

# 黄花梨茎段培养及植株再生

蔡小东, 李志保

(长江大学 园艺园林学院, 湖北 荆州 434025)

**摘 要:**以黄花梨的顶芽和带芽茎段为外植体,研究了不同生长调节剂组合对其丛生芽诱导及生根的影响。结果表明:顶芽和带芽茎段以 0.1% 的  $\text{HgCl}_2$  分别处理 10、13 min 为宜;适宜的增殖培养基是  $\text{MS}+1\text{ mg/L } 6\text{-BA}+0.5\text{ mg/L IAA}$ ;适宜的生根培养基是  $\text{MS}+2.0\text{ mg/L IBA}+0.5\text{ mg/L NAA}$ 。

**关键词:**梨;组织培养;芽诱导;快速繁殖

**中图分类号:**S 661.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)13-0128-02

梨是重要的落叶果树之一,在我国果品生产中占有重要地位。在生产中,梨因童期较长,实生苗通常需生长 5 a 才能结果<sup>[1]</sup>,因此主要采用嫁接繁殖<sup>[2-3]</sup>。由于梨生物学特性的限制,用常规育种手段改良梨品种的周期长、效率低,现代生物技术的发展为梨育种提供了新的方法<sup>[4-6]</sup>。梨组培快繁已经引起人们的重视,如何缩短育种时间和提高育种效率成为梨树育种工作者长期追求的目标<sup>[7-10]</sup>。该试验以黄花梨(*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. huanghua)的顶芽和带芽茎段为外植体,探讨不同的灭菌时间对梨外植体的灭菌效果的影响,并筛选出梨茎段诱导培养中适宜的生长调节剂组合。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料来自长江大学园艺园林学院设施园艺基地,取黄花梨的幼嫩茎段为外植体。

### 1.2 试验材料

**1.2.1 外植体处理** 分别从黄花梨植株上剪取约 5~8 cm 长的嫩梢,用自来水冲洗 0.5 h,在无菌条件下先用 70% 的酒精浸泡 30 s,无菌水冲洗 2 次,再用 0.1% 的  $\text{HgCl}_2$  溶液消毒后用无菌水冲洗 3~5 次。消毒时间分别设 7、10、13 及 16 min 时间梯度,外植体表面灭菌后备用。将上述处理后无菌茎段切成每节约 1 cm 长的带芽茎段和顶芽,分别接种于 MS 培养基中。每种处理接种 9 瓶,每瓶接种 3 个带芽茎段或顶芽。培养 21 d 后统计成活率和污染率。

**1.2.2 不定芽的诱导** 以 MS 为基本培养基,通过添加不同浓度 6-BA(0.5、1.5、3 mg/L)和 IAA(0.2、0.5、1 mg/L),共设计 9 种培养基(表 2)用于不定芽的诱

导。所有培养基均添加 30 g/L 蔗糖和 7.0 g/L 琼脂, pH 5.8。培养条件为温度 23~25℃,光强 1 500~2 000 lx,光照时间为 24 h。每种培养基接种 15 个外植体,30 d 后统计再生芽数,计算增殖率。

**1.2.3 生根培养** 将长约 2 cm 芽分别接种到  $\text{MS}+\text{NAA } 0.5\text{ mg/L}+(1、2、3\text{ mg/L})\text{ IBA}$  的生根培养基上,观察生根情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同的灭菌时间对外植体灭菌效果的影响

污染是植物离体培养中一个普遍存在的现象,表面消毒是一个十分重要的环节。由表 1 可知,对于顶芽而言, $\text{HgCl}_2$  处理时间为 10 min 时,污染率最低,成活率也最高;对于带芽茎段而言,升汞处理时间为 13 min 时,污染率低,成活率最高。从死亡的材料看,多为切割较小的材料。所以,对于梨外植体的表面灭菌处理时间,应按取材部位作适当的调整,顶芽  $\text{HgCl}_2$  处理时间在 10 min 为宜,带芽茎段  $\text{HgCl}_2$  处理时间 13 min 为宜。

表 1 不同灭菌时间对黄花梨外植体的影响

Table 1 Effect of different sterilization time on the explant of Huanghua pear

外植体 Explant	升汞处理 时间 Time of $\text{HgCl}_2$ - treating/min	外植体数 No. of explants /个	成活数 No. of survival explants/个	污染数 No. of infected explant/个	成活率 Rate of survival explant/%	污染率 Rate of infected explant/%
顶芽	7	27	9	15	33	55
	10	27	15	9	55	33
	13	27	12	12	44	44
	16	27	6	9	22	33
带芽茎段	7	27	6	15	22	55
	10	27	9	12	33	44
	13	27	15	9	55	33
	16	27	12	9	44	33

### 2.2 不同浓度植物生长调节剂配比对不定芽增殖的影响

植物组织培养过程中,为了得到更多的再生植株,往往需要进行增殖培养,以获得足够量的芽。梨茎段培养 20 d 后,腋芽萌动。培养 30 d 后腋芽萌发为 2~

第一作者简介:蔡小东(1978-),男,博士,讲师,现主要从事园艺植物生物技术方面的研究工作。E-mail:caixiao.dong@163.com。  
基金项目:长江大学引进人才启动资助项目(801190010101)。  
收稿日期:2011-04-11

3 cm左右的嫩绿色小芽(图 1A),有的可形成丛芽(图 1B)。在添加了不同浓度植物生长调节剂的 MS 固体培养基上培养 30 d 后,从表 2 可看出,培养基(8)上的芽生长较快,增殖率也较高,再生芽的增殖率平均达到了 11,几乎快达到了(9)号培养基上芽增殖率的 2 倍,这说明稍低浓度的 IAA 有利于梨芽的增殖。

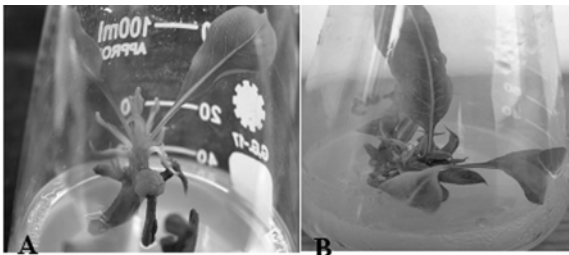


图 1 黄花梨再生芽(A. 单芽;B. 丛芽)  
Fig.1 Shoots regeneration from Huanghua pear  
(A. Single shoot; B. Multiple)

表 2 不同浓度的植物生长调节剂配比  
对梨芽增殖的影响

Table 2 Effects of different concentration of PGRs  
on multiplication of shoots of Huanghua pear

培养基 Medium	植物生长调节剂浓度 Concentration of PGRs/mg · L <sup>-1</sup>	增殖率 Rate of multiplication/倍
(1)	MS+6-BA 0.5+IAA 0.2	4.1
(2)	MS+6-BA 0.5+IAA 0.5	4.5
(3)	MS+6-BA 0.5+IAA 1.0	5.1
(4)	MS+6-BA 1.5+IAA 0.2	5.6
(5)	MS+6-BA 1.5+IAA 0.5	6.0
(6)	MS+6-BA 1.5+IAA 1.0	6.1
(7)	MS+6-BA 3+IAA 0.2	8.1
(8)	MS+6-BA 3+IAA 0.5	11.0
(9)	MS+6-BA 3+IAA 1.0	6.3

2.3 不同浓度的植物生长调节剂对生根的影响

挑选部分较为健壮的芽进行根的诱导,以获得黄花梨的完整植株。将这些芽分别转移至(10)、(11)和(12)号固体生根培养基上。结果表明,以添加 2.0 mg/L IBA、0.5 mg/L NAA 的培养基诱导生根效果最好,生根较快,根系生长正常,根较多(表 3)。

3 讨论与结论

污染一般分为真菌性污染和细菌性污染,其来源可分成三大类:材料带菌、接种污染、培养过程污染。污

表 3 不同浓度的植物生长调节剂配比  
对芽诱导生根的影响

培养基	植物生长调节剂浓度/mg · L <sup>-1</sup>	生根率/%
(10)	MS+IBA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L	4.0
(11)	MS+IBA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L	7.1
(12)	MS+IBA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L	5.1

染是植物组织培养过程中的难题,特别在春夏季高温高湿季节组培苗的污染率相当高。就培养材料而言,一般是外植体本身带菌或其表面杀菌不彻底<sup>[8]</sup>。可采用选择生长健壮的植株取材,对不同的外植体选用不同的处理方法解决以上 2 种情况所带来的问题。该研究茎段外植体用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 灭菌 13 min 消毒效果较好,而顶芽外植体用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 溶液灭菌 10 min 消毒效果较好。但试验中污染率还是很大,有待进一步的研究去解决。影响植物组织培养成功的因素很多,一般主要有:培养基的成分及 pH 值、供体植物的基因型、外源激素的种类和浓度、外植体的年龄和来源、碳源的种类和浓度。该研究所选用的外植体是顶芽和带腋芽的茎段,有助于获得再生的植株。该研究对黄花梨的离体保存和快繁有一定借鉴意义。

参考文献

[1] 郗荣庭. 果树栽培学总论[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1997: 7-42.  
[2] 李仲芳. 梨矮化砧木与栽培品种嫁接亲和性试验研究初报[J]. 甘肃高等师范专科学校学报, 2005(5): 54-55, 70.  
[3] 李洁维, 蒋桥生, 龚弘娟, 等. 南方优质梨翠冠在广西生态环境下的砧木选择试验[J]. 湖北农业科学, 2008, 47(6): 679-681.  
[4] Prevati A, Da Re F, Bassi D, et al. Development of protocols for in vitro rooting of advanced selections of *Pyrus communis* rootstocks[J]. Acta Hort, 2002, 596: 485-486.  
[5] 苏艳丽, 魏闻东, 田鹏. 红星梨茎段组织培养研究[J]. 江苏农业科学, 2010(6): 80-82.  
[6] 李丹丹, 王忆, 韩振海, 等. 应用正交设计对组培杜梨快速繁殖的研究[J]. 北方园艺, 2009(1): 47-48.  
[7] 谭雪辉, 刘洪章. 梨组织培养与遗传转化研究进展[J]. 北方园艺, 2007(1): 147-149.  
[8] 汤绍虎, 李道高. 梨组织培养再生技术研究进展[J]. 西南农业大学学报, 2002, 24: 21-23.  
[9] 关崇梅, 秦静远, 徐志英, 等. 梨茎尖分生组织培养与快速繁殖技术研究[J]. 中国农学通报, 2004, 20(4): 33-35.  
[10] Tang H, Luo Y, Liu C. Plant regeneration from *in vitro* leaves of four commercial *Pyrus* species[J]. Plant soil environ, 2008, 54(4): 140-148.

Stem Culture of Huanghua Pear and Plant Regeneration

CAI Xiao-dong, LI Zhi-bao  
(College of Horticulture and Gardening, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025)

**Abstract:** Fresh stem segments with buds and shoot tips with young leaves of *Pyrus pyrifolia* Nakai cv. *huanghua* were used as explants in this study to explore the effects of different concentration of plant growth regulators(PGRs) on shoot and root induction. The results showed that, the appropriate treatment for shoot tips were treated by 0.1% HgCl<sub>2</sub> for 10 min, whereas stem segments with buds should be subjected to be treated by 0.1% HgCl<sub>2</sub> for 13 min. The suitable medium for cluster shoots induction and multifunction was MS+1 mg/L 6-BA+0.5 mg/L IAA. The optimum medium for root induction was MS+2.0 mg/L IBA+0.5 mg/L NAA.

**Key words:** *Pyrus*; tissue culture; shoot induction; rapid propagation