

“桃豫农矮砧 1 号”快繁体系中增殖培养基的初探

杜保伟, 方 庆, 胡月华, 李 君, 杨囡君, 决 超

(商丘职业技术学院, 河南 商丘 476000)

摘 要:以“桃豫农矮砧 1 号”的初代培养苗为外植体,以 MS 培养基为基本培养基,附加不同浓度的 6-苄基腺嘌呤(6-BA)和 3-吲哚丁酸(IBA),筛选“桃豫农矮砧 1 号”快繁体系的最佳增殖培养基,从而为建立“桃豫农矮砧 1 号”高效的快繁体系提供参考依据。结果表明:MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L 为最佳增殖培养基,在保证苗正常生长的同时,增殖倍数也最高,为 2.33 倍。

关键词:桃;快繁;增殖培养基;组织培养

中图分类号:S 662.103.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)21-0127-04

桃是一种世界性大宗果品,从地球的南、北纬 30°~40°的广大范围内,都有其商业性栽培。随着果树生产技术的不断创新,桃树矮化栽培已成为果树生产中具有方向性的改革措施^[1],多年来,不少国家桃的育种者一直在寻求桃树矮化栽培的途径,但是,在苹果、梨、甜樱桃等落叶果树的矮化栽培已取得巨大成功的情况下,桃的矮化栽培一直未取得突破,主要原因是迄今为止未能找到桃的理想矮化砧木,主要问题是从桃种内选育的砧木多无矮化效果,从种间杂种中选育的砧木多有亲和性障碍。然而,最近在桃矮化砧木的选育方面取得了重要进展,“桃豫农矮砧 1 号”是通过毛桃实生选种得到的半矮化变异类型,其冠幅只有毛桃的 2/3,可控制树势,提早结果,改善品质,是比较理想的矮化砧木^[3]。但其只能用嫁接繁殖,费工费力,不能满足苗木的生产供应。

现在,用组织培养的方法,建立桃矮化砧木的快繁体系来解决其繁殖问题,从而为桃矮砧木苗的工业化生产提供理论和技术支持。经嫁接试验证明以“桃豫农矮砧 1 号”为砧木嫁接到李、杏上,其长势同样良好。因此,建立“桃豫农矮砧 1 号”的快速繁殖体系对桃、杏、李的栽培均有重要的意义。

快繁体系中的增殖培养是整个体系建立中的一个关键环节^[2],它可为之后的生根培养和工厂化育苗打下坚实的基础。尽管国外桃矮化砧木组培快繁技术已经较为成熟,但国内关于桃矮化砧木组培快繁技术的相关报道却很少,国内依然无成熟的桃矮化砧木快繁体系^[3]。试验是在桃矮化砧木灭菌体系的建立及初代培养的建立基础上继续进行,目的是为建立健全桃矮化砧

木快繁体系打下坚实的基础。由于植物茎段培养具有变异小、性状均一、繁殖速度快等优点,现以“桃豫农矮砧 1 号”的茎段作为试验材料,采用 MS 为初代培养基,附加不同浓度生长素和细胞分裂素,组成不同的处理组合,经过比较、分析,筛选出最适宜的增殖培养基,以期快繁体系的建立打下坚实的基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以河南农业大学林学院园艺学院中心实验室的“桃豫农矮砧 1 号”的初代培养苗为试材。

1.2 试验方法

试验于 2011 年 5 月中旬在商丘职业技术学院组织培养实验室进行。

1.2.1 培养基的配制 试验以 MS 为基本培养基,加以不同浓度的 IBA 和 6-BA,再附加蔗糖 30 g/L,琼脂粉 7 g/L,pH 5.8,分装至提前洗净、烘干、并做好标记的三角瓶中,冷却封口,用高压灭菌锅 121℃ 灭菌 15 min 备用。

1.2.2 外植体的接种及培养条件 在无菌工作台上,用经过高温灭菌的镊子将初代培养苗从三角瓶中取出,去掉叶尖发黄的、或者长势不好的叶片,用剪刀在初代培养苗的茎段基部垂直苗茎剪下 2 cm 左右带芽的苗茎段,接种到增殖培养基中,在培养基深度的 1/2 左右为宜,用封口膜封口,放入温箱培养。培养温度为(25±2)℃,光照强度 2 000 lx,光暗周期为 14/10 h。

1.2.3 增殖培养基中适宜的 6-BA 浓度的筛选 将“桃豫农矮砧 1 号”初代培养苗的茎段接入附加有 0.1 mg/L IBA 和不同浓度的 6-BA 的 MS 基本培养基上,6-BA 浓度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、1.5 mg/L,培养条件同 1.2.2,20 d 后观察并统计增殖倍数。

1.2.4 增殖培养基中适宜的 IBA 浓度的筛选 将“桃

第一作者简介:杜保伟(1968-),男,硕士,副教授,现主要从事遗传育种与栽培等研究工作。E-mail:dubaowei626877@sina.com。

基金项目:河南省科技转化资助项目(30400224)。

收稿日期:2014-06-10

豫农矮砧1号”初代苗的茎段接入附加有1.5 mg/L的6-BA和不同浓度的IBA的MS基本培养基,IBA浓度分别为0.1、0.3、0.5、1.0 mg/L。培养条件同1.2.2,培养20 d后观察并统计增殖倍数。

1.2.5 增殖培养中适宜激素浓度组合的筛选 “桃豫农矮砧1号”快繁体系中增殖培养基的筛选是以MS为基本培养基,附加不同浓度比例的细胞分裂素6-BA和生长素IBA组成20个处理组合(表1)。培养条件同1.2.2。其中每个处理接种30瓶,3次重复,每个重复10瓶,培养20 d后统计增殖结果。根据芽的生长情况和芽的增殖倍数(增殖倍数指接种20 d后每瓶试管苗所形成的1.0~1.5 cm的单芽茎段数与所接种芽数的比值)筛选出合适的激素最佳浓度组合,确定最佳增殖培养基。

表1 “桃豫农矮砧1号”不同增殖培养基处理组合

Table 1 The treatment combination of different culture medium of ‘Peach dwarf Yunong No. 1 rootstock’

处理 Treatment	6-BA /(mg·L ⁻¹)	IBA /(mg·L ⁻¹)
1	0.5	0.1
2	0.5	0.3
3	0.5	0.5
4	0.5	1.0
5	1.0	0.1
6	1.0	0.3
7	1.0	0.5
8	1.0	1.0
9	1.5	0.1
10	1.5	0.3
11	1.5	0.5
12	1.5	1.0
13	2.0	0.1
14	2.0	0.3
15	2.0	0.5
16	2.0	1.0
17	2.5	0.1
18	2.5	0.3
19	2.5	0.5
20	2.5	1.0

2 结果与分析

2.1 不同细胞分裂素、生长素对“桃豫农矮砧1号”增殖培养的影响

2.1.1 不同浓度6-BA对“桃豫农矮砧1号”增殖的影响

由图1可知,6-BA的浓度对初代苗的增殖有较大影响。当IBA浓度一定时,6-BA在0.5~1.5 mg/L浓度范围内,增殖倍数随6-BA浓度的增加而增加;当6-BA浓度为0.5 mg/L时,有效新梢较少,增殖倍数较低。当6-BA浓度为1.5、2.0 mg/L时,增殖倍数较高,分别为1.94、1.64倍,其植株顶端优势明显。当浓度为2.5 mg/L时,玻璃化苗的分化率明显升高,畸形苗增多。可能是6-BA浓度过高导致试管苗质量和增殖倍数下降的原因。

2.1.2 不同浓度IBA对“桃豫农矮砧1号”增殖的影响

由图2可知,生长素IBA浓度在0.1~0.3 mg/L,随着浓度的升高,不仅增殖倍数增大,而且植株节间较大,高

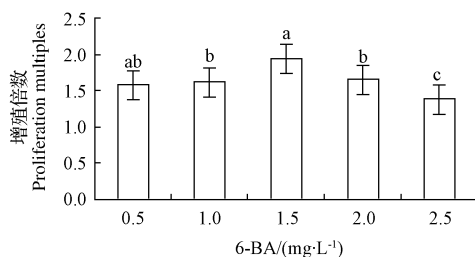


图1 不同浓度6-BA对“桃豫农矮砧1号”增殖的影响

Fig. 1 Effect of proliferation on ‘Peach dwarf Yunong No. 1 rootstock’ with different 6-BA concentration treatment

度增加,有效新梢数增加。当浓度超过0.3 mg/L时,随浓度的升高,嫩茎的增殖倍数呈下降趋势,基部愈伤组织逐渐增大,严重影响植株生长。当生长素浓度为1.0 mg/L时,抑制节间伸长,停止生长,容易产生毒害。

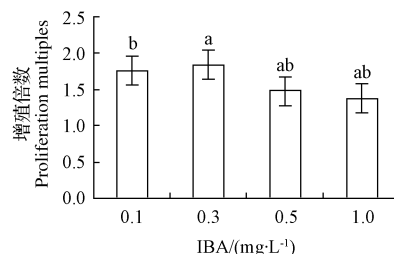


图2 不同浓度IBA对“桃豫农矮砧1号”增殖的影响

Fig. 2 Effect of proliferation on ‘Peach dwarf Yunong No. 1 rootstock’ with different IBA concentration treatment

2.2 不同激素组合处理对“桃豫农矮砧1号”增殖培养的影响

由表2可知,单方面看,当6-BA浓度分别为1.0 mg/L和2.0 mg/L时,随着IBA浓度增加,增殖倍数总体均下降(处理5、6、7、8、13、14、15、16),当6-BA浓度分别为0.5、1.5、2.5 mg/L时,随着IBA浓度的变化,增殖倍数都是先升高后降低,且都是在IBA浓度为0.3 mg/L时增殖倍数最大,表明IBA浓度为0.3 mg/L时最适合豫农矮砧木的增殖。当IBA浓度一定时,随着6-BA浓度的增加,增殖倍数先增加后减小,且当6-BA浓度为1.5 mg/L时效果最好

总体来看,对增殖来讲,茎段芽苗需要较高浓度的6-BA(1.5 mg/L)及低浓度IBA(0.3 mg/L);而对生长来讲,需要较低浓度的6-BA(1.0 mg/L)及高浓度的IBA(0.5 mg/L);试验结果证明了生长与增殖是一对矛盾,生长与增殖不能同时满足,只能根据生长需要适当调整激素浓度。因为该试验的主要目的是提高增殖倍数,表明以处理10培养基MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L增殖倍数较高,同时苗的生长也能基本保证,玻璃化现象较少。

表2 “桃豫农矮砧1号”不同增殖培养基处理组合的效果分析

Table 2 Effect analysis of different culture medium of proliferation of ‘Peach dwarf Yunong No. 1 rootstock’

处理 Treatment	6-BA /(mg·L ⁻¹)	IBA /(mg·L ⁻¹)	增殖倍数 Proliferation multiples
1	0.5	0.1	1.67abc
2	0.5	0.3	1.89abc
3	0.5	0.5	1.37bc
4	0.5	1.0	1.35bc
5	1.0	0.1	1.81abc
6	1.0	0.3	1.69abc
7	1.0	0.5	1.42bc
8	1.0	1.0	1.19c
9	1.5	0.1	2.03ab
10	1.5	0.3	2.33a
11	1.5	0.5	1.75abc
12	1.5	1.0	1.67abc
13	2.0	0.1	1.81abc
14	2.0	0.3	1.72abc
15	2.0	0.5	1.64abc
16	2.0	1.0	1.40bc
17	2.5	0.1	1.47bc
18	2.5	0.3	1.53abc
19	2.5	0.5	1.21bc
20	2.5	1.0	1.27bc

3 结论与讨论

该试验的最佳增殖培养基为 MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L,在保证苗正常生长的同时,培养苗增殖倍数最高,达到 2.33 倍。

不同的桃品种对细胞分裂素、生长素的类型和浓度要求不同^[4]。试验以“桃豫农矮砧1号”初代培养苗为试验材料,其最佳增殖培养基为 MS+1.5 mg/L 6-BA+0.3 mg/L IBA。尚霄丽^[5]认为 G、MS 这 2 种基本培养基对桃杂种单株“2-7”的植株生长作用良好,而且发现它的增殖倍数也是可观的。孙俊等^[6]以“青研1号”桃为例,得出其最适生长调节剂的配比为 1.0 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA。尚敏克等^[7]以晚熟桃“90-11-36”为例,得出其最适的新梢增殖的培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L。孙其宝等^[8]以“安农水蜜”为试材,得出随 6-BA、IBA 浓度的增高,其相应的增殖倍数也会有所增加。田增胜等^[9]的结果表明,不同浓度的 TDZ 和 KT 对“华光”、“曙光”油桃增殖效应不同,在 G 培养基中加入 TDZ 2.0 mg/L 和 KT 1.5 mg/L 处理效果最好。白美发等^[10]的结果表明“京玉”桃品种在添加 BA 2.5 mg/L 和 IBA 1.0 mg/L 的 MS 增殖培养基中,诱导出芽率为 78%。所以,桃不同品种继代培养基中细胞分裂素大多使用 6-BA,浓度为 1.0~2.5 mg/L 范围内;使用 IBA、NAA 2 种生长素,有很大的浓度差异。对于使用

细胞分裂素而言,它可以使细胞分化和分裂,控制其顶端发展,有利于其侧芽的生长。在该试验中增强培养基 6-BA 的浓度可以增加出芽的数量和质量,但如果 6-BA 浓度过高的话容易导致:有效芽少,丛生芽小而多,不可能有效的进行增殖;出现很多的不能增殖和生根的玻璃化苗,失掉了有效的利用价值。试验证明当 6-BA 浓度为 2.0 mg/L 时,由于试管玻璃化苗的分化率有明显的增强现象,从而使试管苗的增殖倍数相应下降。Debergh^[11]报道培养基中低浓度的 6-BA 可有效地抑制玻璃化苗地产生。生长素 IBA 浓度在 0.1~0.5 mg/L 时,浓度越大,增殖倍数越大,而且植株节间较大,高度增加,有效新梢数增加。当 IBA 浓度超过 0.5 mg/L 时,随浓度的升高,嫩茎的增殖倍数呈下降趋势,基部愈伤组织逐渐增大,严重影响植株生长。当生长素浓度为 1.0 mg/L 时,抑制节间伸长,停止生长,容易产生毒害。

该试验筛选了较为合适的增殖培养基及细胞分裂素和生长素浓度,为“桃豫农矮砧1号”的快繁奠定了基础,接下来将研究生根培养基的选择以及生根后试管苗的移植。在试验当中还发现了一些问题,如培养基污染的问题还没有彻底解决,希望同行在此方向再次合作和共同努力,为我国的桃树的栽培和发展做出应有贡献。

参考文献

- [1] 虞锦星,江逸嗣,陆淑俊. 桃树矮化密植早结果早丰产栽培技术[J]. 果树学报,1994(4):267-268.
- [2] 崔德才、徐培文. 植物组织培养与工厂化育苗[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
- [3] 张子明. 果树砧木论文集[C]. 中国农业科学院郑州果树研究所,1985.
- [4] 尚敏克,姜国斌,伊伟伦,等. 晚熟桃的离体组织培养[J]. 辽宁林业科技,2002(3):5-7.
- [5] 尚霄丽. 李属种间杂交亲和性及杂种离体培养的研究[J]. 河南农业大学,2006(2):6-7.
- [6] 孙俊,孙其宝,俞飞飞,等. 桃快速繁殖技术体系的研究[J]. 安徽农业科学,2003,31(5):731-732.
- [7] 尚敏克,姜国斌,伊伟伦,等. 晚熟桃的离体组织培养[J]. 辽宁林业科技,2002(3):5-7.
- [8] 孙其宝,俞飞飞,孙俊,等. 安农水蜜的离体培养[J]. 安徽农业科学,2002,30(6):950-964.
- [9] 田增胜,韩明玉,张满让,等. 影响早熟油桃茎尖培养增殖效率的因素[J]. 果树学报,2005(3):279-282.
- [10] 白美发,姜国斌,伊伟伦,等. 桃树的组培快繁试验[J]. 落叶果树,2004(3):7-8.
- [11] Debergh P C. Effects of agar brand and concentration on the tissue culture medium [J]. Physiol Plant, 1983,59:270-276.

Selection of the Suitable Proliferation Medium in the Rapid Propagation System of ‘Peach Dwarf Yunong No. 1 Rootstock’

DU Bao-wei, FANG Qing, HU Yue-hua, LI Jun, YANG Nan-jun, JUE Chao
(Shangqiu Polytechnic, Shangqiu, Henan 476000)

重阳木叶片佛州龟蜡蚧空间分布格局

刘婉华¹, 徐家生¹, 戴小华^{1,2}, 廖承清¹, 赖盛昌¹, 李国胜¹

(1. 赣南师范学院 生命与环境科学学院潜叶昆虫研究组, 江西 赣州 341000; 2. 国家脐橙工程技术研究中心, 江西 赣州 341000)

摘要:以重阳木为试材, 调查了重阳木(*Bischofia polycarpa*)叶片上佛州龟蜡蚧(*Ceroplastes floridensis*)的空间分布格局。结果表明:多数叶片上佛州龟蜡蚧的个体数不多, 每叶虫数与叶片数呈明显幂函数递减关系;该蜡蚧主要分布在重阳木正面叶脉, 背面叶脉次之, 叶脉间最少;在叶片正面主脉两侧的叶脉上其密度接近正态分布, 叶片中部叶脉的蜡蚧密度显著高于叶片基部和叶片端部。根据佛州龟蜡蚧在重阳木叶脉上的分布规律, 提出了一些佛州龟蜡蚧的防治建议。

关键词:佛州龟蜡蚧;重阳木;叶脉;空间分布

中图分类号:S 792.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)21-0130-03

佛州龟蜡蚧(*Ceroplastes floridensis* Comstock)属半翅目胸喙亚目蜡蚧科, 在我国分布于河北、山东、江苏、安徽、湖北、江西、广东等地, 寄主为木本植物, 多达 31 种^[1]。一年 2 代, 春末及秋初产卵^[2]。以若虫和雌成虫刺吸枝条、叶片汁液, 降低叶片光合作用, 严重时可导致枝条枯死^[3]。重阳木(*Bischofia polycarpa*)属大戟科秋枫属落叶乔木, 产于秦岭、淮河流域以南至福建和广东北部, 常栽培为行道树^[4]。该研究通过对重阳木叶片佛州龟蜡蚧数量的调查统计, 分析其空间分布特征, 以期对佛州龟蜡蚧的防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验地点为江西省赣州市赣南师范学院黄金校区

第一作者简介:刘婉华(1988-), 女, 内蒙古大板人, 硕士研究生, 研究方向为潜叶昆虫和昆虫生态学。E-mail: 9778129@qq.com.

责任作者:戴小华(1973-), 男, 福建长汀人, 博士, 教授, 现主要从事潜叶昆虫和昆虫生态学等研究工作。E-mail: ecoinformatics@gmail.com.

基金项目:江西省青年科学家培养对象计划资助项目(20133BCB23026)。

收稿日期:2014-05-20

东门, 调查日期为 2013 年 12 月, 该时期重阳木部分叶片和枝条上一种蚧类为害严重, 且集中在叶脉和嫩枝上。经北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室王戎勃和邓鋈通过形态特征和分子鉴定, 确定该虫为佛州龟蜡蚧。

1.2 试验方法

对两侧所有 6 株重阳木的叶片进行随机采样, 共采集带有佛州龟蜡蚧的叶片 314 片, 统计其正反面各叶脉(主脉和侧脉)及叶脉间佛州龟蜡蚧的数量, 并用短棉线测量各叶脉长度, 计算单位叶脉长度上龟蜡蚧的密度(个/cm)。

1.3 数据分析

叶脉间龟蜡蚧密度差异采用方差分析(ANOVA), 两两比较检验采用 Tukey-Kramer 法。统计软件为 PAST 3.01^[5]。

2 结果与分析

2.1 重阳木佛州龟蜡蚧每叶频数分布

重阳木叶片正面叶脉上的佛州龟蜡蚧频数主要集中于 0~10 和 11~20 这 2 个区段, 分布呈幂函数递减趋势(图 1)。而在重阳木叶片背面叶脉上佛州龟蜡蚧的频数分布则明显集中于 0~4 范围内, 其数量约占总叶片数的 82.8%, 频数分布呈幂函数递减趋势(图 2)。仅 36.6% 的

Abstract: Taking original culture buds of 'Peach dwarf Yunong No. 1 rootstock' as explants, MS as basic medium, different concentration 6-BA and IBA were configured. The experiment was carried out by looking for the suitable proliferation medium of 'Peach dwarf Yunong No. 1 rootstock' rapid propagation system, as a basis for establishing the 'Peach dwarf Yunong No. 1 rootstock' rapid propagation system. The results showed that the best proliferation medium was MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L, which not only the culture seedling could be ensured, but also the highest proliferation multiples could be ensured, which was 2.33.

Keywords: peach; rapid propagation; proliferation medium; tissue culture