

欧洲大樱桃的组织培养与快速繁殖

王计平, 侯思宇, 孙朝霞, 王玉国 (山西农业大学农学院生物技术系, 山西太谷 030801)

摘要 以欧洲大樱桃幼嫩茎段为外植体材料, 研究了不同浓度 6-BA 和 IAA 外源激素配比组合和不同培养温度对樱桃茎段离体培养的影响, 结果表明: 在附加 6-BA 1.5 mg/L, IAA 0.3 mg/L 的 MS 培养基上茎段外植体生长健壮, 芽分化数和诱导率较高, 为茎段初代培养的最适培养基。温度对茎段组织培养再生不定芽也有一定的影响。在培养温度为先 15 ℃、后 25 ℃ 的条件下, 茎段外植体芽分化数为 7.4 个, 芽诱导率为 99%。这表明经低温 15 ℃ 条件下处理的外植体比其他温度条件更能诱导芽分化。

关键词 欧洲大樱桃; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号 S662.5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)16-04809-02

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Prunus avium* L.

WANG Ji-ping et al (Department of Biotechnology, College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801)

Abstract With the stems of *Prunus avium* L. as explants, the influences of matching combinations of exogenous hormone 6-BA and IAA with different concentration, and different culture temperature on the cherry stem section culture in vitro were studied. Results showed that the optimal culture medium was the MS medium added 6-BA 1.5 mg/L, IAA 0.3 mg/L, on which the stem explants could grow haleness, the bud differentiation amount and induction rate were higher. The culture temperature had some effect on regeneration adventitious bud in stem tissue culture. Under the condition of first 15 ℃, late 25 ℃, the bud differentiation number of stem explants was 7.4, and the bud induction was 99%, indicating that the explants treated at low temperature of 15 ℃ had more induction ability than that at other temperature condition.

Key words *Prunus avium* L.; Tissue culture; Rapid propagation

欧洲大樱桃(*Prunus avium* L.)属于蔷薇科樱桃属典型樱桃花亚属植物^[1]。在落叶果树中, 果实成熟最早, 为“百果之先”^[2-3]。樱桃的种子萌发率低, 实生苗易感染病毒, 扦插繁殖系数低, 因而在生产实践的应用中受到很大的限制。采用茎尖、茎段外植体进行樱桃快速繁殖, 可以提高优良品种的繁殖系数和抗病能力, 培育优良砧木, 改善嫁接亲和力。笔者对欧洲大樱桃进行茎段离体培养, 旨在探讨器官分化的方式及条件, 为樱桃属植物的组织培养与快速繁殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 供试友谊樱桃, 由山西省农业科学院果树所提供。

1.2 方法 取欧洲大樱桃幼嫩茎段, 去掉已展开的幼叶, 切割成长约 1.0 cm 的切段, 用流水冲洗 1 h 左右, 置于超净台上用 70% 酒精消毒 15~30 s, 无菌水冲洗 2 次, 再用 0.1% HgCl₂ 分 2 次消毒, 共计 10~15 min, 无菌水冲洗 4~5 次。将小切段接种于附加 0.6% 琼脂和 3% 蔗糖, pH 值 5.6~5.8、含有不同配比生长调节物质的 MS 固体培养基上, 进行离体培养。每个培养基中接种 3~5 个外植体, 培养温度为(25±1)℃, 光照时间为 16 h/d, 光照强度为 2 500 lx, 从中筛选樱桃茎段最适初代培养基。然后, 将诱导出的试管苗转接于含有不同生长调节物质的 MS 继代及生根培养基上, 进一步筛选最适继代及生根培养基。

2 结果与分析

2.1 樱桃茎段初代培养

2.1.1 不同生长调节物质对比对樱桃茎段初代培养的影响。 在不同生长调节物质配比的培养基中, 外源激素的种类和浓度是影响植物组织培养的关键因子。一般来讲, 只有适宜的细胞分裂素和生长素浓度配比, 才能诱导植物离体再生, 并且提高再生效率。该试验将友谊樱桃茎段外植体接种于 MS 基本培养基附加不同浓度细胞分裂素 6-BA 和生长素

IAA 的初代培养基上, 培养温度为(25±1)℃, 光照为 2 500 lx, 光照时间为 16 h/d。

从表 1 可以看出, 在高浓度 BA 和低浓度 IAA 的激素配比下, 友谊樱桃茎段外植体芽分化数和诱导率最高的均为 1 号培养基, 但幼苗生长细弱, 且基部有愈伤组织发生。而在 2、3、4 和 6 号培养基上, 茎段分化率较 1 号偏低, 但幼苗生长健壮, 叶片浓绿、伸展, 无愈伤组织发生。在 2 号培养基上茎段外植体长势好, 芽分化数和诱导率较高, 为茎段初代培养的最适培养基。

表 1 不同浓度 6-BA 和 IAA 对比对樱桃茎段初代培养的影响

编号	生长调节物质//mg/L		分化芽 诱导率		形态描述
	6-BA	IAA	数//个	%	
1	1.5	0.5	6.00	91	芽分化, 细弱, 基部有愈伤
2	1.5	0.3	4.95	89	芽分化, 健壮, 叶片伸展
3	1.0	0.5	4.75	80	芽分化, 健壮, 叶片伸展
4	1.0	0.3	3.63	77	芽分化, 健壮, 叶片伸展
5	0.5	0.5	2.25	56	芽分化, 基部愈伤, 少量根出现
6	0.5	0.3	2.63	62	少量芽分化, 叶片伸展

2.1.2 不同温度处理对樱桃茎段初代培养的影响。 将友谊樱桃茎段外植体接种在 2 号最适培养基(MS + 6-BA 1.5 mg/L + IAA 0.3 mg/L)上, 观察温度对友谊樱桃茎段初代培养芽分化数和诱导率的影响。

从表 2 可以看出, 在温度为 25 ℃ 的培养条件下, 友谊樱桃茎段芽分化数和诱导率均低于其他温度条件。其中, 在培养温度为先 15 ℃、后 25 ℃ 的条件下, 茎段外植体芽分化数为 7.4 个, 芽诱导率为 99%。这表明经低温 15 ℃ 处理的外植体比其他温度条件更能诱导芽分化, 有利于植株的分化再生。

表 2 不同温度对樱桃茎段初代培养的影响

温度//℃	分化芽数//个	诱导率//%
15	7.40	99
20	6.50	97
25	4.95	91

注: 在 15、20 ℃ 条件下培养 3 d, 随后转入 25 ℃ 条件下培养 12 d; 25 ℃ 条件下直接培养 15 d。

基金项目 山西农业大学科技创新基金项目(2004015)。

作者简介 王计平(1974-), 女, 山西阳泉人, 在读博士, 讲师, 从事植物生理与分子生物学的教研工作。

收稿日期 2007-02-06

2.2 樱桃茎段继代培养和芽的增殖 将诱导出的试管苗剪切成含有1~2片叶的茎段,转接于继代培养基上。培养30 d后,待茎段生长到4 cm以上,外植体分化出3~4个芽时,可形成丛生芽。剪切带有2~3个芽的丛生芽块,去掉基部的愈伤组织,再继续接种到继代培养基上进行增殖。在继代培养过程中,不同配比生长调节物质对器官的分化和芽的增殖都有很大的影响。从表3可以看出,在MS培养基附加不同配比6-BA和IAA的组合中,以6-BA 0.2 mg/L+IAA 0.1 mg/L的效果最好,芽增殖迅速,增殖率较高且苗生长状况良好(图1)。高浓度的6-BA虽然有利于提高芽分化率,但植株芽丛生,生长细弱,顶芽容易褐化,叶片黄化枯萎。在继代培养中,降低6-BA浓度,则有利于芽的分化和增殖。



图1 欧洲大樱桃腋芽的增殖

表3 不同浓度6-BA和IAA配比对樱桃茎段继代培养的影响

生长调节物质//mg/L		接种数	芽分化数	芽增殖率
6-BA	IAA	个	个	倍
1.0	0.2	30	110	3.65
0.5	0.2	30	95	3.17
0.2	0.1	30	136	4.53
0.1	0.05	30	87	2.90

2.3 试管苗的生根和移栽 将增殖的试管苗转接于生根培养基中,暗培养10 d后,转入光下培养3~4周,不定梢能形成良好的根系。其中,以1/2 MS培养基附加IBA 0.5 mg/L生根效果最好。待苗高长至3~5 cm,有3条以上的根形成时就可以进行大田移栽。选择生根良好的试管苗移入炼苗室,自然光下闭盖培养炼苗14 d,开盖炼苗2~3 d,炼苗温度为20~30℃。然后,用镊子将生根的试管苗从三角瓶中取出,用自来水将其根部的培养基冲洗干净,移栽到有机土和细沙混合比例为3:1的苗床中,一次浇足水分,喷施多菌灵,用塑料薄膜覆盖成拱棚,控制平均光照强度为1 000~5 000 lx,必要时加盖遮阳网,控制温度为15~30℃,相对湿度90%以上。移栽40 d后,小苗有新叶长出(图2),即可逐渐揭开小拱棚以通风降温,增强光照,并保持较高湿度。研究表明,试管苗移栽成活率高达94%以上。

3 小结与讨论

研究表明,欧洲大樱桃的组织培养与快速繁殖以3、4月中旬的新生幼嫩枝条为茎段外植体材料,接种诱导成功率最



图2 欧洲大樱桃的移栽苗

高。在建立樱桃茎段再生体系的过程中,随着6-BA浓度的提高,芽分化率不断提高,但是苗分化相对细弱;而随着IAA浓度的提高,苗的生长量增加,苗较为茁壮。因此,只有在6-BA和IAA 2种激素浓度配比适宜的条件下,樱桃组培快繁才会获得较好的效果^[4]。研究表明,在附加6-BA 1.5 mg/L,IAA 0.3 mg/L的MS培养基上茎段外植体生长健壮,芽分化数和诱导率较高,该培养基为茎段初代培养的最适培养基。温度对茎段组织培养再生不定芽也有一定的影响。经低温15℃处理的外植体更有利于芽分化^[5]。温度过高,顶芽褐死,产生灼苗的现象;温度过低,植株生长停滞,不利于芽分化^[6]。所以,低温15℃处理3 d后,转入正常温度25℃培养,茎段外植体芽分化率达到最高。在继代培养中,6-BA浓度降低有利于提高腋芽增殖。在诱导芽分化时可能需要高浓度的细胞分裂素打破顶端优势,而继代培养时内源激素的持续积累导致内源激素浓度升高,所以在继代培养时应降低细胞分裂素的浓度。研究表明,友谊樱桃茎段最适继代培养基为MS+6-BA 0.2 mg/L+IAA 0.1 mg/L。离体试管苗在不同生长素作用下均有生根效果,但是樱桃生根最适培养基为1/2 MS+IBA 0.5 mg/L。试管苗是否能够大量应用于生产实践,取决于大田移栽试管苗是否有很高的成活率。试管苗的移栽对土壤的质地、温度、湿度及光照都有较高的要求^[7]。研究表明,将试管苗移栽到有机土和细沙混合比例为3:1的基质中,移栽成活率可达94%以上。

参考文献

- [1] 刘志坚,张发亭. 大樱桃发展的形势、问题及建议[J]. 北方果树,2002(1):27-29.
- [2] 戴桂林,杨晓华,聂国伟,等. 山西省甜樱桃栽培现状及发展建议[J]. 山西果树,2003(4):25-26.
- [3] 夏国海,叶霞,赵冰梅,等. 樱桃组织培养研究进展[J]. 中国果树,2003(3):46-50.
- [4] 侯修胜. 莫利甜樱桃试管快繁技术研究[J]. 落叶果树,2002(5):5-6.
- [5] GUPTA P K, MASCARENHAA A F, JAGANNATHAN V. Tissue culture of forest trees-clonal propagation of mature trees of eucalyptus citriodora hook by tissue culture[J]. Plant Sci Lett,1981,20:195-201.
- [6] 侯修胜. 中华矮樱桃试管苗快速繁殖技术研究[J]. 江苏林业科技,2002,29(15):20-22.
- [7] 赵娟,王玉国. 褐斑伽蓝的组织培养与快速繁殖[J]. 山西农业大学学报,2003,23(4):338-341.