

京白梨高效组培快繁技术研究

王胜男,郝理,张懿,王圣元,徐超然,李天忠

(中国农业大学园艺学院,北京,100193)

摘要 京白梨以其优良品质,长期以来深受广大消费者的喜爱。传统果树繁殖技术周期相对较长并且无法避免病毒病等一系列危害,通过组织培养保持京白梨的优良性状是当前果树高效育种的策略之一。本试验以京白梨茎段萌发的嫩芽为材料,经外植体消毒后进行离体培养,通过对培养基中不同植物生长调节剂浓度进行梯度测试,摸索最适合京白梨增殖培养与生根培养的培养基配方。结果表明,京白梨最适宜的增殖培养基为MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L,最适宜的生根培养基为1/2MS+NAA 1.0 mg/L。使用该配方组合进行组培,可缩短京白梨组培育苗周期且植株长势健康良好,增殖快,为生产优质京白梨苗木奠定基础。

关键词 京白梨;组织培养;增殖;生根

京白梨又名北京白梨,原产于北京附近,是北京果品中唯一冠以“京”字的地方特色品种,秋子梨系统中品质最为优良的品种之一,深受消费者喜爱^[1]。但在实际生产过程中,京白梨的管理模式较为粗放,忽略了对品种的保存与纯化,使其品质有下降趋势^[2]。因此,保持京白梨的品种特性,改善品质,对其产业的健康发展具有重要意义。

传统梨品种苗木的繁殖主要采用嫁接方式,但该方法繁殖量小,受季节影响较大,且无法控制病毒感染。组织培养技术具有增殖快,繁殖系数高,后代整齐一致,能够保持原有品种的优良性状,容易获得无病毒植株,并且不受季节、地域影响,可以持续不断繁殖等特点^[3]。这就使得建立京白梨组培无性快繁体系迫在眉睫。

有关梨组织培养方面的研究较多,李晓刚等^[4]对豆梨茎段外植体消毒获得豆梨组培苗,研究了4种培养基添加不同浓度配比的6-BA、NAA对豆梨组织培养增殖率的影响,获得最适宜豆梨增殖的培养基:MS+6-BA 0.6 mg/L+NAA 0.2 mg/L,生根培养基:1/2MS+IBA 1.5 mg/L;刘小芳等^[5]以库尔勒香梨茎段萌发的嫩芽为材料,发现库尔勒香梨组织培养过程中,适宜的增殖培养基为MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L+GA₃ 1.5 mg/L,适宜的生根培养基为1/2MS+AC 0.05 g/L+IBA 1.0 mg/L;李嫦艳等^[6]则以新梨七号为材料,探索出其最适宜生根的培养基为1/2MS+IBA 2.5 mg/L+蔗糖 15 g/L。此外,在秋子梨、西洋梨、砀山梨、香梨、油梨以及翠冠梨的组培研究也均已开展^[7-11],但关于京白梨组织培养的研究还未见报道。本试验以京白梨茎段为试验材料,研究了6-BA、IBA、NAA三种重要的植物生长调节剂的不同浓度处理对京白梨茎尖生长、增殖及生根的影响,以期建立一套京白梨高效组织培养快繁体系,为批量生产优良性状的京白梨苗木奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

收稿日期:2018-06-17

基金项目:高等学校博士学科点专项科研基金(20130008110006);国家现代农业(梨)产业技术体系(CARS-28-08)资助。

第一作者:王胜男(1987—),女,博士。E-mail: wangshengnan.0326@163.com

通信作者:李天忠(1963—),男,教授,博导。E-mail: litianzhong1535@163.com

DOI:10.13938/j.issn.1007-1431.lzk201814

京白梨枝条取自北京市昌平区白虎涧京白梨资源圃,取嫩枝茎段进行下步消毒及组织培养。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒及初代培养 将采集的茎段用洗衣粉水洗 5 min,流水冲洗 4 h 后,于超净工作台用 70%酒精浸泡茎段 1 min,浸泡期间不间断地振荡,然后用无菌蒸馏水清洗 3 次,每次 3 min;再将清洗过的茎段置于 2%NaClO 中清洗 15 min,灭菌浸泡期间不间断地振荡,最后用无菌蒸馏水冲洗 5~6 次。将消毒的茎段接种到初代培养基(MS + 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.3 mg/L)中。接种后置于组培室中,温度 25 ℃,光照强度 2 000 lx,光周期为 14 h/10 h,观察外植体恢复生长时间,待小段茎干腋芽处发出丛生芽后,将丛生芽截下并开始增殖培养。

1.2.2 增殖培养 将丛生芽接种于不同增殖培养基中,增殖培养以 MS 为基本培养基,添加蔗糖 30 g/L,琼脂 7 g/L,分别添加不同浓度配比的 6-BA 与 IBA 两种植物生长调节剂,共设 6 组处理(见表 1)。每个配方接种 10 个嫩芽,置于组培室中,温度 25 ℃,光照强度 2 000 lx,光周期为 14 h/10 h。30 d 继代一次,每隔 15 d 观察一次京白梨的增殖情况,记录植株生长的高度与增殖系数,筛选出最适宜的培养基配方。

1.2.3 生根培养 选取增殖培养后高度大于 1.5 cm 且长出 4 片及以上真叶的组培苗接种到不同的生根培养基中,生根培养以 1/2MS 为基本培养基,添加蔗糖 30 g/L,琼脂 7 g/L,分别添加不同浓度配比的 IAA、IBA、NAA 等 3 种植物生长调节剂,共设 6 个配方处理(见表 1)。每个处理接种 10 株京白梨组培苗,置于组培室中,温度 25 ℃,光照强度 2 000 lx,光周期为 14 h/10 h。每隔 7 天观察一次,记录根原基出现的时间及生根情况。

表 1 不同植物生长调节物质对京白梨增殖培养和生根培养的配方 mg/L

增殖培养配方			生根培养配方			
处理	6-BA	IBA	处理	IBA	IAA	NAA
1	0.5	0.1	1	1.0	0	0
2	0.5	0.2	2	0	1.0	0
3	1.0	0.1	3	0	0	1.0
4	1.0	0.2	4	0.5	0.5	0
5	1.5	0.1	5	0.5	0	0.5
6	1.5	0.2	6	0	0.5	0.5

2 结果与分析

2.1 外植体消毒及初代培养

外植体采用 70%酒精消毒 1 min 后 2%NaClO 消毒 15 min 的方法,共处理了 35 个京白梨茎段,5 天后发现有 9 个真菌污染,有 5 个产生了不同程度的褐化,污染率 25.7%,褐化率 14.3%,成活率 60%(见图 1)。

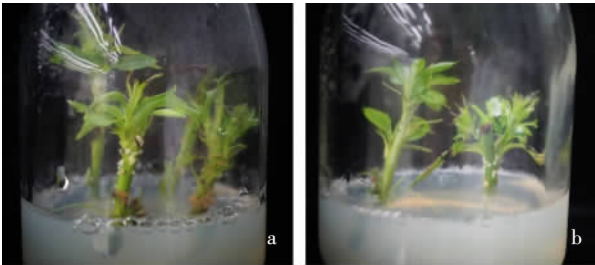


图 1 京白梨茎段培养 30 d 生长状况

2.2 不同植物生长调节剂对增殖培养的影响

待外植体萌发后,将增殖芽转移至不同浓度配比的培养基上开始扩繁培养。在植株培养 30 d 时,不同植物生长调节剂浓度配比处理的嫩芽增殖情况差异较明显,同时茎节伸长量差

异也较大(见表2,图2)。在 IBA 浓度相同的情况下,芽的增殖系数在不同的 6-BA 浓度情况下差异较大,其中 6-BA 1.5 mg/L + IBA 0.1 mg/L 处理增殖系数为 3.3,增殖效果最佳;而对于茎节的平均伸长量,其中 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L 处理茎节伸长最长,为 1.68 cm。由于后续还要进行生根与移栽驯化,茎节的长度也是很重要的因素,综合考虑,MS + 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L 处理培养基配方最适宜于京白梨外植体的伸长与增殖。

表 2 不同植物生长调节剂对京白梨增殖培养的影响

处理	6-BA/ mg · L ⁻¹	IBA/ mg · L ⁻¹	接种数量/ 株	茎节伸长量/ cm	增殖系数
1	0.5	0.1	10	1.09	1.6
2	0.5	0.2	10	1.68	2.9
3	1.0	0.1	10	0.62	2.8
4	1.0	0.2	10	0.27	3.2
5	1.5	0.1	10	0.44	3.3
6	1.5	0.2	10	0.53	2.4

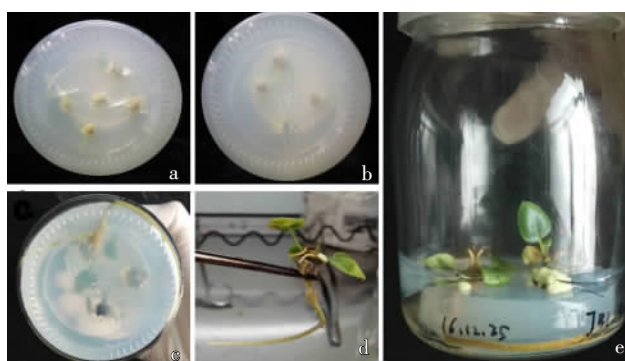


注:a. MS + 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.1 mg/L; b. MS + 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L; c. MS + 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.1 mg/L; d. MS + 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L; e. MS + 6-BA 1.5 mg/L + IBA 0.1 mg/L; f. MS + 6-BA 1.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L。

图 2 京白梨组培苗增殖情况

2.3 不同植物生长调节剂对生根培养的影响

待增殖芽生长至 45 d 时,将其移至不同植物生长调节剂配比的生根培养基中。移栽 7 天后,6 个处理均有根原基出现(见图 3-a, b),但最终只有 1/2MS + NAA 1.0 mg/L 处理成功诱导产生出根,培养 30 天时,根生长较长(见图 3-c, d, e),其余处理均未见生出根。



注:a, b:根原基形成情况;c, d, e:处理 3 生根情况

图 3 京白梨组培苗生根情况

3 结论与讨论

本研究以京白梨茎段为材料,通过植物生长调节剂浓度的筛选得出适宜的京白梨增殖与生根的培养基,分别为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L 和 1/2MS + NAA 1.0 mg/L。

由于升汞对环境污染较大,对人体也有较大危害,所以本研究中对外植体的消毒采用的是 70%酒精浸泡 1 min,2%NaClO 清洗 15 min,消毒情况也较好,成活率能达到 60%。

孙文英等^[12]在建立绿宝石梨的组织快繁体系时发现,植物生长调节剂配比为 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.1 mg/L + GA₃ 1.0 mg/L 的组合最适宜绿宝石梨的增殖。本研究中最适宜的增殖培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L,与其研究结果基本一致,但存在浓度差异。赵雪慧等^[6]研究表明,无子刺梨的适宜生根培养基为 LM + NAA 0.1 mg/L;李晓刚等^[4]研究表明,适宜的豆梨生根培养基为 1/2MS + IBA 1.5 mg/L;本研究中最适宜生根培养基为 1/2MS + NAA 1.0 mg/L,与其他梨的生根培养基基本一致,只是在浓度上存在差别。综上所述,适宜不同梨品种增殖与生根的植物生长调节剂种类大同小异,但不同品种间适宜的浓度差异较大。

利用组织培养进行快繁,可在短时间内获得大量再生植株,并且保留其优良性状,同时可以通过组培苗脱毒技术获得大量无毒苗木,为京白梨的优良品种繁育提供了可靠保障。本研究结果为京白梨组培快繁体系的建立奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] 李占印,任宝君. 京白梨的品种特性及其高产优质高效栽培技术[J]. 防护林科技,2014(1):114-115
- [2] 齐秀东. 京白梨果实品质提升关键栽培技术[J]. 河北果树,2015(1):19-20
- [3] 闫 钊. 植物组织培养技术应用研究进展[J]. 中国园艺文摘,2015(11):83,120
- [4] 李晓刚,王宏伟,杨青松,等. 豆梨低玻璃化组培快繁技术[J]. 江苏农业科学,2012,40(12):54-56
- [5] 刘小芳,冯建荣,梁晓桐,等. 库尔勒香梨组织培养的研究[J]. 山东农业科学 2016,48(5):9-13
- [6] 李嫦艳,吴翠云. 新梨七号茎段组织培养再生植株的研究[J]. 西北农业学报,2011,20(5):130-134
- [7] 杨 芳,王 忆,许雪峰,等. 秋子梨叶片植株再生研究[J]. 中国果树,2008(3):13-16
- [8] 王均华,李文金,王宪凯. 鲜美西洋梨组织培养技术研究[J]. 山西果树,2009(6):10-12
- [9] 宋 梅,王淑娟,刘振江,等. 香梨、砀山梨组织培养及脱毒快繁技术[J]. 新疆农业科学,2003,40(6):376-377
- [10] 梁日高. 油梨组培快繁技术研究[J]. 中国南方果树,2008,37(3):52-53
- [11] 何志祥,曾艳玲,谭晓风. 翠冠梨茎段组织培养的研究[J]. 中南林业学院学报,2006,26(1):66-68
- [12] 孙文英,申顺先,乔宝营,等. 绿宝石梨组织快繁技术的研究[J]. 中国果菜,2015,35(4):49-51

(责任编辑:吴 涛)