

## 乐陵无核金丝小枣组培快繁技术体系的研究

徐宪斌, 高凤菊\*, 朱金英

(德州市农业科学研究院, 山东 德州 253015)

**摘要:**为解决乐陵无核金丝小枣自然繁殖率低的问题,开展了乐陵无核金丝小枣组培快繁技术的研究,选出了其组培的最佳外植体、最适宜的初代、增殖、生根培养基和培养条件;在生根苗移栽试验中,摸索出了适合的基质及移栽管理程序,移栽成活率达96.8%,较系统地建立了乐陵无核金丝小枣组培快繁技术体系,从而实现了乐陵无核金丝小枣的快速推广。

**关键词:**乐陵无核金丝小枣;组培快繁;技术体系;初代培养;分化培养;生根培养;移栽驯化

**中图分类号:**S 665.1      **文献标识码:**A      **文章编号:**1000-2324(2008)02-0195-08

### TECHNOLOGY SYSTEM OF TISSUE CULTURE AND RAPID PROPAGATION FOR LELING NO - DERNEL GOLDEN SILK JUJUBE

XU Xian - bin, GAO Feng - ju, ZHU Jin - ying

(Dezhou Agricultural Science Research Institute, Dezhou 253015, China)

**Abstract:** The present study on the techniques of tissue culture and rapid propagation for leling no - kernel golden silk jujube was carried out to resolve its low propagation rate. The optimal explant for tissue culture, media and conditions of initial, proliferating and rooting inducing culture are found. Suitable transplanting substrate and procedure are also explored in transplanting plantlet experiment and the transplanting survival rate of plantlets gets 96.8%. The thechnology system of tissue culture and rapid propagation for leling no - kernel golden silk jujube was established in this study. The rapid popularization of leling no - kernel golden silk jujube could be realized by this way.

**Key Words:** Leling no - kernel golden silk jujube; tissue culture speed propagation; technical system; initial culture; proliferating culture; rooting culture; transplanting domestication

乐陵无核金丝小枣(*Zizyphus jujuba* Mill)是枣中珍品,但自然繁殖率很低,因而影响了其大面积推广,而采用组培快繁手段是解决这一问题的有效途径<sup>[1,2,16]</sup>。目前,枣树的组织培养技术取得了很大进展<sup>[1-16]</sup>,王志也对无核枣的组培快繁进行了初步研究<sup>[15]</sup>,但有关乐陵无核金丝小枣的组织培养特别是组培快繁技术体系的建立尚未见报道。我们经过大量试验,筛选出了乐陵无核金丝小枣(以下简称小枣)的初代、分化、生根培养等各个阶段的最佳配方和培养条件,初步建立了小枣的组培快繁技术体系,填补了国内空白,为小枣快速推广提供了理论依据,带动了当地的果树生产。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

以乐陵无核金丝小枣为试材,来源于山东省乐陵市百枣园内。

### 1.2 试验方法

1.2.1 初代培养 适宜外植体的筛选 分别就不同季节、不同取材部位、不同培养方式等,通过比较外植

收稿日期:2005-10-11

作者简介:徐宪斌(1964-),男,高级农艺师,主要从事作物栽培育种。

\*通讯作者:Author for correspondence. E-mail: gff1970@126.com

体的污染率、褐化率、成活率高低,筛选出最佳外植体。

**水培芽的培养和消毒** 3月初于休眠芽萌动前,剪取当年生优质粗壮根蘖条,去侧枝,截成 20 cm 长枝条,用肥皂水刷洗干净,用自来水冲洗 30 min 后,置于大烧杯中,用塑料膜保湿水培,在培养室中培养。培养温度  $28 \pm 1$  °C,光照时间  $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ,光照强度 2000 ~ 3000 lx。每天换水一次,并将枝条用干净水轻轻洗刷一遍,去掉滋生杂菌,每 5 d 用 1/1000 多菌灵溶液消毒 1 次,8 ~ 10 d 即可长出 1.5 ~ 2 cm 健壮的水培芽。剪取水培芽作为外植体,于无菌条件下,先用 70% 酒精表面消毒 30 s,无菌水冲洗 1 ~ 2 次;再放入 0.1%  $\text{HgCl}_2$  溶液(加几滴吐温 80)中浸泡 8 min(期间不断摇晃),然后用无菌水冲洗 5 ~ 6 次,切去药液接触过的伤口,将水培芽转入经高温灭菌的初代培养基中(插入培养基 0.5 cm 左右),在培养室中无菌培养。

**不同浓度的激素对水培芽生长的影响** 试验设 4 个处理,MS 培养基,采用 BA、IBA 两种激素配比(5:1),激素添加水平以 BA、IBA 用量较低时水培芽的生长势好,成活率高。

**1.2.2 分化培养** 不同种类的培养基对试管苗分化的影响 试验设 4 个处理,采用 MS、WP、H、改良 MS 四种培养基,其中改良 MS 培养基是笔者凭借多年的研究经验对 MS 培养基进行了改良,效果较好。

**不同浓度的激素对试管苗分化的影响** 试验中借鉴别人的经验,采用 BA、NAA 两种激素,比较适合的比例是 5 ~ 10:1,但 BA 的浓度不宜过高。

**pH 值对试管苗分化的影响** 试验设 5 个处理,既要考虑培养基的软硬适中,又要有利于组培苗的生长分化。

**其它因素对试管苗分化的影响试验** 主要是光照强度、培养温度、蔗糖浓度、琼脂用量对继代苗分化系数的影响试验,采用四因素三水平正交设计( $L_9(3^4)$ ) (表 5)。

**1.2.3 生根培养** 不同种类的培养基对试管苗生根的影响 笔者根据多年的工作经验,降低培养基中大量元素的含量,生根率有升高的趋势,试验采用改良 MS、改良 1/2MS、改良 1/4MS、改良 1/8MS 四种培养基。

**不同激素处理对试管苗生根的影响** 根据两种激素配合使用比单独使用一种激素效果好、两种激素使用量较低且配比为 1:1 的原则,试验采用 IBA 及 IBA + IAA 两种激素不同配比进行试验。

**1.2.4 移栽驯化** 移栽前先对试管苗进行 1 周左右由弱光到强光的闭口练苗及 7 d 的逐渐开口练苗,使试管苗逐步适应外部环境,然后洗净根部培养基,移栽到经过消毒的基质中,用塑料膜保湿、保温,一周后逐步通风。移栽基质对试管苗移栽成活率的影响试验设蛭石、草炭 + 田园土 + 蛭石(1:1:3)、草炭 + 田园土 + 蛭石(1:1:1)三种处理,试验中同一处理移栽 50 株,重复 3 次。

### 1.3 试验条件

试验于 2000 ~ 2001 a 在德州市农科院生物组培中心进行。培养基经高压灭菌(120 磅,20 min),无菌接种。在初代、分化、生根培养试验中,每一处理转接 14 瓶(1/2 L),每瓶接种 6 株,重复 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 初代培养基的筛选

**2.1.1 适宜初代培养外植体的筛选** 分别在春、夏、冬季取材,并通过水培芽、嫩芽、休眠枝等方式培养,试验表明(表 1),不同季节、不同部位取材,成活率差异极显著。其中以春季(3月初),在休眠芽萌动前,剪取当年生优质、粗壮的根蘖条,水培培养,水培芽接种后,成活率最高,并且枣苗长势旺盛,初代培养容易成功;夏季(5月中下旬)剪取枣头的嫩芽作为外植体培养,外植体的污染率、褐化率较春季取材的要高,成活率较低;而冬季(12月初)剪取休眠枝作为外植体,不仅休眠枝的萌发需要时间长,而且萌发芽的长势弱,叶片颜色黄绿,生长不良,成活率最低。因此,小枣的外植体以春季(3月初)休眠芽萌动前剪取当年生根蘖条水培芽培养较好。

表 1 不同取材时间和取材部位对外植体成活率的影响

Table 1 The effect of different time and part of sampling on surviving rate in explant

取材季节 Sampling reason	取材部位 Sampling part	培养方式 Method of culture	接种芽数 Number of inoculated buds	成活率(%) Surviving rate
春季 Spring	根蘖条 Twigs from roots	水培芽 Water culture buds	56	22.3 aA
夏季 Summer	枣头 Jujube head	嫩芽 Young buds	84	13.4 bB
冬季 Winter	枣头 Jujube head	休眠枝 Resting buds	42	6.5 cC

2.1.2 不同浓度的激素对水培芽生长的影响 水培芽消毒后,接种于不同激素处理的 MS 培养基中(表 2),蔗糖浓度  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,琼脂用量  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,pH 值 5.8~6.0,培养温度  $28 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ,光照时间  $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ,光照强度 2000~3000 lx。

从表 2 看出,小枣初代培养时,激素添加水平较低时对水培芽的死亡率影响差异并不显著,随着激素用量的增加,死亡率有升高的趋势;而处理 BA0.5 + IBA0.2 的成活率显著高于其它处理,植株长势好,试验数据表明,BA 以低浓度较好,成活率较高,因此,初代培养选用改良 MS + BA0.5 + IBA0.2。水培芽接种 7~10 d 后,茎段基部肿胀,但未见分化,长势较好的小植株生长速度也较慢,一个月株高 3 cm 左右。

表 2 不同浓度的激素对水培芽生长的影响

Table 2 The effect of different concentration hormone on growth of buds cultivated by water

激素水平 Level of hormone ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	接种数 Number of inoculation (株)	成活率 Surviving rate (%)	死亡率 Dead rate (%)
BA0.5 + IBA0.1	84	17.8 bB	23.8 bB
BA0.5 + IBA0.2	84	21.4 aA	25.0 bB
BA1.0 + IBA0.1	84	16.7 bB	23.8 bB
BA1.0 + IBA0.2	84	13.1 cC	26.2 aA

注:成活率是指生长良好,株高 1.5 cm 以上的小植株,不生长或生长缓慢苗(玻璃化、褐化、黄化)不计。

Note: surviving rate was small plant which grew well and whose height was 1.5 cm upwards. The seedlings which did not grow and grew slowly (vitrification, browning and etiolation) were not included

试验还发现,初代培养时材料之间的个体差异很显著,可能是外植体的内源激素和营养储备物质的差异造成的。有 60% 左右的小植株不生长或生长缓慢,20% 左右的小植株生长较好,20% 左右的小植株褐化、黄化死亡。

## 2.2 分化培养基的筛选

2.2.1 不同种类的培养基对试管苗分化的影响 试验设 MS、WP、H、改良 MS 四处培养基处理。30 d 调查结果表明(表 3),WP 和 H 培养基,分化系数与 MS、改良 MS 差异显著,不但试管苗分化系数低,而且植株长势较慢,叶片黄绿色,生长不良;而 MS 培养基虽然分化系数较高,植株长势也较好,但植株生长后期出现叶片黄绿、叶片尖端干黄现象;而使用改良 MS 培养基,不但试管苗的分化系数与其它处理差异显著,而且小植株长势好,叶片绿,因此,确定改良 MS 培养基为小枣的最佳分化培养基。

2.2.2 不同浓度的激素对试管苗分化的影响 以改良 MS 培养基附加不同浓度的激素进行增殖培养,试管苗经过反复切割,继代培养 5 次后,逐渐适应试管培养环境,性状逐渐稳定,植株生长加快,分化系数提高。试验结果表明(表 4),BA 对小枣的继代分化影响很大,只加入 BA 时,虽然分化系数较高,但植株生长缓慢,当 BA 浓度为 2.0 时,分化系数最高,以后随着 BA 浓度的增加,分化系数逐渐降低;只有 BA 和 NAA 配比适合时,才既提高了分化系数,又兼顾培养壮苗,并且小植株长势良好,叶片深绿,茎段粗壮,30 d 即长成 5~6 cm 健壮的小植株。因此小枣的分化培养基选用改良 MS + BA2.0 + NAA0.2。

表 3 不同种类的培养基对试管苗分化的影响

Table 3 The effect of different culture medium on differentiation of seedlings in cuvette

培养基种类 Kind of culture medium	接种数 Number of inoculation	分化系数 Differentiation coefficient	试管苗生长情况 Growth of seedlings in cuvette
MS	84	3.9 bA	长势较好, 叶片黄绿 Preferabl growth; yellow - green leaves pre
WP	84	3.6 cB	长势较慢, 叶片黄绿 More slow growth; yellow - green leaves
H	84	3.1 dC	长势慢, 叶片黄 Slow growth; yellow leaves.
改良 MS (improved MS)	84	4.1 aA	长势好, 叶片绿 Good growth; green leaves

表 4 不同浓度的激素对试管苗分化系数的影响

Table 4 The effect of different concentration hormone on differentiation coefficient of seedlings in cuvette

激素 Hormone (mg · L <sup>-1</sup> )	NAA0	NAA0.1	NAA0.2	NAA0.3	NAA0.4
BA0	0	0	0	0	0
BA1.0	3.5	3.3	3.2	3.3	3.4
BA2.0	4.9	4.2	4.2	4.0	4.1
BA3.0	3.6	3.4	3.5	3.2	3.3
BA4.0	3.2	3.0	3.1	3.0	3.1

2.2.3 pH 值对试管苗分化的影响 pH 值对小枣试管苗的分化系数影响较大(图 1)。pH 值 5.5 时, 影响琼脂的凝固, 无法接种, 对植株的生长不利; pH 值 6.7 时, 培养基硬而脆, 15 d 左右植株叶片发黄, 生长不良; 只有 pH 值在 5.8 ~ 6.4 之间时, 培养基硬度适中, 才有利于组培苗的生长, 分化系数高, 植株长势好。pH 值高于 6.1, 株高、分化系数逐渐下降, 但比 pH 值较低时的株高、分化系数要高。多次的试验结果表明, 小枣的继代分化培养基以 pH 值 6.1 最好, 植株生长较好, 分化系数最高。

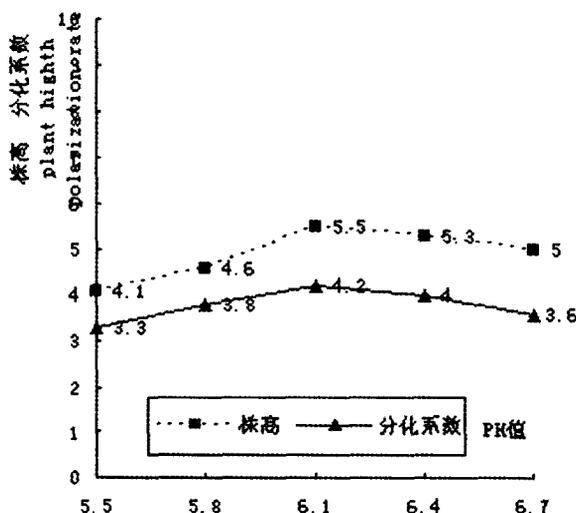


图 1 pH 值对试管苗分化的影响

Fig. 1 The effect of different pH value of seedlings in cuvette

2.2.4 其它因素对试管苗分化的影响 光照强度、培养温度、蔗糖浓度、琼脂用量等对小枣试管苗的分化影响也很大。因试验因子较多, 故采用四因子三水平正交设计(表 5), 在 9 组试验中以第 5 组 A2B2C3D1

最好,分化系数 4.1;从各平均值分析可知最优组合应是 A2B2C2D2,如果以此组合试验则分化系数大于 4.1;从极差分析可知各因子的重要性依次  $A > B > C > D$ ,即光照强度 > 培养温度 > 蔗糖浓度 > 琼脂用量。试验结果表明,光照强度 3000 lx,培养温度 28 °C,蔗糖浓度  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,琼脂用量  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,最有利于小枣的继代培养。试验说明小枣的试管苗需要较强的光照和较高的温度,这和小枣喜光喜温的特性有关。但如果培养温度超过 30 °C,试管苗容易出现玻璃化,影响植株的生长和分化。

表5 其它因素对试管苗分化的影响( $L_9(3^4)$ )试验结果

Table 5 Experiment results of other factors affecting differentiation of seedlings in cuvette

试验组号 Number of experiment	A 光照强度 Light intensity (lx)	B 培养温度 Culturing temperature (°C)	C 蔗糖浓度 Concentration of sucrose ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	D 琼脂用量 Agar dosage ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	分化系数 Differentiation coefficient
1	1(2000)	1(26)	1(20)	1(6.0)	3.2
2	1(2000)	2(28)	2(30)	2(7.0)	3.6
3	1(2000)	3(30)	3(40)	3(8.0)	3.4
4	2(3000)	1(26)	2(30)	3(8.0)	3.9
5	2(3000)	2(28)	3(40)	1(6.0)	4.1
6	2(3000)	3(30)	1(20)	2(7.0)	3.9
7	3(4000)	1(26)	3(40)	2(7.0)	3.7
8	3(4000)	2(28)	1(20)	3(8.0)	3.7
9	3(4000)	3(30)	2(30)	1(6.0)	3.8
I	3.40	3.60	3.60	3.70	
II	3.97	3.80	3.77	3.73	
III	3.73	3.70	3.73	3.67	
R	0.57	0.20	0.17	0.06	

注: I ~ III 指水平 1~3 的平均值。 R: 极差,指平均值最高与最低之差值

Note: I ~ III was the average value of from level 1 to level 3. R: maximal dispersion, was discrepant value between maximal and minimal average value.

## 2.3 生根培养基的筛选

2.3.1 不同种类的培养基对试管苗生根的影响 30 d 调查结果表明(表6),改良 1/2 MS、改良 1/4 MS、改良 1/8 MS 培养基对试管苗的生根条数、生根率无明显影响,差异不显著,但与 MS 培养基差异显著,随着培养基中大量元素含量的降低,生根率有升高的趋势。MS 培养基上的试管苗,茎叶生长虽然较好,但根部有少量的愈伤组织,根系发育不好,根少而粗,且畸形根较多,移栽时容易断根,影响移栽成活率。改良 1/4 MS、改良 1/8 MS 培养基上的试管苗,茎细弱,根细长,新抽出的芽梢生长缓慢,叶片发黄。改良 1/2 MS 培养基上的试管苗,根芽生长速度快,茎粗叶茂,植株生长健壮。因此,小枣的继代培养选用改良 1/2 MS 培养基。

表6 不同种类的培养基对试管苗生根的影响

Table 6 Effect of different culture medium on rooting of seedlings in cuvette

培养基种类 Kind of culture medium	接种数(株) Number of inoculation (plants)	生根数(条) Number of rooting (strips)	生根率(%) Rate of rooting	愈伤组织 Callus tissue
改良 MS Improved MS	84	3.1 bB	85.9 bB	少量 less
改良 1/2MS Improved 1/2MS	84	4.0 aA	90.8 aA	无 zero
改良 1/4MS Improved 1/4MS	84	4.1 aA	91.3 aA	无 zero

2.3.2 不同激素处理对试管苗生根的影响 将试管苗转移到含有不同种类和浓度激素的改良 1/2 MS 培养基进行生根培养,蔗糖浓度  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,琼脂用量  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,pH 值 6.0~6.2,培养温度  $28 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ,光照强度 2500~3000 lx,光照时间  $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ (表 7)。

表 7 不同种类和浓度的激素对试管苗生根的影响

Table 7 Effect of different kind and concentration of hormone on rooting of seedlings in cuvette

激素 Hormone	浓度( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Concentration	接种数(株) Number of inoculation (plants)	生根数(条) Number of rooting (strips)	生根率(%) Rate of rooting	愈伤组织 Concrescence tissue
IBA	0.2	84	2.4 ff	75 fE	无 zero
	0.4	84	3.2 dD	84 cdD	无 zero
	0.6	84	3.3 dD	83 dCD	有 adsum
	0.8	84	3.5 cC	81 eD	有 adsuml
AA + IBA	0.1 + 0.1	84	2.7 eE	88 bB	无 zero
	0.2 + 0.2	84	4.1 abAB	91 aA	无 zero
	0.3 + 0.3	84	4.2 aA	89 bAB	有 adsum
	0.4 + 0.4	84	4.0 bB	85 bB	有 adsum

调查结果显示,当 IBA 浓度大于 0.4 时,10 d 后根周围出现大量的愈伤组织,根不能直接吸收营养,导致生根率降低,这种状态的苗直接影响移栽成活率。方差分析结果表明,IAA、IBA 两种激素配合使用比单用 IBA 一种激素效果好,生根率、生根条数均显著提高。因此,生根培养基以改良 1/2MS + IAA0.2 + IBA0.2 效果较好,生根率与其它处理差异显著,虽生根条数差异不显著,但 IAA、IBA 浓度大的两个处理根部产生愈伤组织,影响移栽成活率。30 d 调查试管苗生长生根情况,株高 6~7 cm,一般有 6~12 片叶,叶色深绿,根粗壮,每株生根 4.1 条,根长约 1~1.5 cm,生根率 90% 以上,且根部无愈伤组织,此时适宜移栽。

## 2.4 生根试管苗的移栽

瓶内生根的试管苗在 30 d 时株高 6~7 cm,根长约 1~1.5 cm,一般有 6~12 片叶,叶色深绿,根粗壮,此时可进行移栽。

2.4.1 移栽基质对试管苗移栽成活率的影响 试验表明(表 8),草炭 + 田园土 + 蛭石(1:1:3)有利于小枣试管苗的移栽,不但成活率高,叶片油绿,小植株生长健壮,而且移栽一个月后,新生根多且粗壮,有利于大田移栽。而蛭石移栽的小植株虽成活率较高,但由于蛭石缺少营养物质,20 d 后小植株有黄叶、落叶现象,新生根细长,影响大田移栽。草炭 + 田园土 + 蛭石(1:1:1)土壤板结,透气性不好,新生根较少,成活率低。因此,小枣的移栽基质以草炭 + 田园土 + 蛭石(1:1:3)较好。

表 8 移栽基质对试管苗移栽成活率的影响

Table 8 Effect of transplanting on surviving rate of seedlings in cuvette by transplanting

移栽基质 Transplanting substrate	成活率(%) Surviving rate	备注(20d 调查) Remark (20d investigation)
蛭石 Vermiculite	97.5 aA	叶片绿,有黄叶,新生根较多,细长 Some yellow leaves in green leaves; more slight new roots.
草炭 + 田园土 + 蛭石(1:1:3) Grass plus soil of garden plus vermiculite	96.8 aA	叶片深绿,新生根多,粗壮 Green leaves; more strong new leaves.
草炭 + 田园土 + 蛭石(1:1:1) Grass plus soil of garden plus vermiculite	87.4 bB	叶片绿,新生根较少 Green lease, less new roots.

2.4.2 移栽步骤 移栽前的试管苗必须经过一个炼苗阶段,以使苗木粗壮,增强对水分胁迫和病害的抗

性。移栽前先要闭口炼苗,经1周左右由弱光逐渐到强光锻炼的幼苗,叶片变得油绿,移栽后幼苗恢复生长较快。然后再开瓶炼苗,在7 d内逐渐打开瓶口,使培养瓶内的空气湿度逐渐减小,试管苗逐步适应外界环境。移栽时取出试管苗,洗净根部培养基,移栽到草炭+田园土+蛭石(1:1:3)的基质育苗钵中,用塑料膜保湿,相对湿度90%,温度28℃左右,一周后逐渐通风,最后揭除塑料膜,成活率90%以上。

移栽时用镊子轻轻取出试管苗,洗净根部培养基,移栽到装有基质的育苗盘(4 cm×4 cm)或育苗钵( $d \geq 4$  cm)中,移栽前基质须用800倍多菌灵或0.1%  $\text{KMnO}_4$  喷洒消毒。移栽后立即浇透水,并用塑料膜保湿,相对湿度90%以上,温度28℃左右。一周后逐渐通风,最后揭除塑料膜,每10 d喷洒一次营养液,栽后30 d进行室外移栽。

### 3 讨论

#### 3.1 外植体的选择是初代培养成功的关键

外植体的取材时间与接种成活率有很大关系<sup>[15]</sup>。小枣的外植体以春季3月份枣树休眠芽萌动前,选择当年生优质粗壮的根蘖条室内水培芽较好。这与罗晓芳<sup>[1]</sup>培养金丝小枣、王玉珍<sup>[13]</sup>培养冬枣、任东植<sup>[14]</sup>培养苹果枣、王志<sup>[15]</sup>培养无核枣取外植体的季节、培养方式一致,而与刘贵仁<sup>[2]</sup>、王震星<sup>[3]</sup>、杨恩芹<sup>[6]</sup>培养金丝小枣及赵月玲<sup>[7]</sup>培养梨枣的研究结果不一致。他们认为,外植体取材在生长旺盛季节最好<sup>[3]</sup>,5~8月份采取嫩枝枣头为外植体,容易成功。而刘贵仁<sup>[2]</sup>认为2月份采集的休眠枝水培芽诱导不能成功。这可能与枣树品种或培养条件有关,有待于进一步深入研究。

#### 3.2 培养基的选择

目前,在枣树的组织快繁时一般采用MS基本培养基<sup>[1,3-8,13-15,17,19]</sup>,其中罗晓芳<sup>[1]</sup>采用WP培养基培养金丝小枣、金芳<sup>[13]</sup>采用H培养基培养临泽小枣也取得了较好的效果。现在MS培养基是枣树培养中常用的培养基,我们借鉴前人的经验,在小枣的组培快繁中对MS、H、WP三种培养基进行了试验,笔者针对小枣培养中出现的叶片黄而小等问题,对MS培养基进行了改良,主要是调整了铁盐和维生素的用量,也取得了较好的效果。

#### 3.3 外源植物激素

枣类的组织培养中,尽管使用的激素浓度不同,但使用的激素种类中,细胞分裂素一般用6-BA,生长素用IBA、IAA、NAA及其不同组合,而对于常用细胞分裂素KT未见使用效果好的报道<sup>[15]</sup>。其中6-BA和IBA应用最广泛的外源植物激素<sup>[4]</sup>,这与本试验的研究结果一致。在小枣的组培快繁中,6-BA和IBA、IAA配合使用,生根效果好于单独使用IBA。

#### 3.4 pH值

pH值对枣树的增殖影响很大<sup>[1]</sup>。本试验中,小枣的适宜pH值是5.8~6.2,最佳值是6.0。这与罗晓芳<sup>[1]</sup>培养金丝小枣pH值6.5等的报道有差别,与严仁玲<sup>[5]</sup>培养金丝小枣pH值5.8、杨恩芹<sup>[6]</sup>培养金丝小枣pH值5.8、赵月玲<sup>[7]</sup>培养梨枣pH值5.8、朱文勇<sup>[10]</sup>培养骏枣的pH值6.2~6.4的研究结果基本一致,陈宗礼<sup>[11]</sup>认为pH值与培养基的硬度有关,pH值5.5~6.5,培养基硬度适中,易于接种操作,笔者有同感。

#### 3.5 培养条件

温度和光照也是影响枣树培养效果的重要条件<sup>[8]</sup>。一般枣树的培养温度26~28℃,光照强度2000~3000 lx,光周期12~16 h/d<sup>[2,3,6,8]</sup>,枣树培养需要较高的温度和光照,这与枣树喜光喜温有关<sup>[7]</sup>。因为影响枣树组培快繁的试验因子太多,所以采用正交设计<sup>[1,9]</sup>,可以减少工作量,加快试验进程,值得同行借鉴。

#### 3.6 驯化现象

小枣的继代快繁过程中,容易出现“驯化现象”,使培养材料对生长素的要求有逐渐减弱的趋势<sup>[5,6]</sup>,这是由于外源激素在枣树体内有逐渐积累的作用造成的,因而在枣树的继代繁殖过程中,随时要注意调整外源激素的最适浓度是必要的。

### 3.7 移栽条件

在整个枣树的脱毒快繁中,试管苗的移栽练苗尤为关键,影响试管练苗成活的因素,一是培育壮苗,二是外界环境因素包括基质、温度、湿度、光照等的影响<sup>[19]</sup>。基质应选择透气性好的,选择蛭石、河沙、营养土按比例调配较好<sup>[17-20]</sup>。开瓶练苗 10~15 a,逐渐适应环境,光照 2000~3000 lx,温度 20~30 ℃、湿度 80%~90%<sup>[18]</sup>。这与小枣的移栽条件基本一致。试管苗从异养到自养需要一个适应过程,尽可能创造和试管培养条件大体相同的移栽条件,可提高试管苗的移栽成活率。

## 4 结论

我们经过大量的试验,筛选出了适宜小枣生长、分化、生根的适宜配方和培养条件,试验结果表明,外植体的选择以 3 月初休眠芽萌动前,选取优质粗壮根蘖条,室内水培芽较好,并筛选出了小枣的初代、分化、生根培养的最佳配方和培养条件,初代培养以改良 MS + BA0.5 + IBA0.2 较好;分化培养以改良 MS + BA2.0 + NAA0.2, pH5.8~6.2,光照强度 3000 lx,培养温度 28±1 ℃,蔗糖浓度 30 g·L<sup>-1</sup>,琼脂用量 7 g·L<sup>-1</sup>;生根培养以改良 1/2MS + IAA0.2 + IBA0.2 最好;然后闭口逐渐到开瓶炼苗 1 周,洗净根部,移栽基质以草炭 + 田园土 + 蛭石(1:1:3)较好,移栽到小拱棚中,逐渐通风,30 d 进行室外大田移栽。通过试验,建立了比较完善的小枣组培快繁技术体系,从而实现了小枣的组培快繁,带动了当地的果树生产,有关小枣的工厂化育苗技术有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] 罗晓芳,田砚亭,李云,等. 金丝小枣组织培养快速繁殖的研究[J]. 北京林业大学学报,1996,18(2):9-15
- [2] 刘贵仁,王震星,严仁玲,等. 金丝小枣茎段离体培养与快繁研究总结[J]. 天津农学院学报,1995,2(3):1-5
- [3] 王震星,刘贵仁,唐桂玲. 金丝小枣茎段离体快繁技术的研究[J]. 落叶果树,1996,(1):10-12
- [4] 王震星,张磊,刘贵仁. 外源植物激素对枣试管苗快繁的影响[J]. 天津农林科技,1997,(4):11-12
- [5] 严仁玲,刘贵仁,张磊,等. 外源植物激素对枣树试管苗快速繁殖的影响[J]. 果树科学,1999,7(4):231-233
- [6] 杨恩芹,王震星,刘贵仁,等. 小枣试管苗继代繁殖中二次枝及生根问题探讨[J]. 天津农业科学,1995,1(2):17-19
- [7] 赵月玲,王汉海,程贯召,等. 枣组织培养中外植体取材部位的比较研究[J]. 潍坊学院学报,2001,1(2):53-55
- [8] 陈宗礼,延志莲,齐龙,等. 温度、光照和密度对红枣组培苗影响的研究[J]. 延安大学学报,1996,15(1):56-61
- [9] 张治国,严宵,王凤仙,等. 正交设计在植物组织培养基研究中的应用[J]. 植物生理学通讯,1985,(5):46-48
- [10] 朱文勇,杜学梅,郭黄萍,等. 影响枣试管苗生长分化的因素(简报)[J]. 植物生理学通讯,1995,31(4):276-278
- [11] 陈宗礼,李占鹏,延志莲,等. pH 值对红枣组培苗快速繁殖的影响[J]. 陕西农业科学,2001,(3):9-11
- [12] 杨恩芹,王震星,刘贵仁,等. 植物激素对小枣不定芽分化及主芽生长的影响[J]. 天津农业科学,1995,1(3):24-25
- [13] 王玉珍. 冬枣离体繁殖技术[J]. 北方园艺,1999,(5):16-17
- [14] 任东植,徐兆飞,王文琪,等. 优质脱毒枣苗工厂化育苗技术研究[J]. 华北农学报,1998,13(3):137-140
- [15] 王志,孟庆国,杜增良,等. 无核枣的组织培养及快速繁殖[J]. 上海农业学报,2002,18(2):15-18
- [16] 金芳. 枣试管苗适宜生根培养基的选择研究[J]. 甘肃农业科技,1996,(4):20-21
- [17] 杜学梅,郭黄萍,赵玉军,等. 枣试管苗生根及移栽技术[J]. 中国果树,1997,(4):26-27
- [18] 尉文龙,丁全发,张瑞玲,等. 枣树组培小苗移栽技术研究[J]. 山西果树,2002,(1):7-8
- [19] 李承永. 冬枣试管苗移栽练苗研究[J]. 湖北林业科技,2001,(4):13-14
- [20] 邢跃东. 移植基质对枣组培苗移植成活率的影响[J]. 中国林副特产,2000,(4):4-4