

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:中华矮樱桃; 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 Rootstick

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)

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 是适应性强、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% HgCl₂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% HgCl₂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 ₂ 消毒5 min			0.1%HgCl ₂ 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 different culture medium 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 different BA and NAA concentrations on cherry dwarf rootstock proliferation 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	
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、 愈化 严重	一般	粗壮、 愈伤 化少	较粗壮、 愈化 严重	细弱愈、 伤化 严重	一般	粗壮、 有愈 伤化	较粗壮、 愈化 严重	细弱、 愈伤化 严重	愈伤化 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.甜樱桃矮化砧吉赛拉的引进及离体快繁技术研究[J].江西园艺,2004,(3):1-2.