

樱桃矮化砧的组培快繁技术研究

成密红¹, 郭军战*, 成鸿飞²

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 陕西省龙草坪林业局, 陕西 佛坪 723401)

摘 要:以中华矮樱、Gisela-5、Gisela-7 为供试材料, 进行组培快繁技术研究, 结果表明中华矮樱适宜的初代培养基为 MS+6-BA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹, 增殖培养基为 MS+6-BA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹, 生根培养基为 1/2MS+NAA 0.8 mg · L⁻¹; Gisela-5 号适宜的初代培养基为 MS+6-BA 0.8 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹, 增殖培养基为 MS+6-BA 0.8 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹, 生根培养基为 1/2MS+NAA 0.5 mg · L⁻¹; Gisela-7 适宜的初代培养基为 MS+6-BA 0.8 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹, 增殖培养基为 MS+6-BA 0.8 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹, 生根培养基为 1/2MS+NAA 0.5 mg · L⁻¹。

关键词:中华矮樱; Gisela-5 号; Gisela-7 号; 组培快繁

中图分类号: S662.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-7461(2006)01-0082-03

On Techniques of Tissue Culture of Cherry Dwarf Rootstock

CHENG Mi-hong¹, GUO Jun-zhan^{1*}, CHENG Hong-fei²

(1. College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

2. Shaanxi Province Longcaoping Forestry Bureau, Foping, Shaanxi 723401, China)

万方数据

Abstract: Taking Chinese low cherry, Gisela-5 cherry and Gisela-7 cherry as experimental materials, techniques of tissue culture were studied. The results showed that, the most suitable primary culture medium for Chinese low cherry was MS+6-BA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹, propagation culture medium is MS+6-BA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹, root culture medium 1/2MS+NAA 0.8 mg · L⁻¹; the best primary culture medium for Gisela-5 cherry was MS+6-BA 0.8 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹, propagation culture medium MS+6-BA 0.8 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹, root culture was 1/2MS + NAA 0.5 mg · L⁻¹; for Gisela-7 cherry, primary culture was MS+6-BA 0.8 mg · L⁻¹ + NAA mg · L⁻¹ 0.1 mg · L⁻¹, propagation culture medium MS+6-BA 0.8 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹, root culture medium 1/2MS+NAA 0.5 mg · L⁻¹.

Key words: Chinese low cherry; Gisela-5 cherry; Gisela-7 cherry; tissue culture

中华矮樱桃, 是原产于山东省莱阳市的中国樱桃的一个矮生类型, 树体紧凑矮小, 树势强健, 树姿直立, 枝条粗壮, 节间短, 叶片大而肥厚, 叶色浓绿, 根系发达, 须根较多, 固地性强^[1], 既是适于栽培的品种, 又是优良的矮化砧木^[2,3]。

由德国 Justus Liebig 大学果树研究所选育的 Gisela 系列砧木品种^[4]具有适应性强、矮化、嫁接樱桃品种苗亲和力强^[5], 抗根癌病^[6], 树体矮化紧凑, 早结果、早丰产等优良特性, 是世界公认优良樱桃矮化砧木^[7~9]。中华矮樱、Gisela-5、Gisela-7 是适应性广、嫁接亲和性好、丰产和早果性极好的樱桃矮化砧

木, 它们种子萌发率低, 实生苗易感染病毒, 扦插繁殖系数低, 因而在生产实践中的应用受到极大的限制^[1,2,7,9]。因此, 应用组培快繁技术大规模繁殖显得非常必要, 有着广阔的前景。

1 材料与方法

1.1 供试材料

外植体为从陕西省苗木繁育中心分别于 2003 年 12 月初采的中华矮樱、Gisela-5、Gisela-7 一年生枝条上的休眠芽(设为材料 1), 3 月中旬采回的一年生枝条在 0.25 mg · L⁻¹ 头孢氨苄胶囊水溶液中水

收稿日期: 2005-05-24 修回日期: 2005-06-13

基金项目: 陕西省苗木繁育中心项目“林果新品种引种与克隆”(14220304)

作者简介: 成密红(1974-), 女, 陕西武功人, 讲师, 在读硕士, 主要从事林木遗传育种研究。

培 10 d 左右已萌发的芽(设为材料 2)和 5 月中旬采回的当年生嫩枝(设为材料 3)。

1.2 培养基

初代培养基(1)MS、添加 6-BA 0.5、0.8、1.0 mg · L⁻¹, NAA 0.05、0.1 mg · L⁻¹, 蔗糖 3% 设 6 个组合。增殖培养基(2)MS、添加 6-BA 0.5、0.8、1.0、1.5, NAA mg · L⁻¹ 0.05、0.1、0.2, 蔗糖 3%, 设 10 个组合。诱导生根培养基:(3)1/2MS+NAA 0.2、0.5、0.8、1.0 mg · L⁻¹, 蔗糖 1.5%, 设 4 个组合。以上培养基 pH 值均为 5.8~6.0, 琼脂 0.6%。

1.3 消毒方法

将供试材料在流水下冲洗 1 h 后, 装入磨口玻璃瓶中, 在超净工作台上用 75% 酒精浸 30 s, 再用 0.1% HgCl 表面分别消毒 4、5、6、7 min, 无菌水冲洗 5~6 次。

1.4 培养条件

培养温度(25 ± 2)℃, 光照时间 12 h · d⁻¹, 光照强度 2 000 lx。

1.5 初代培养

将供试材料经消毒和相关处理接种在初代培养基上培养。

1.6 增殖生根培养

将无菌芽接种在增殖培养基上筛选最佳的激素浓度配比。

将无菌芽接种在生根培养基上筛选最佳的生根 NAA 浓度。

2 结果与分析

2.1 不同供试材料与污染率

将消过毒的材料 1 的芽鳞剥掉接种到初代培养基; 材料 2 和材料 3 均除去受伤切面接种到初代培养基; 结果表明(表 1): 在相同的消毒处理(75% 酒精浸 30 s, 0.1% HgCl 分别消毒 5、6 min)条件下 2004 年 3 月中旬采回的在 0.25 mg · L⁻¹ 头孢氨苄胶囊水溶液中水培 10 d 左右的一年生枝条上已萌发的芽(材料 2)接种后污染率最小, 未污染率可达 90% 以上, 其次为 2004 年 5 月中旬采回的当年生嫩枝(材料 3), 可达 80% 左右, 而 2003 年 12 月初采回的一年生枝条上的休眠芽(材料 1)污染率最高且初代培养接种操作复杂。

2.2 初代培养

经消毒处理的材料 2 的无菌茎尖接种到初代培养基中, 在合适的培养基上 10 d 茎尖开始萌动并迅速增大, 30 d 可长成有 3~4 片展开叶且有茎段抽出

表 1 不同供试材料污染情况

Table 1 The pollution percent of different experimental materials

材料名称	0.1%HgCl 消毒 5 min			0.1%HgCl 消毒 6 min		
	接种数/个	未污染数/个	未污染率/%	接种数/个	未污染数/个	未污染率/%
1	20	5	25	25	9	36
2	22	20	91	27	25	92
3	26	19	73	17	14	83

注: 未污染率为未污染的株数/接种株数

的试管苗, 在不适宜的培养基上只能展叶而不抽茎段。结果表明(表 2), 中华矮樱桃在 MS+6-BA 1.0 + NAA 0.1 培养基上生长叶片浓绿, 有茎段抽出, 生长健壮, 确定 MS+6-BA 1.0 + NAA 0.1 为中华矮樱桃初代培养基; Gisela-5 和 Gisela-7 虽在 5 号

和 6 号培养基上都能正常展叶但在 6 号培养基上基部愈伤化相对较严重, 叶片枯黄, 只展叶, 不抽茎段, 在 5 号培养基上, 根部几乎无愈伤化, 叶片浓绿, 生长正常, 故确定 MS+6-BA 0.8 + NAA 0.1 为 Gisela-5 和 Gisela-7 的初代培养基。

表 2 不同培养基对矮化砧初代培养的影响

Table 2 Effect of diffirent culture medius to cherry dwarf rootstock' primary culture

序号	培养基	中华矮樱			Gisela-5			Gisela-7		
		接种数	茎尖分化株数	分化率/%	接种数	茎尖分化株数	分化率/%	接种数	茎尖分化株数	分化率/%
1	MS+6-BA0.5+NAA0.05	13	5	38	13	4	31	14	5	36
2	MS+6-BA0.8+NAA0.05	15	6	40	15	5	33	15	4	27
3	MS+6-BA1.0+NAA0.05	16	3	19	12	3	25	12	6	50
4	MS+6-BA0.5+NAA0.1	14	5	36	12	6	50	13	4	31
5	MS+6-BA0.8+NAA0.1	15	13	87	13	11	85	15	13	87
6	MS+6-BA1.0+NAA0.1	16	15	94	15	13	86	19	18	95

注: 分化率为茎尖能分化的外植体株数/接种的外植体株数。

2.3 继代扩繁

试管苗经切段后, 每段带 1、2 片叶或基部芽团, 接种到增殖培养基中, 结果表明(表 3)芽的增殖倍

数和生长情况取决于 BA 和 NAA 二者的相对浓度和比例。中华矮樱桃在 10 号培养基上增殖倍数虽最高但基部愈伤化严重, 叶片黄化, 生长细弱, 在 9 号

培养基上增殖倍数虽不如 10 号培养基上高,但基部愈伤化轻,叶片浓绿,生长健壮,确定 MS+6-BA 1.0+NAA 0.2 为其最适增殖培养基;同样原因确定 MS+6-BA 0.8+NAA 0.2 为 Gisela-5 的最适增殖培养基;Gisela-7 在 5 号培养基上增殖倍数

虽不如 6 号培养基上高,但,基部愈伤化少,叶片浓绿,生长健壮,而在 7~10 号培养基上其增殖倍数虽高,但其出现玻璃化且叶片小,呈不正常的类似植物丛枝病的丛生状,故确定的 MS+6-BA 0.8+NAA 0.1 为 Gisela-7 最适增殖培养基。

表 3 不同浓度 BA 和 NAA 浓度组合矮化砧增殖倍数的影响

Table 3 Effect of diffirent BA and NAA' concentrations on cherry dwarf rootstock' proliferate multiple

序号	培养基	中华矮樱			Gisela-5			Gisela-7		
		培养前	培养后	增殖	培养前	培养后	增殖	培养前	培养后	增殖
		嫩茎数	嫩茎数	倍数	嫩茎数	嫩茎数	倍数	嫩茎数	嫩茎数	倍数
1	MS+6-BA0.5+NAA0.05	19	29	1.5	20	36	1.8	13	17	1.3
2	MS+6-BA0.8+NAA0.05	21	40	1.9	15	31	2.1	12	20	1.7
3	MS+6-BA1.0+NAA0.05	26	49	1.9	18	47	2.6	11	23	2.1
4	MS+6-BA0.5+NAA0.1	22	66	2.0	13	30	2.3	13	27	2.1
5	MS+6-BA0.8+NAA0.1	20	80	2.5	13	39	3.0	11	40	3.6
6	MS+6-BA1.0+NAA0.1	23	69	3.0	16	57	3.6	15	57	3.8
7	MS+6-BA0.5+NAA0.2	22	68	3.1	19	72	3.8	14	41	2.9
8	MS+6-BA0.8+NAA0.2	20	80	4.0	12	54	4.5	12	49	4.1
9	MS+6-BA1.0+NAA0.2	19	95	5.0	17	85	5.0	13	60	4.6
10	MS+6-BA1.5+NAA0.2	11	60	5.5	12	63	5.3	11	66	6.0

注:增殖倍数为接种后培养 40 d 左右分化的嫩芽数/接种初的嫩芽数。

2.4 生根培养基的筛选

将 3.0 cm 以上的试管苗剪去基部接种到生根培养基上,结果表明(表 4),在一定的浓度范围内,随 NAA 浓度的增加,生根率和生根条数都增加,且根较粗壮。但当 NAA 浓度太大时,基部产生愈伤组

织,而阻碍根的生成。中华矮樱桃以 1/2MS+NAA 0.8 为最适生根培养基;Gisela-5 号和 Gisela-7 号以 1/2MS+NAA 0.5 为最适生根培养基,表现生根率高且根条数多,根粗壮,愈伤化程度轻。

表 4 不同浓度的 NAA 对樱桃矮化砧生根影响

Table 4 Effect of NAA' different concentrations on cherry dwarf rootstock' rooting

项目	中华矮樱				Gisela-5				Gisela-7			
	0.2	0.5	0.8	1.0	0.2	0.5	0.8	1.0	0.2	0.5	0.8	1.0
NAA 浓度/mg · L ⁻¹												
生根率/%	58	75	84	96	76	89	98	65	73	86	94	73
均株生根条数	1.89	2.36	5.16	4.32	2.88	4.68	4.12	3.12	3.11	4.79	4.32	2.97
20 d 最长根长/cm	4	5	8	8	5	8	8	7	5	9	8.5	8
20 d 最短根长/cm	0.5	1.0	1.0	1.5	0.5	1.0	1.5	0.5	1.0	1.5	1.3	0.8
生长情况	细弱	一般	粗壮、 愈伤 化少	较粗壮、 愈伤 严重	一般	粗壮、 愈伤 化少	较粗壮、 愈伤 严重	细弱愈、 伤化 严重	一般	粗壮、 愈伤 伤化	较粗壮、 愈伤 严重	细弱、 愈伤 严重

3 小结

3 种樱桃矮化砧的组培快繁,以早春在实验室水培萌发的芽为外殖体材料,接种污染较小,成功率最高。初代培养的培养基中华矮樱以 MS+6-BA 1.0+NAA 0.1 为宜;Gisela-5 和 Gisela-7 以 MS+6-BA 0.8+NAA 0.1 为宜。增殖培养的培养基中华矮樱桃以 MS+6-BA 1.0+NAA 0.2 为宜;Gisela-5 以 MS+6-BA 0.8+NAA 0.2 为宜;Gisela-7 以 MS+6-BA 0.8+NAA 0.1 为宜;。生根培养中华矮樱桃以 1/2MS+NAA 0.8 为最适生根培养基;Gisela-5 以 1/2MS+NAA 0.2 为最适生根培养基;Gisela-7 号以 1/2MS+NAA 0.5 为最适生根培养基。

参考文献:

[1] 韩文璞,袁明莲. 中华矮樱桃的组织培养与快速繁殖技术[J].

中国农学通报,2000,(6):58-59.
[2] 安建平,焦成谨,王廷璞,等. 樱桃矮化砧木—莱阳矮樱桃组培快繁技术研究[J]. 西北园艺,2002,(5):9-10.
[3] 安建平,王廷璞,焦成谨,等. 莱阳矮樱桃组培快繁中激素配比研究[J]. 天津师范学院学报,2002,(10):30-33.
[4] 刘庆忠,赵红军,李志强. 甜樱桃矮化砧吉赛拉(Gisela)的离体叶片再生植株研究[J]. 果树学报,2001,(5):255-257.
[5] 刘翠兰,郝广洲,李双云. 大樱桃 Gisela 砧木嫩枝扦插育苗技术[J]. 山东林业科技,2004,(1):32-32.
[6] 乔艳辉,王清华. Gisela 樱桃矮化砧木试管苗炼苗移栽技术[J]. 山东林业科技,2003,(1):38-38.
[7] 姜中武,沙玉芬. GM、GC 矮化樱桃砧木组培快繁技术[J]. 烟台果树,2004,(2):1-2.
[8] 刘庆忠,赵红军. 大樱桃矮化砧吉赛拉(Gisela)的离体繁殖[J]. 植物生理学通讯,2001,(6):236-237.
[9] 王侠礼. 甜樱桃矮化吉赛拉的引进及微体快繁技术研究[J]. 江西园艺,2004,(3):1-2.