

七个甜柿品种启动培养

扈惠灵¹, 周瑞金¹, 苗卫东¹, 张国付¹, 张晓丽²

(1. 河南科技学院 园林学院 河南 新乡 453003; 2. 河南汝州市第四高级中学 河南 平顶山 467000)

摘要:以柿休眠芽为外植体,以(1/2N)MS+6-BA 4.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L+PVP 0.6 g/L+蔗糖30 g/L+6.0 g/L琼脂为培养基,对‘次郎’、‘西村早生’、‘禅寺丸’、‘兴津20’、‘新秋’、‘前川次郎’、‘阳丰’7个甜柿品种进行了初代培养研究。结果表明:‘西村早生’、‘兴津20’、‘新秋’、‘阳丰’易成活,成活率为100%,其次为‘前川次郎’和‘次郎’,成活率分别为78%和70%,‘禅寺丸’不易成活,成活率仅为9.5%;从增殖倍数来看,该培养基有利于‘禅寺丸’的增殖,增殖效果较明显,‘西村早生’次之,‘阳丰’增殖效果较差。同时研究了GA₃在甜柿初代培养中的效应,表明在初代培养中,添加适量GA₃更有利于甜柿休眠芽初期的启动发育和伸长生长。

关键词:柿;休眠芽;初代培养

中图分类号:S 665.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)21-0153-03

近年来,从国外引进的一些甜柿以其具有自然脱涩、采后即可食用等优点,在我国许多地方得到了快速发展。甜柿的研究和栽培日益引起人们的高度重视^[1]。在我国甜柿苗木种类不全且数量少,致使优良品种难以快速推广,从而导致甜柿苗木在市场上出现供不应求的现象,严重阻碍了甜柿的推广和发展。通过组织培养方法可大大加快甜柿的繁殖速度,进而满足市场上苗木的需求量。该研究针对甜柿不同品种的休眠芽进行初代培养,并采用BA代替ZT,在低成本条件下进行培养,建立无菌繁殖体系,获得初代无菌材料,旨在为甜柿离体繁殖的继代培养和组培工厂化生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

7个供试甜柿品种分别为‘次郎’、‘西村早生’、‘禅寺丸’、‘兴津20’、‘新秋’、‘前川次郎’、‘阳丰’。试验于2009年11月进行,甜柿品种休眠芽取自河南省新乡市洪门镇原堤村果园,树龄9 a。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌培养材料的建立 将枝条切割成带1个休眠芽的小段,在洗衣粉水中洗涤2~3次后,用流水冲洗

30 min,之后在超净工作台上用70%的酒精灭菌30 s,无菌水冲洗1次,用0.1% HgCl₂溶液浸泡8~10 min,期间不断摇动,最后用无菌水冲洗5~6次。剥去芽鳞片和3层叶原基,切下约3 mm的芽尖端,接种于初代培养基中。

1.2.2 培养基处理 培养基I: (1/2N)MS (KNO₃和NH₄NO₃减半)+6-BA 4.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L; 培养基II: (1/2N)MS+4.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA+0.5 g/L GA₃。以上2种培养基均附加有PVP 0.6 g/L,蔗糖30 g/L和琼脂6.0 g/L, pH 5.8~6.0。

1.2.3 培养条件 培养温度为(25±2)℃,光照强度2 000 lx。

1.2.4 数据统计 45 d后统计存活率、增殖倍数以及生长状况、生长速度、叶片状况等。存活率(%)=存活芽数/接种芽数×100%;增殖倍数=分生后芽数/存活芽数。

2 结果与分析

2.1 甜柿休眠芽的初代培养效果

由表1可知,在I培养基上‘西村早生’、‘兴津20’、‘新秋’和‘阳丰’存活率为100%,而‘禅寺丸’存活率仅有9.5%。说明该培养基适于‘西村早生’、‘兴津20’、‘新秋’和‘阳丰’初代培养,不适于‘禅寺丸’初代培养。但从增殖倍数来看,‘禅寺丸’的增殖倍数最高,为4.5;其次为‘西村早生’、‘兴津20’、‘次郎’、‘新秋’、‘前川次郎’;‘阳丰’的增殖倍数最低,为1.6。说明该培养基对于‘禅寺丸’的增殖培养较为适宜。

第一作者简介:扈惠灵(1969-),女,博士,副教授,现主要从事果树资源评价与利用工作。

通讯作者:周瑞金(1977-),女,河北张家口人,博士,副教授,现主要从事果树种质资源和生物技术研究工作。

基金项目:河南省高校科技创新人才支持计划资助项目(2008HASTIT013);河南科技学院博士科研启动基金资助项目(20070025)。

收稿日期:2010-07-19

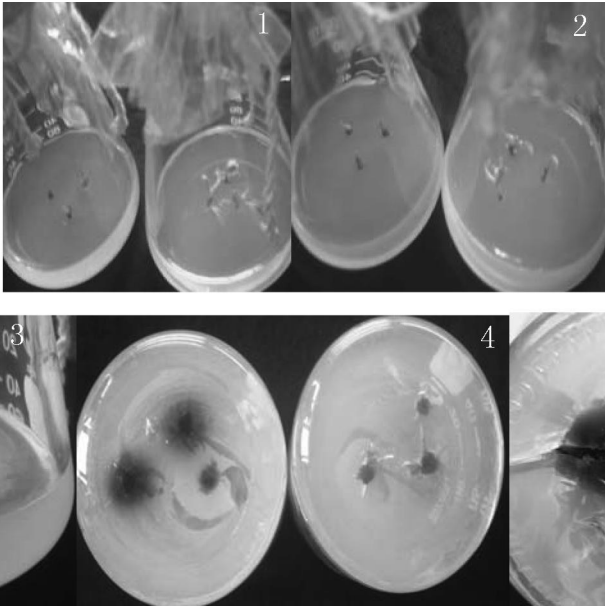
表 1 甜柿休眠芽在初代培养中的生长状况

品种	接种数 /个	存活芽数 /个	存活率 /%	分生后芽数 /个	增殖倍数
次郎	90	63	70	120	1.9
西村早生	120	120	100	255	2.1
禅寺丸	63	6	9.5	27	4.5
兴津 20	90	90	100	177	2.0
新秋	99	99	100	186	1.9
前川次郎	90	70	78	130	1.9
阳丰	90	90	100	140	1.6

2.2 GA₃ 在初代培养中的作用

由表 2 可知,GA₃ 在初代培养中对甜柿的生长有很

大影响。其中 3 个甜柿品种即‘次郎’、‘西村早生’、‘兴津 20’在添加有 GA₃ 的 II 培养基上表现为启动速度快,生长快,节间长,苗较高,叶片展开快,叶长而多且窄,多呈浅绿色,但形成的丛生芽较少(图 1);而在不加 GA₃ 的 I 培养基上表现则相反(图 2)。‘禅寺丸’在 I、II 2 种培养基上生长较一致,说明 GA₃ 对‘禅寺丸’生长无显著影响,但从启动状况来看,GA₃ 对其启动发育仍有一定的作用。因此,在初代培养中,添加有 GA₃ 的(1/2N)MS 培养基更有利于初期甜柿休眠芽的启动发育和伸长生长,但不利于芽的分化形成。



图版

注:图 1:II 培养基休眠芽接种 10 d 后生长状况;图 2:I 培养基休眠芽接种 10 d 后生长状况;图 3:初代培养污染状况;

图 4:初代培养褐化状况;图 5:初代培养愈伤组织。

表 2 GA₃ 对休眠芽诱导分化的影响

品 种	培养基类型	休眠芽的诱导分化状况
次 郎	有 GA ₃	启动速度快,生长快 节间长,苗生长得较高 叶片展开快 叶长且多,多呈浅绿色,形成的丛生芽较少
	无 GA ₃	启动速度慢,生长慢 节间短 苗生长得较矮 叶短而厚,呈暗绿色,能形成较多的丛生芽
西村早生	有 GA ₃	启动速度快,生长快 节间长,苗生长得较高 叶片展开快 叶长且多,多呈浅绿色,形成的丛生芽较少
	无 GA ₃	启动速度慢,生长慢 节间短 苗生长得较矮 叶短而厚,呈暗绿色,能形成较多的丛生芽
禅寺丸	有 GA ₃	启动速度快,生长较一致,叶片短厚 能形成丛生芽
	无 GA ₃	启动速度慢,生长较一致,能形成丛生芽
兴津 20	有 GA ₃	启动速度快,生长快 节间长,苗生长的较高 叶片展开快 叶长且多,多呈浅绿色,形成的丛生芽较少
	无 GA ₃	启动速度慢,生长慢 呈暗绿色,能形成较多的丛生芽

2.3 初代培养过程中培养物变化情况

2.3.1 污染情况 在初代培养中,3~4 d 休眠芽基部有污染物出现,一般表现为白色绒毛状(图 3)。初期污染

范围较小,随着培养天数的增加,污染面积逐渐增大,最后大范围扩散使培养基也受到影响。后期在培养材料上出现有霉污现象,叶片上表现为褐色物质。

2.3.2 褐化情况 甜柿组培过程中褐化现象较为严重,初期表现为芽体基部有轻微的褐色物质,随着培养时间的延长,褐色物质扩散到培养基中使培养基也被褐变(图 4)。

2.3.3 愈伤组织形成状况 启动期是愈伤组织形成的起点,细胞的大小并无太大的变化。在初代培养试验中,休眠芽基部形成有颗粒状突起的绿色愈伤组织(图 5),但愈伤组织较小。

3 结论与讨论

‘西村早生’、‘兴津 20’、‘新秋’所接的芽易成活且增殖效果明显,说明其对培养基没有太严格的要求。‘禅寺丸’存活率低而增殖倍数大,‘阳丰’存活率高而增殖倍数小,说明其对培养基要求较为严格。基于试验研

究结果,‘ 禅寺丸’ 应继续筛选适宜的初代培养基以提高成活率,而 ‘ 阳丰’ 需筛选适宜的增殖培养基。

启动培养基中添加 GA₃ 能促进休眠芽的启动发育和伸长生长,表现为组培苗生长快,节间长。所以要获得节间较长的组培苗可在培养基中适量添加 GA₃。但该现象并不能充分说明 GA₃ 对休眠芽的诱导分化作用。在添加 GA₃ 的培养基中生长的初代组培苗,在继代培养中是否仍可表现较好的伸长生长特性还需作进一步的研究。

细胞分裂素广泛应用于柿的组培,其中 ZT 是大多数柿品种高效且必需的植物生长调节剂,有些品种则不能在 BA 中生长^[2-3]。但 ZT 价格远远高于 BA,且初代培养污染率和褐化率均较高,大量使用 ZT 会增加快繁成本。该研究在初代培养中选用 BA 代替 ZT,其中 6 个品种均表现较好的生长状态,说明这些甜柿品种组织培

养中可以减少 ZT 的用量或用 BA 代替 ZT,进而明显降低快繁成本。

柿为木本植物,含单宁较多,易产生褐变,影响其成活。张妙霞^[4]等认为防止柿树外植体褐变死亡是柿树组织培养能否成功的关键所在。该试验发现,减少外植体伤口,适当缩短消毒时间可以有效降低褐变,提高柿组织培养成活率。

参考文献

[1] 王劲风,方正明.甜柿引种栽培[M].北京:中国农业出版社 1995:35.
[2] 孔祥生,张妙霞,杜爱玲,等.甜柿离体快繁技术研究[J].华中农业大学学报,1998,17(2):178-186.
[3] 刘恺,贾春风.甜柿品种“富有”组织培养技术研究[J].保定师范专科学校学报,2007,20(2):51-53.
[4] 张妙霞,孔祥生,郭秀璞,等.柿树组织培养防止外植体褐变的研究[J].河南农业大学学报 1999,33(1):1-5.

Frimary Culture of Seven Persimmon Cultivars

HU Hui-ling¹, ZHOU Rui-jin¹, MIAO Wei-dong¹, ZHANG Guo-fu¹, ZHANG Xiao-li²

(1.School of Horticulture and Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang Henan 453003; 2. Ruyang the Fourth Senior Middle, Pingdingshan, Henan 467000)

Abstract: Primary culture was conducted on the same medium (1/2N)MS supplemented with 6-BA 4.0 mg/L, IAA 0.2 mg/L, PVP 0.6 g/L, sucrose 30 g/L and agar 6.0 g/L, and dormant buds were taken as explants from seven persimmon cultivars including ‘ Jiro’, ‘ Nishimurawase’, ‘ Zenjimarū’, ‘ Okitsu20’, ‘ Xinqiu’, ‘ Maekawa’ and ‘ Youhou’. The results showed that the survival rate of ‘ Nishimurawase’, ‘ Okitsu20’, ‘ Xinqiu’ and ‘ Youhou’ were high up to 100%, the second was ‘ Maekawa’ (78%) and ‘ Jiro’ (70%), the lowest was ‘ Zenjimarū’ (9.5%). In the aspect of proliferation multiple, the medium was benefited proliferation of ‘ Zenjimarū’, and the effect of proliferation was obvious. The second was ‘ Nishimurawase’, the effect of proliferation of ‘ Youhou’ was the worst. In addition the effect of GA₃ in preliminary culture was also studied. The results indicated that the medium with GA₃ was benefit beginning development and elongation growth of persimmon dormant buds.

Key words: persimmon; dormant buds; primary culture

如何抢救乙烯利药害后的黄瓜

乙烯利是一种高效植物生长调节剂,具有增加雌花的作用,已成为一项比较成熟的增产技术。但由于生产上一些菜农不能准确掌握施用浓度,常因浓度过高而使幼苗生长停滞,出现花打顶或形成僵苗。黄瓜遭受乙烯利药害后的补救措施如下。

1 补充肥水 药害发生后,根据药害程度,及时增施速效氮肥,同时增加灌水次数,保证水肥供应充足。

2 提高棚温 正常情况下,黄瓜幼苗期白天适宜的温

度为 25~28℃、夜间 13~15℃;出现受害后,白天要将棚温提高到 30℃,夜间仍保持原来的低温,以促进幼苗生长和雌花继续分化。

3 激素调节 在黄瓜四叶一心期,如果施用乙烯利的浓度大于 200 mg/L 即发生药害,可立即喷施 20~50 mg/L 赤霉素溶液进行逆向调节,隔 7 d 左右再喷 1 次,一般 15 d 左右即能恢复正常。