mg ° L ⁻¹	NAA/ mg ° L ⁻¹	接种芽数/ 个	丛生芽分化数/ 个	丛生芽分化倍数	丛生芽长势情况
A7	LE	0.5	0.05	30	88	2.93	叶色绿, 生长健壮
A8	G	0.5	0.05	30	83	2.77	叶色略有黄化, 生长正常
A9	F14	0.5	0.05	30	69	2.30	叶色基本绿色, 生长健壮
A10	MS	0.5	0.05	30	79	2.63	新梢生长健壮, 叶色发黄

注 上述各培养基中白糖用量均为 30 g/L, 琼脂用量均为 4 g/ L, pH 5.8~6.2.

2.3 生根培养基筛选

由表 3 可知, 在只有 NAA 的生根培养基上, 随着浓度从 0.5 mg/L 增加到 1.0 mg/L, 生根率提高一倍, 生根条数则略有减少, 生根比较短, 愈伤组织块大; 单独使用 IBA 时, 随着浓度由 0.5 mg/L 增加到 1.0 mg/L, 生根率提高, 所生根太短, 生根数量也少; 单独使用 IAA 时, 随着浓度由 0.5 mg/L 增加到 1.0 mg/L, 生根率提高将近 3 倍, 生根条数也有所增加, 所生根比较细长, 但生根率仍未达到 80%。由此看来, 单独使用任何一种生长素, 生根情况均不很理想。在 IAA 为 1 mg/L 时, 附加

1.0 mg/L 的 NAA 或 IBA, 生根率不足 50%, 且生根状况不佳; 但在 IAA 为 1 mg/L 时, 附加 0.2 mg/L 的 NAA 或 0.5 mg/L 的 IBA 时, 生根率明显提高, 可达 90%以上, 而且平均生根数在 3 条以上, 试管苗生长良好。从 G11 配方中也发现, 在 IAA 为 1 mg/L 时, 同时附加 0.2 mg/L 的 NAA 和 0.5 mg/L 的 IBA 时, 生根率反而下降, 生根条数也减少, 因此, 在生根培养基中, NAA 和 IBA 不宜同时使用。该试验结果表明: 油桃品种华光的最佳生根培养基为 1/2 MS+1 mg/L IAA+0.2 mg/L NAA 或 1/2 MS+1 mg/L IAA+0.5 mg/L IBA。

表 3 华光试管苗在不同生根培养基上的生根情况								
培养基编号	IAA/ mg ° L ⁻¹	NAA/ mg ° L ⁻¹	IBA/ mg ° L ⁻¹	接种芽数/ 个	生根株数/ 个	生根率/ %	平均生根条数	根生长情况
G1	0.5	0	0	30	8	26.6	2.07	根细长, 基部无愈伤组织
G2	0	0.5	0	30	10	33.3	1.93	根短, 基部有愈伤组织
G3	0	0	0.5	30	13	43.3	1.27	根短, 根量也少
G4	1.0	0	0	30	23	76.7	2.47	根细长, 基部无愈伤组织
G5	0	1.0	0	30	20	66.7	1.80	根极短, 基部愈伤组织块大
G6	0	0	1.0	30	21	70.0	2.27	根极短, 根量也少
G7	1.0	1.0	0	30	7	23.3	2.13	根极短, 愈伤组织块很大
G8	1.0	0	1.0	30	14	46.7	1.63	独根多, 基部有愈伤组织
G9	1.0	0	0.5	30	27	90.0	5.37	根数平均 5 条以上 生长正常
G10	1.0	0.2	0	30	28	93.3	3.93	根数 3~5 条, 生长良好
G11	1.0	0.2	0.5	30	25	83.3	3.13	根数平均 3 条以上 有愈伤组织
G12	1.0	0.5	0	30	20	66.7	3.20	根数大多 3 条, 有愈伤组织

注 各培养基中白糖用量均为 15 g/L, 琼脂用量均为 3.5~3.8 g/ L, pH 5.8~6.0.

2.4 生根试管苗的移栽

选用试管苗具有 3~6 片叶片, 根系发达, 生长健壮的幼苗进行移栽。首先在温室条件下驯化 10 d 左右, 移栽前将三角瓶的封口膜打开, 加 1 000 倍多菌灵 50 mL 于三角瓶中练苗 2~3 d, 然后从瓶中取出小植株, 用自

来水将根系基部的培养基冲洗掉, 移栽到塑料营养钵内。钵内的培养土是蛭石和细沙以 1 : 1 的比例混拌后经过高压灭菌的。移栽后要浇足水, 罩上塑料薄膜, 以保证一定的湿度, 并人工辅助一定的光照。期间每天通气 1 h, 经 1 周左右小植株开始生长时逐步揭去薄膜, 使

其逐渐适应室内的自然条件,为移栽室外做好准备。在兰州地区,一般在春季3月末到5月份移栽,平均移栽成活率最高,可达85%以上。

3 小结与讨论

通常情况下果实发育100 d以内的桃,由于生长时间短,胚发育不完全,种子在常规播种条件下常常不能出苗或出苗率低,即使长成实生苗,早期生长也比较弱小^[2]。因此人们常用胚挽救技术对桃早熟品种未成熟胚进行离体培养^[3-9]。在该试验中发现,华光胚败育时期大约开始于果实成熟前2周,此时胚的发育指数(胚长/种子长)即PF1值仅为0.263,经胚挽救后获得的胚苗正常苗率尽管可达87.5%,但由于多数根芽生长比较弱小,直接移栽成活率低,因此经过增殖培养后可有效提高胚苗的繁殖效率。

桃试管苗在继代培养中,在以MS为基本培养基的增殖培养基上,容易出现叶片黄化及脱落现象,杨增海等^[9]研究认为,在桃继代培养中,基本培养基以MS-R比MS更适合,叶片无黄化现象,结果表明,以LE为基本培养基比较适合华光的继代增殖。

在桃的生根培养中,许多研究认为,采用高浓度生长素浸蘸芽基部后转接到无激素的培养基上,并配合低温和短时间暗培养有利于诱导生根^[6-8]。该研究结果表明,将生长素直接加到生根培养基中,如果单独使用

IAA、IBA、NAA中的任何一个,生根状况均不良,NAA与IBA配合使用也不利于生根,但在IAA一定浓度下,添加低浓度的NAA或IBA则对生根有利,其中,NAA浓度以不超过0.2 mg/L,IBA浓度以不超过0.5 mg/L为好。高浓度的NAA和IBA容易诱导愈伤组织,所生根短,根量少,可能是高浓度NAA或IBA具有很好的诱发根原基形成的能力,但培养时间过长对根的形成或生长不利。

参考文献

- [1] 刘焕芳,段成国,陈学森,等.胚挽救技术在核果类果树育种上的应用[J].生物技术通报,2003(3):12-16.
- [2] 浙江农业大学.果树育种学[M].上海:上海科学技术出版社,1996:277-279.
- [3] 杨增海.园艺植物组织培养[M].北京:农业出版社,1987.
- [4] 朱际君,吴鹤鸣,汪祖华.桃特早熟品种幼胚培养技术[J].江苏农业科学,1983(9):33-35.
- [5] 刘用生,胡霞云,路广明.早熟桃胚珠离体培养研究[J].西北农业大学学报,1991,19(3):37-42.
- [6] 杨增海,胡霞云,路广明.桃试管实生苗茎尖培养的研究[J].园艺学报,1984,11(2):7-12.
- [7] 尚敏克,姜国斌,尹伟伦.晚熟桃的离体组织培养[J].辽宁林业科技,2003(3):17-20.
- [8] 周玉碧,李唯.晚熟桃微繁殖技术研究[J].甘肃农业大学学报,2005,40(6):745-749.

The Study for Increasing Embryo Cultural Plantlet of Early-maturing Nectarine

ZHAO Xiu-mei, CHEN Jian-jun, WANG Yu-an

(Institute of Forestry and Pomology and Flower, Gansu Academy of Agricultural Science, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: Experiment of the bud proliferation and rooting media of "huaguang" by using embryo cultural abnormal seedling was design. The results showed that the suitable medium for the bud proliferation was LE+6-BA 0.5~1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L; The rooting rate was above 90.0% in rooting medium 1/2MS+IAA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L or 1/2MS+IAA 1.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L, and the growth was well.

Key words: Early-maturing nectarine; Embryo cultural seedling; Proliferation; Rooting

发芽与绿皮 马铃薯勿食用

马铃薯发芽后会大量的龙葵素,尤其在芽眼周围含量最高,马铃薯的表皮变绿,也含有龙葵素,切忌吃到含有龙葵素马铃薯,否则会引发恶心、呕吐、腹泻、甚至昏迷,孕妇吃到则可能会流产,故凡是发芽与绿皮的马铃薯千万不要买。