

欧李快繁与生产中商品苗产率问题研究

范小峰^{1,2}, 田兴旺¹, 王根旺¹

(1. 陇东学院 生命科学系, 甘肃 庆阳 745000; 2. 西北师范大学 生命科学院, 甘肃 兰州 730070)

【关键词】欧李; 快速繁殖; 商品苗; 产率

【摘要】以欧李的茎尖、茎段为材料, 接种在 1/2MS、MS 附加不同浓度的 6-BA、NAA 的培养基上, 诱导产生无性系芽。无性系芽茎尖和茎段在 MS 附加 6-BA 1.0 mg/L、NAA 0.5 mg/L 的培养基上可大量产生丛生芽, 增殖系数为 11.24, 但丛生芽长势一般; 在 MS 附加 6-BA 0.3 mg/L、NAA 0.05 mg/L 的培养基上, 也可产生丛生芽或单苗, 增殖系数为 4.01, 但芽长势良好; 高度大于 3 cm 的芽在 1/2MS 附加 IAA 0.2 mg/L 的培养基上生根率为 67.39%, 生根苗采用“二步法”移栽, 成活率为 97%, 经生根培养未产生根的芽与生根苗一同移栽, 40% 的芽可在珍珠岩基质中生根。

【中图分类号】Q943.1 【文献标识码】B 【文章编号】1000-0941(2006)08-0049-02

欧李是蔷薇科樱桃属矮小灌木, 为我国特有野生灌木果树。山西农大开源种苗公司从野生欧李树种中选育出系列优良品种, 商品名称“农大钙果”, 其果实含有丰富的蛋白质、矿物质元素、维生素和氨基酸, 每百克鲜果钙、铁含量分别可达 60 mg 和 1.5 mg, 17 种氨基酸总量高达 338.3 ~ 451.7 mg, 既可鲜食, 又可加工, 具有广阔的市场前景; 更重要的是该树种抗寒、抗旱、抗贫瘠, 对自然环境的适应性很强。黄土高原气候干旱, 土壤贫瘠, 林草资源匮乏, 种植结构简单, 引进“农大钙果”, 通过组培获得大量种苗, 并加以推广种植, 对于治理水土流失、改善生态环境、丰富基因资源具有深远而现实的意义。我们应小崆峒观光农业示范园的要求, 对钙果的快繁和生产中商品苗产率的问题进行了研究, 并取得了预期结果。

1 材料与与方法

以引种于山西农业大学开源种苗公司的“农大钙果”为研究材料, 采用陇东学院生命科学系植物细胞工程研究室常规植物组织培养法^[1,2]进行研究。基本培养基为 MS 或 1/2MS 附加不同浓度配比的 6-BA、NAA、IAA、IBA 等, 蔗糖 3%、琼脂 0.35%; 继代培养周期为 30 d; 每个 100 mL 培养瓶接种 10 个茎段或茎尖; 生根培养时将高度大于 3 cm 的芽剪下插入生根培养基中进行生根培养, 生根苗移栽采用“二步法”^[3]。

2 试验结果

2.1 无性系的建立

2003 年 6 月从植株上取生长健壮、无病虫害的枝条, 用洗衣粉水擦洗干净, 流水下冲洗 2 ~ 3 h。在超净工作台上进行表面消毒处理, 用 70% 的乙醇浸泡 5 ~ 8 s, 无菌水冲洗 2 次, 加 0.1% 的 HgCl₂ 溶液灭菌 6 ~ 8 min, 再用无菌水冲洗 5 ~ 6 次。剪成茎尖和带腋芽的茎段, 接种在无性系建立培养基上进行无性系建立培养, 结果列于表 1。

就无性系建立而言, 以 MS 为基本培养基, 不附加任何植物生长调节剂, 就能较好地诱导芽的萌生, 但不利于愈伤组织的产生; 在基本培养基中附加不同浓度的 6-BA 1 ~ 2 mg/L 和

NAA 0.1 ~ 0.5 mg/L, 能高频诱导愈伤组织产生和芽的萌发, 但不利于芽的生长, 长势较弱。建立无性系较适宜的培养基为 MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L。

表 1 欧李无性系建立试验结果

培养基	植物生长调节剂(mg/L)		接种茎尖(段) 数(个)	污染数 (个)	诱导芽数 (个)	芽诱导率 (%)	生长情况	愈伤诱导情况
	6-BA	NAA						
MS	2	0.5	11	3	7	87.5	-	++
MS	1	0.5	13	4	8	88.9	-	++
MS	1	0.1	17	0	11	64.7	-	++
MS	0	0	26	1	17	68.0	--	+

注: - 表示芽生长差, -- 表示芽生长良好, + 表示略有愈伤化, ++ 表示愈伤化程度较高。

2.2 芽的继代增殖

首先将建立的无性系芽剪成茎尖和带芽茎段, 接种在 MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L 培养基上, 继代周期为 5 周, 结果列于表 2。在上述的增殖培养基上, 欧李茎尖(段)以丛生芽的方式进行增殖, 增殖系数平均为 11.24 (不包括腋芽), 但产生的丛生芽细弱、节间长、叶片小, 呈黄绿色, 且高度大于 3 cm、可直接用于生根的芽比例极低, 仅为 5.63%, 需用 MS 0 培养基壮苗后生根培养。

鉴于上述增殖培养基所诱导的丛生芽长势弱, 可用于生根的芽少, 将增殖培养基改为 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.05 mg/L, 结果列于表 3。由表 3 看出, 在 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.05 mg/L 培养基上, 增殖系数平均为 4.01, 产生的高度 ≥ 3 cm、可直接用于生根的芽占 30.48%, 是增殖培养基 MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L 所诱导的、可直接用于生根的丛生芽比例的 5.4 倍, 且芽苗壮, 长势明显较优, 有利于生根培养。

2.3 增殖芽的生根

将高度 ≥ 3 cm 的芽剪下, 插入生根培养基中进行生根培养, 结果列于表 4。结果显示, 欧李离体增殖的芽较难生根。在 1/2MS 培养基中附加一定浓度的生长素利于生根, 其中单独使用 IAA 的效果均优于单独使用 IBA、NAA 或配合使用。以 1/2MS + IAA 0.2 mg/L 的生根效果最佳, 生根率为

67.39%, 且产生的根生长良好。

表2 欧李芽的继代增殖培养(一)

编号	接种茎尖(段)数(个)	增殖芽数(个)	增殖系数	不同高度增殖芽数(个)			≥3 cm 芽比例(%)
				≥3 cm	3~1 cm	<1 cm	
1	7	43	6.14	4	8	31	9.30
2	7	48	6.86	3	5	40	6.25
3	10	118	11.80	1	22	95	0.85
4	6	64	10.67	3	14	47	4.69
5	7	114	16.29	5	19	96	4.39
6	8	117	14.63	9	13	95	7.69
7	9	84	9.33	9	14	61	10.71
8	10	104	10.40	4	15	85	3.85
9	9	67	7.44	5	10	52	7.46
10	6	129	21.50	7	18	104	5.43
平均	7.9	88.8	11.24	5	13.8	70	5.63

表3 欧李芽的继代增殖培养(二)

编号	接种茎尖(段)数(个)	增殖芽数(个)	增殖系数	不同高度增殖芽数(个)			≥3 cm 芽比例(%)
				≥3 cm	3~1 cm	<1 cm	
1	7	34	4.86	9	13	12	26.47
2	8	24	3.00	7	9	8	29.17
3	8	27	4.00	8	9	10	29.63
4	7	19	2.71	6	7	6	31.58
5	5	19	3.80	9	5	5	47.37
6	7	26	3.71	8	9	9	30.77
7	5	36	7.20	9	13	14	25.00
8	6	33	5.50	11	10	12	33.33
9	8	24	3.00	8	7	9	33.33
10	6	27	4.50	7	9	11	25.93
平均	6.7	26.9	4.01	8.2	9.1	9.6	30.48

表4 欧李增殖芽的生根

编号	培养基	植物生长调节剂(mg/L)			接种芽数(个)	生根数(个)	生根率(%)	根生长情况
		IAA	IBA	NAA				
0	1/2MS	0	0	0	19	0	0	
1	1/2MS	0.2	0	0	46	31	67.39	良好
2	1/2MS	0	0.2	0	63	15	23.81	一般
3	1/2MS	0	0	0.1	43	8	18.60	一般
4	1/2MS	0.5	0	0	58	18	31.03	良好
5	1/2MS	0	0.5	0	53	7	13.21	一般
6	1/2MS	0	0	0.2	44	7	15.91	一般
7	1/2MS	0.2	0.2	0	37	1	2.70	一般
8	1/2MS	0.2	0.2	0.2	41	6	14.63	良好
9	1/2MS	0.5	0.5	0	43	7	16.28	良好
10	1/2MS	0.5	0.5	0.2	32	5	15.63	良好

2.4 生根苗的移栽

生根苗采用“二步法”移栽。铺 15 cm 厚的珍珠岩制作苗床,用 0.1% 的高锰酸钾溶液作消毒处理,移栽前在培养室炼苗 5 d,洗净生根苗上的培养基,以 3 cm × 5 cm 的株行距移入苗床,搭设塑料拱棚,外加盖遮阳网,使光照在 10 000 lx 以下,保持湿度 85% 以上、温度 35 ℃ 以下,严格管理 4 周即可成活。然后逐渐揭开塑料拱棚,炼苗 3 d,再将成活苗移入营养钵中(营养土配方:腐殖土:珍珠岩:有机肥=3:2:1),常规管理。应用此方法移栽成活率为 97%。

欧李增殖芽生根率较低,为探讨出一种能提高生根率的途

径,将经过生根培养但未生根的芽与生根苗同时栽入珍珠岩苗床,3 周后,发现有 40% 的芽生根,使实际生根率提高 $(1 - 67.39\%) \times 40\% = 13.04\%$,达到 80.43%。

3 讨论

(1)通过试验发现,适合欧李无性系建立的培养基为 MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L。在培养基①MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L 上芽以丛生芽方式增殖,增殖系数可达 11.24,但产生的芽细弱,可用于生根的芽比例仅为 5.63%;在培养基②MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.05 mg/L 上芽的增殖系数为 4.01,但产生的芽苗壮,可直接用于生根的芽占 30.48%,是前者的 5.4 倍。因此,在实际生产中,前几次可选择培养基①作为继代培养基,以大量增加芽数,然后用培养基②边增殖边生根,一则不断有商品苗上市,满足市场需求,二则可减轻工作量。适合生根的培养基为 1/2MS + IAA 0.2 mg/L,在此培养基上芽的生根率为 67.39%。生根苗用“二步法”移栽,以珍珠岩作基质,移栽成活率在 97% 以上。

(2)由于试管苗并非 100% 生根,也不可能使生根苗全部移栽成活,因此生产中存在一个商品苗产率问题,可用下式表示:

$$Y = Af^n w [R + (1 - R)r]E$$

式中:Y 为商品苗产率;A 为增殖基数,指初始可用于增殖培养的无性系芽数;f 为增殖系数,指每个芽经过一代培养后所增殖芽的量;n 为繁殖代数,指在一段时间内由初代培养获得的有效苗开始连续繁殖的代数;w 为有效苗率,是增殖芽中高度 ≥ 3 cm 可直接用于生根培养的芽占增殖芽总数的百分比;R 为生根率,指在生根培养基中生根的芽数与用于生根培养的总芽数的百分比;r 为后继生根率,指经过生根培养但未生根的芽移入栽培基质后,在基质中生根的芽数与移入基质中未生根芽总数的百分比;E 为成活率,指将生根苗移入基质后,成活的生根苗数与移栽生根苗总数的百分比。

根据前文所述,当 $A = 1$, $f = 4.01$, $w = 30.48\%$, $n = 10$, $R = 67.39\%$, $r = 40\%$, $E = 97\%$ 时,则 $Y = 255\ 832$ 。即一个芽在上述试验系统中经一年 10 代繁殖,可产欧李苗 25 万多株。但考虑到生产设施、市场需求等因素的限制,不可能按上述体系无限增殖,所以应根据实际情况,选择合理的生产流程。

[参考文献]

- [1] 范小峰,李师翁,田兴旺. 丽格海棠的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2003,39(2):147.
 - [2] 范小峰,李师翁,范小玲. 应用组织培养技术进行三倍体毛白杨快繁的研究[J]. 中国水土保持,2002(6):18.
 - [3] 李师翁,范小峰,田兴旺,等. 叶子花的组织培养与微繁殖技术研究[J]. 西北植物学报,2003,23(6):992~996.
 - [4] 陈宗礼,刘建玲,延志莲,等. 植物快繁中有效快繁速度与商品苗总产量的计算与控制[J]. 西北植物学报,1999,19(3).
- [作者简介] 范小峰(1966-),女,甘肃西峰市人,副教授,在读硕士,从事植物生理学及组织培养的教學与研究。
- [收稿日期] 2006-02-15

(责任编辑 徐素霞)