

欧李绿枝组织培养与快速繁殖研究

焦淑华, 林丽华, 李宝江

(沈阳农业大学园艺学院, 110161)

摘要:以钙果三号嫩茎为外植体、MS 为基本培养基, 初步建立了欧李试管苗的快速繁殖体系。结果表明, 诱导嫩茎分化生长较适宜的培养基为 MS+BA1.0 mg/L+IAA1.0 mg/L; MS 培养基较 B₅、改良 White 培养基更有利于试管苗的嫩茎增殖, 试管苗增殖的适宜的蔗糖浓度 30 g/L~40 g/L; 培养基中 BA 和 NAA 浓度, 以及 pH 值对欧李组培苗的增殖系数影响较大, 3 因素的影响次序为 BA>pH 值>NAA, 最佳增殖培养基为 BA0.2 mg/L, NAA0.05 mg/L, pH 值 6.2; 最佳壮苗培养基 MS+NAA0.07 mg/L; 最佳生根培养基为 1/2MS+NAA0.4 mg/L。

关键词:欧李; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号:S662.3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2006)03-0117-03

欧李(*Cerasus humilis* (Bge) Sok) 为蔷薇科(Rosaceae) 樱桃属(*Cerasus*)^[1], 多年生落叶小灌木。欧李植株矮小, 高 0.3 m~1 m, 结果早, 座果率高, 可高密度栽植或建立草地果园^[2], 也可盆栽或庭院栽培。欧李根系发达, 喜光、耐旱、耐寒、较耐瘠薄, 但不抗涝, 适宜中性至微碱性的土壤, 宜在干旱地区发展。欧李与桃、李嫁接亲和, 且具有一定矮化作用, 生产中可用做砧木^[3]。

欧李有实生、嫁接、扦插、组织培养等多种繁殖方式, 不同方式各有特点。欧李是异花授粉植物, 实生繁殖后代具有变异性状多、变异幅度大的特点^[4], 很难保持亲本的优良性状。嫁接繁殖通常采用本砧, 但欧李实生植株常在结果 3~5 年后死亡, 导致接穗随之死亡, 使生产遭受损失^[5]。欧李扦插繁殖系数低, 苗木整齐度差, 且易在繁殖中积累病毒。组织培养不但繁殖速度快, 而且幼苗根系发达、整齐度高, 植株寿命长, 是欧李快速繁殖的最佳方式。欧李由于植株小, 单位面积用苗量较大, 一般在 1 000 株/667 m²~2 000 株/667 m², 所以采用适宜的繁殖方式、加快欧李的繁育速度是生产中的重要问题^[6]。但在欧李组织培养过程中, 通常出现幼苗生长势弱, 生根培养效果差, 组培苗移栽成活率低等问题, 给良种繁育带来较大的困难。本试验以欧李嫩茎为外植体, 对组织培养中的嫩茎分化、幼苗增殖, 以及壮苗、生根等主要环节进行了较深入的研究, 建立了适宜的快速繁殖体系, 为欧李组织培养的生产应用提供了试验和技术依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

欧李组织培养的试材为沈阳农业大学园艺学院温室栽培的 2 年生钙果 3 号苗。

1.2 试验方法

试验于 2004 年 4 月末从萌发的新梢上剪取嫩茎做外植体, 用流水冲洗 20 min~30 min, 除去叶片, 剪成 1.0 cm~1.2 cm 长的带腋芽茎段放在广口瓶中, 在超净工作台上, 用 75% 的酒精灭菌 40 s, 再倒出酒精用 0.1% 的 HgCl₂ 溶液浸

泡 10 min~12 min, 注意将处理材料完全浸泡在消毒液中, 在处理期间晃动广口瓶数次使灭菌液与茎段充分接触。消毒后用无菌水冲洗 3~5 次, 放在铺有滤纸的无菌培养皿上, 剪除材料两端与灭菌液接触部分, 将处理好的茎段接种于启动培养基上培养。5 d 后, 叶腋萌发生长; 20 d 后, 形成展叶枝, 在新枝上又有新的侧枝生成。当幼苗生长到一定高度后, 剪成 1 cm 左右的茎段(至少带有两个节)接种于不同的增殖培养基上进行继代扩繁培养。当幼苗增殖到一定数量、较整齐一致时, 剪取长度为 2 cm~3 cm 的新梢, 去除基部叶片, 接种到生根培养基上进行生根培养。培养室温度为 25±2℃, 光照强度为 1 500 Lx~2 000 Lx, 光照周期 14 h/d。

试验中启动培养采用 4 种培养基分别为 ①MS+BA0.8 mg/L+IBA0.8 mg/L; ②MS+BA1.0 mg/L+IAA1.0 mg/L; ③MS+BA1.0 mg/L+NAA1.0 mg/L; ④MS+BA1.0 mg/L+2,4-D0.5 mg/L, 培养基中添加蔗糖 30 g/L、琼脂 6 g/L、pH 值为 5.8。试验每处理接种 20 个外植体, 重复三次。继代培养首先以 MS、B₅、改良 White 为基本培养基, 进行基本培养基筛选试验。试验时激素含量为 BA0.25 mg/L+NAA0.1 mg/L, 并添加蔗糖 30 g/L、琼脂 6 g/L, pH=5.8; 然后, 在 MS+BA0.25 mg/L+IBA0.1 mg/L, 琼脂 6 g/L, pH 值为 5.8 的培养基中, 添加 20 g/L、30 g/L、40 g/L 的蔗糖, 以筛选影响嫩茎增殖适宜的蔗糖浓度。试验还以 MS 为基本培养基, 采用 L₉(3³) 正交设计的方法分析了 BA 和 NAA 浓度及 pH 值对钙果 3 号嫩茎增殖的影响。试验中 BA 浓度为 0.1 mg/L、0.15 mg/L、0.2 mg/L、NAA 浓度为 0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.15 mg/L、pH 值为 5.4、5.8、6.2, 培养 4 周后调查增殖系数和幼苗高度。试验还进行了壮苗培养基的筛选, 以 MS 为基本培养基, NAA 浓度为 0 mg/L、0.05 mg/L、0.07 mg/L、0.1 mg/L。继代培养中每处理接种 12 瓶, 每瓶接种 5 株, 在培养 4 周后调查增殖系数和幼苗高度。生根培养以 1/2MS 为基本培养基, 添加蔗糖 15 g/L, 琼脂 6 g/L, pH 值为 6.2, 进行了 IBA 和 NAA 8 种不同浓度组合的培养基配比试验, 以筛选适宜的生根培养基。生根培养每个处理接种 60 株, 20 d 后调查平均生根率和平均生根条数。

2 结果与分析

2.1 欧李茎段分生培养结果分析

表1列出了不同培养基对嫩茎侧芽分化的影响。可以看出,2号培养基平均分化率最高,为90.4%;平均抽生新枝数最多,为4.5个;幼苗也最高,为1.3cm,明显优于其它培养基。观察中发现,1号培养基培养7d嫩茎开始萌发,抽生新枝长势良好,茎较粗壮,叶片黄绿色,叶形狭长,茎基部有少量黄白色愈伤组织;2号培养基培养5d开始萌发,抽生新枝长势好,茎粗壮,枝叶展开,绿色,无愈伤组织;3号培养基培养7d开始萌发,抽生新枝长势较弱,茎纤细,叶卷曲,有少量黄白色愈伤组织;4号培养基培养10d开始萌发,抽生新枝数量少、生长势弱,叶黄绿而卷曲,有玻璃化现象。综合分析表明,培养基成分为MS+BA1.0 mg/L+IAA1.0 mg/L的2号培养基更适宜欧李嫩茎侧芽分化培养。

表1 不同培养基对钙果3号嫩茎侧芽分化的影响

培养基 代号	外植体总数 (个)	平均分化率 (%)	产生新枝总数 (个)	每个外植体 平均新枝数(个)	平均株高 (cm)
1	40	82.5	152	3.8	1.2
2	42	90.4	189	4.5	1.3
3	38	71.1	84	2.2	0.8
4	36	30.8	61	1.7	0.7

2.2 欧李增殖培养结果分析

2.2.1 基本培养基对钙果3号试管苗嫩茎增殖的影响 表2列出了3种基本培养基对钙果3号试管苗增殖的影响。可以看出,不同基本培养基间试管苗增殖系数和幼苗高度明显不同,其中MS基本培养基幼苗增殖系数较高,为3.32,株高也较高,为3.80cm,明显优于其它培养基。观察中发现,在MS基本培养基中钙果3号试管苗粗壮、长势较强,叶片厚而平展,深绿色;B₅基本培养基幼苗长势较差,叶片小而卷曲,并出现顶端黄化现象;改良White基本培养基幼苗细弱、长势差,叶片小而皱缩。可以看出,MS培养基为钙果3号试管苗嫩茎增殖较适宜的基本培养基。

表2 不同基本培养基对钙果3号试管苗嫩茎增殖的影响

培养基成分	接种株数(株)	增殖后株数(株)	增殖系数	转瓶时的株高(cm)
MS	60	199	3.32a	3.80A
B ₅	60	154	2.56b	2.83B
改良White	60	183	3.05ab	2.54B

表3 不同蔗糖浓度对钙果3号试管苗嫩茎增殖的影响

培养基 代号	蔗糖浓度 (g/L)	增殖系数	生长情况
1	20	3.23	苗长势弱,叶片小,黄绿色,顶端黄化,有少量愈伤组织
2	30	2.86	苗长势好,较壮,无愈伤组织
3	40	12.35	苗长势壮,较矮,有愈伤组织

2.2.2 不同蔗糖浓度对钙果3号试管苗嫩茎增殖的影响

试验在MS+BA0.25 mg/L+IBA0.1 mg/L培养基中添加了不同浓度的蔗糖,分析了蔗糖对钙果3号试管苗嫩茎增殖的影响(表3)。结果表明,蔗糖浓度对增殖系数和幼苗长势都有影响,蔗糖浓度较低时幼苗增殖系数较低,生长势弱,叶片小,易出现顶端黄化现象。蔗糖浓度为30 g/L~40 g/L时,幼苗生长势较强,植株粗壮,培养效果较好。蔗糖浓度为40 g/L时,幼苗增殖系数高达12.35,不但基部分枝多,枝上还萌发较多侧枝,但苗较矮,基部生成黄白色愈伤组织,而且在培养

两个月时幼苗仍能旺盛生长。

2.2.3 BA和NAA浓度及pH值对钙果3号嫩茎增殖的影响 试验以MS为基本培养基采用正交设计的方法分析了BA和NAA浓度及pH值对钙果3号嫩茎增殖的影响(表4)。结果表明,在试验浓度范围内,BA和NAA浓度及pH值对增殖系数和幼苗高度都有明显影响,三者间对增殖系数影响的顺序为BA>pH值>NAA。试验中利于幼苗增殖的培养基最佳组合为BA0.2 mg/L, NAA0.05 mg/L, pH值6.2。三者间对幼苗高度影响的次序为BA>NAA>pH值,最佳组合为BA0.1 mg/L, NAA0.1 mg/L, pH值5.8。

表4 BA、NAA、pH值配合使用对钙果3号试管苗嫩茎增殖的影响

培养基代号	BA(mg/L)	NAA(mg/L)	pH值	增殖系数	试管苗高度(cm)
1	0.1	0.05	5.4	1.08	2.8
2	0.1	0.1	5.8	1.67	3.2
3	0.1	0.15	6.2	1.85	3.0
4	0.15	0.05	5.8	2.42	2.6
5	0.15	0.1	6.2	2.67	2.9
6	0.15	0.15	5.4	2.75	2.7
7	0.2	0.05	6.2	3.15	2.5
8	0.2	0.1	5.4	2.65	2.3
9	0.2	0.15	5.8	2.83	2.8
增 K ₁	1.53	2.22	2.16		
增 K ₂	2.61	2.33	2.31		
增 K ₃	2.88	2.48	2.56		
数 R	1.35	0.26	0.40		
嫩 K ₁	3.13	2.63	2.60		
嫩 K ₂	2.73	2.80	2.87		
长 K ₃	2.53	2.97	2.80		
度 R	0.60	0.34	0.27		

2.2.4 最佳壮苗培养基的筛选 试验中以正交试验筛选出的最佳培养基组合进行继代扩繁培养时发现,虽然幼苗生长速度快、增殖系数高,但生长势较弱,不利于进一步的生根培养。试验将幼苗转接到MS培养基,或添加少量生长素的培养基中进行壮苗培养(表5)。结果发现,在不加NAA的MS培养基中幼苗较矮,部分苗褪绿死亡;NAA浓度为0.05 mg/L时,幼苗较矮,叶片也较小;NAA浓度为0.07 mg/L时,幼苗节间较短,幼茎粗壮,叶片较大而平展,呈深绿色;NAA浓度为0.1 mg/L时,幼苗节间长,叶片大、叶色绿,有较明显徒长现象;所以,MS+NAA0.07 mg/L为钙果3号试管苗最佳壮苗培养基。

表5 培养基对钙果3号试管苗壮苗的影响

培养基成分	试管苗生长情况	试管苗高度(cm)
MS	一部分苗褪绿死亡	2.1
MS+NAA0.05mg/L	叶片小,节间短	1.7
MS+NAA0.07mg/L	茎粗壮,叶片大,展开	2.5
MS+NAA0.10mg/L	节间长,茎细弱,苗有徒长现象	3.6

2.3 生根培养

表6列出了欧李生根培养试验的调查结果。可以看出,在培养基中不添加IBA时,随NAA浓度的增加,幼苗的生根率和平均生根数逐渐增高;添加IBA后虽然幼苗的生根率和平均生根条数也有增加的趋势,但幼苗的根系着生在愈伤组织上,移栽时易脱落降低了幼苗移栽的成活率。在不添加

IBA 的培养基中,添加 NAA0.5 mg/L 时虽然生根率最高,但生根方式也为愈伤组织生根,移栽成活率较低;在 NAA0.4 mg/L 时,虽然生根率较低(72.3%),但生根方式为基部直接生根,移栽成活率较高。所以,欧李生根培养基以不添加 IBA 为宜,添加 NAA 的浓度也不宜过高,本试验中以 NAA0.4 mg/L 生根效果最好。

表 6 不同浓度的生长调节剂对钙果 3 号试管苗生根的影响

培养基代号	IBA/(mg/L)	NAA/(mg/L)	生根率/%	生根条数
1	-	-	10.5	1.1
2	-	0.2	37.8	2.5
3	-	0.4	72.3	3.6
4	-	0.5	75.6	4.1
5	0.2	0.4	82.1	4.5
6	0.3	0.4	78.1	4.2
7	0.5	0.4	90.1	4.8
8	0.5	0.5	91.5	5.2

2.4 试管苗移栽

试验中组培苗根长 1 cm~2 cm 时,选择苗高 2 cm~3 cm,茎秆粗壮,叶片大而绿,生根质量好的幼苗进行移栽试验。移栽时将生根苗连同培养瓶一起移入温室,用清水洗净根部的培养基,移入人工配制的基质中保湿栽培。移栽基质中含有草炭、蛭石、田园土,具备良好的透气性和良好的营养条件。移栽前基质用多菌灵和甲基托布津消毒,装入营养钵中浇透水后放置 24 h,再移栽生根的组培苗。欧李耐旱但不耐涝,移栽后尽量减少浇水次数和水量,以免引起沤根,但要注意保持一定的空气湿度。生根苗移入温室要注意通风,透气,尽量保持和自然生长状态一致,10 d 左右可移栽成活。

3 小结与讨论

在欧李组织培养过程中易产生组培苗玻璃化现象,给增殖继代带来很大困难。玻璃化苗从外型上看多为水浸状,半透明^[7],叶片长而两侧边缘向外翻卷,繁殖系数下降,生根培养效果差。据文献报道,培养基容器内的空气湿度过高,透气

性不好,光照不足,培养基中细胞分裂素过高都可引起组培苗产生玻璃化。本试验中发现使用大口果酱瓶,透光性差;封口的塑料膜透气性不好,使瓶内空气湿度增大,易产生水蒸汽影响光照,引起幼苗产生玻璃化。实验中将大口玻璃瓶内的产生玻璃化的苗转到带棉塞的透光性好的三角瓶中,降低了湿度,提高了透光度,大大减轻了组培苗的玻璃化程度。

诱导外植体侧芽分化较适宜培养基为 MS+BA1.0 mg/L+IAA1.0 mg/L;适宜嫩茎增殖的基本培养基为 MS;蔗糖浓度在 30 g/L~40 g/L 时,可有效的促进嫩茎增殖。培养基的 BA 和 NAA 含量及 pH 值对欧李增殖培养都具有明显影响,三者的最佳组合为 BA0.2 mg/L、pH 值 6.2、NAA0.05 mg/L;最佳壮苗培养基为 MS+NAA0.07 mg/L;最佳生根培养基为 1/2MS+NAA0.4 mg/L。

欧李生根培养的效果受生长素影响较大。培养基中不添加 IBA,NAA 的浓度较低时(0 mg/L~0.4 mg/L),生根方式为幼苗基部直接生根,但生根率较低,平均生根条数也较少。当添加 IBA 时,生根率和生根条数都明显提高,但生根方式多为愈伤组织生根,影响移栽成活率,其原因有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 《汉拉英中国木本植物名录》.编委会主编,汉拉英中国木本植物名录[M],1987.
- [2] 杜俊杰.我国大西北干旱地区退耕还林的先锋树种—欧李[J].北方果树,2001,(5):31~32.
- [3] 杜俊杰,杨怀义.欧李生物学特性研究[J].山西农业大学学报,1992,12,(4):311~314.
- [4] 景士西.园艺植物育种学总论[M].中国农业出版社,126.
- [5] 杜俊杰.欧李嫩枝扦插与炼苗方式的研究[J].山西农业科学,1998,26,(3):62~66.
- [6] 刘坤.树莓、越橘、欧李等小浆果的发展前景[J].北方果树,2004,(2):30~32.
- [7] 朱建华.无花果的组织培养研究[J].北方果树,2002,(3):9~10.

温室害虫的防治

温室里常见的害虫有蚜虫、红蜘蛛、白粉虱、根蛆、跳虫等。其防治方法分别如下:

蚜虫:体黄绿色,长圆形,有三对足,体型很小。多集中在心叶里、叶片背面或幼嫩的茎上危害。可喷洒 50% 复果或灭蚜松 1 000~1 500 倍液防治。

红蜘蛛:体红色,近圆形,有四对足,善爬行,比蚜虫还小些。红蜘蛛主要危害叶片,受害叶片有褪绿色的斑点,严重时变黄、枯萎。防治时可喷洒氧化乐果或复果 1 000 倍液。

白粉虱:大小和蚜虫相似,但体表面覆盖一层白色的蜡质层,复眼是红色的。成虫有一对翅膀,性活跃,受惊善飞翔。白粉虱不但危害叶片、果实,排泄物还能污染叶面和果实表面,引起霉菌繁

殖,对品质影响很大。防治时可喷洒 5 000 倍液氟菊酯。

根蛆:是蝇类的幼虫,体乳白色头部尖,尾部较粗,呈圆筒形。体表光滑、无足。根蛆主要危害韭菜、大葱的根部。韭菜受害后,根部腐烂,地上部叶片枯萎、死亡。防治时可用 90% 敌百虫 800 倍液或 1 000 倍液马拉硫磷灌根。

跳虫:体很小,黑褐色,腹部末端有个弹器,性极活泼,善跳。在温室里主要危害黄瓜的幼苗叶片,黄瓜幼苗叶片受害后,出现淡黄的斑点,严重时出现小孔洞。可用 1 000 倍敌敌畏喷洒地表面或植株下部的叶片进行防治。

(王忠民 河北省枣强县流常农牧服务中心, 053101)