

文章编号:1007-4961(2006)04-0419-03

波兰黑穗醋栗的组织培养

赵锦¹, 陈瑜², 薛陈心³, 刘孟军³, 代丽³

(1 河北农业大学 生命科学院, 河北 保定 071000; 2 西北大学 生命科学院, 陕西 西安 710069;

3 河北农业大学 中国枣研究中心, 河北 保定 071001)

摘要:本试验采用波兰黑穗醋栗(*Ribes nigrum* L.)优良品种 Ceres 冬季休眠枝的水培芽为外植体,进行了组织培养研究,建立了其快繁体系,即初代培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L;增殖培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L;生根培养基为 MS+无激素;在此体系中增殖系数可达 4.3,生根率 100%,最多生根条数可达 15 条以上。本试验还发现,Ceres 品种茎段分枝力较差,但生根能力很强。

关键词:黑穗醋栗;Ceres;组织培养;激素**中图分类号:**S 663**文献标识码:**ATissue culture of *Ribes nigrum* L. cv. Ceres from PolandZHAO Jin¹, CHEN Yu², XUE Chen-xin³, LIU Meng-jun³, DAI Li³

(1 College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China;

2 College of Life Science, Xibei University, Xi'an 710069, China;

3 Research Center of Chinese Jujube, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: The buds from water cultured dormant branches of *Ribes nigrum* L. cv. Ceres were taken as explants in this experiment. The optimum media for initiating, proliferating, and rooting culture were established, i.e., MS+6-BA 1.0 mg/L, MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L and MS+no hormone, respectively. In this system, the highest propagation coefficient was 4.3 and the rooting rate was 100%, more than 15 roots were formed in rooting medium. The result also indicated that Ceres has low branching ability and high rooting ability.

Key words: *Ribes nigrum* L.; Ceres; tissue culture; hormone

黑穗醋栗(*Ribes nigrum* L.),又名黑加仑,为虎耳草科醋栗属或称茶藨属植物,是一种小灌木^[1],具有易栽植、好管理、收益大之特点。果实营养丰富,维生素的种类多、含量高,尤其维生素 C 的含量为一般果蔬的几倍乃至几十倍,是酿酒及加工的好原料,具有很高的经济价值^[1,2]。因其巨大的市场潜力,近几年来生产面积迅速增加,种苗需求量迅速增大。然而,由于黑穗醋栗在我国发展较晚,所以基本上以扦插、压条等常规育苗为主^[3,4]。本试验以黑穗醋栗为外植体,进行了启动、增殖和生根培养研究,旨在为进一步

的快速规模化育苗打下技术基础。另外,本试验应用的黑穗醋栗品种为作者于 2003 年 12 月由波兰最新引进的优良品种,国内尚未见该品种的相关报道^[1,5~7]。

1 材料及方法

供试黑穗醋栗品种为 Ceres,材料为冬季休眠枝。将黑穗醋栗休眠枝条剪成不同长度的枝段(具 5~10 个侧枝),在温室中进行水培发芽,将枝条基部浸入清水中 5 cm 左右,2 d 换水一次,4 d 修剪枝条基部截面一次,并小心刷净枝条基部污垢,以防导管堵塞,影响

收稿日期:2006-07-05;修改稿收期:2006-08-01

基金项目:中波政府间科技合作项目(AM30-033)。

作者简介:赵锦(1977-),女,河北安平人,博士,副教授,从事植物种质资源研究。

通讯作者:刘孟军(1965-),男,河北望都人,教授,从事植物种质资源和育种研究。

水分吸收。10~15 d后,枝条萌芽,待芽子长到2.0~3.0 cm左右,小心取下嫩芽,用流水冲洗30 min,置于超静工作台上用75%的酒精浸泡10 s,无菌水冲洗2次,再用0.12% HgCl₂ 消毒5 min,无菌水冲洗4次,然后接种于初代培养基上。

本试验所用基本培养基为MS培养基,其中初代培养时因为引进材料非常少,所以未作处理,直接接种于MS+6-BA 1.0 mg/L培养基中进行启动培养;增殖培养时添加了一定浓度的6-BA和IBA,每处理接种40株芽苗,接种40 d后统计增殖结果;生根培养为无激素MS培养基,接种40株幼苗,培养40 d后统计生根结果。以上培养基均含蔗糖3%,琼脂0.45%,培养基灭菌前pH为6.0,培养温度为27±2℃,光照度1 400~1 600 lx,光照时间15 h/d。

2 结果与分析

2.1 初代培养

将外植体接种于初代培养基中1周后,叶柄伸长,茎段开始延伸,并抽生新叶,茎段基部有丛生芽产生。但若持续在6-BA 1.0 mg/L培养基中培养,组培苗会出现节间缩短、叶片丛生并皱缩变小等畸形生长现象,这可能是由于培养基中添加细胞分裂素过多所致。在增殖培养基中降低了6-BA的浓度并增添了生长素类物质,效果良好。

2.2 增殖培养

增殖培养基共设10种处理,接种到不同处理的培养基中2周后,茎段基部有丛芽分化。由表1可以看出,培养基中添加一定浓度的6-BA与IBA处理后,接种的黑穗醋栗茎段均能不同程度的长出丛生芽,但以6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L增殖效果最好(如图1所示),增殖系数达4.3。在一定浓度范围内,随着6-BA与IBA比例的降低,丛生芽逐渐增多,但IBA添加过量时,如U4中丛生芽形成数量开始减少,伸长生长增加,且有不定根生成(如图2所示)。



图1 在U3培养基上Ceres增殖情况

Fig.1 The propagation condition of Ceres in medium U3



图2 在U4培养基中Ceres生长情况

Fig.2 Ceres growth status on medium U4

另外,通过增殖培养还发现,Ceres茎段很少分化出分枝,均是在茎段基部长出丛生芽,这可能与黑穗醋栗本身属于小灌木有关,也可能是该品种的特性。

表1 培养基中添加不同浓度的激素组合对丛生芽诱导的影响

Table 1 The effect of MS medium with different hormone combination on the sprouting of Ceres

序号 No.	处理组合(mg/L) 6-BA + IBA Treatment	接种芽苗数 No. of inoculation	增殖芽苗数 No. of shoot propagated	繁殖系数 Propagation coefficient
0	0.0+0.0	40	40d	1.0
U1	0.5+0.1	40	88c	2.2
U2	0.5+0.3	40	116b	2.9
U3	0.5+0.5	40	172a	4.3
U4	0.5+1.0	40	52d	1.3
I1	0.1+0.5	40	48d	1.2
I2	0.3+0.5	40	52d	1.3
B1	1.0+0.0	40	68d	1.7
B2	1.0+0.5	40	92c	2.3
B3	2.0+0.5	40	88c	2.2

2.3 生根培养

从增殖培养获得的芽丛中切取具3~4个芽的茎段,接入无激素和分别添加IBA和IAA的培养基中诱导生根,培养40 d后进行统计。结果表明,Ceres的生根能力很强,在U3培养基中增殖培养以后,转入无激素培养基中,幼苗生长健壮,生根率100%(如图3所示),生根条数一般在6~8条,甚至多达15条以上,而且能分生大量侧根(如图4所示);而添加了IBA和IAA激素的处理无论生根率、生根数量还是平均根长均没有达到无激素的处理效果。从Ceres生根苗还可以看出,其生根特点是在基部茎段上直接生出不定根,并非在切口处或从愈伤组织处生根,这与一般植物的生根特点有所区别。



图3 Ceres 在无激素生根培养基中生长情况

Fig.3 The rooting condition of Ceres in rooting medium



图4 Ceres 在无激素生根培养基中生根条数可达15条以上

Fig.4 More than 15 roots were formed in rooting medium

表2 培养基中添加不同浓度的激素组合对 Ceres 生根的影响

Table 2 The effect of MS medium with different hormone combination on the rooting of Ceres

序号 No.	处理组合/(mg·L ⁻¹) 6-BA + IBA Treatment	接种芽苗数 No. of inoculation	生根率/% Rooting rate/%	生根条数 Amount of root	平均根长/cm Average length of roots/cm
O	0.0+0.0	40	100a	6~15	4.3
R1	0.5+0.0	40	80c	3~5	3.4
R2	1.0+0.0	40	67d	2~5	2.6
R3	0.0+0.1	40	90b	4~6	3.7
R4	0.0+0.5	40	83c	3~5	3.1

值得一提的是,在增殖培养基所设无激素处理中 Ceres 幼苗基本没有生根现象,只有经过 U3 培养基增殖培养以后,再转入无激素培养基中,Ceres 才迅速生根,并生长健壮。这说明本试验中前期的增殖培养为后期的生根奠定了良好的激素基础,在增殖培养以后,撤去添加激素处理,非常适合该品种的生根和壮苗培养,其生根苗完全达到了移栽标准(如图4所示)。

3 结论与讨论

关于水培方法在组培试验中的应用已有一些报道^[8],作者也曾曾在枣及酸枣等不同枣品种(种)的组培试验中应用此方法获得成功^[9],本试验中因为从波兰引进黑穗醋栗优良品种的时间为冬季,为了更好的保存和利用资源,只能利用水培冬季休眠枝的方法获得外植体进行组织培养保存。通过本试验的研究结果进一步验证了冬季利用水培苗为外植体开展组培试验的通用性和优越性,并为其他木本植物冬季获得外植体提供了有益参考。

本研究比较筛选出了波兰黑穗醋栗优良品种 Ceres 的适宜初代、增殖和生根培养基,即 MS+6-BA 1.0 mg/L、MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L 和 MS+无激素,此体系的建立为这一优良品种的规模化育苗奠定了技术基础。

此外,本研究获得的生根瓶苗经炼苗后植于多菌灵灭菌的蛭石基质中,搭塑料拱棚保持一定的温湿度,移栽成活率可达95%。目前该品种在我国北方地区的适应性、驯化和推广研究正在进行之中。

参考文献:

- [1] 张志东,李亚东,吴 林. 英国黑加仑的栽培与研究及我国黑加仑发展策略[J]. 吉林农业大学学报,2003,25(3): 296-300.
- [2] 张亚楼,温 浩. 黑加仑营养成分及保健功能研究进展[J]. 国外医学卫生学分册,2004,31(2): 108-111.
- [3] 王 刚,苏铁锋. 黑穗醋栗(黑加仑)温室快速育苗技术[J]. 北方果树,2004,2:424.
- [4] 李佩英. 黑穗醋栗苗木繁殖技术[J]. 中国林副特产,2001,3(58): 25-26.
- [5] 李亚东,吴林,张志东,等. 黑穗醋栗优良品种——黑珍珠[J]. 园艺学报,2002,29(2):190.
- [6] 睢 薇,李光玉,霍俊伟,等. 大果优质黑穗醋栗新品种‘布劳德’[J]. 园艺学报,2002,29(5):497.
- [7] 陆致成,张静茹,巩文红,等. 我国黑穗醋栗优新品种[J]. 山西果树,2003,2(92):18-19.
- [8] 延志莲,陈宗礼,薛 皓,等. 大木枣休眠枝水培芽及其离体培养芽诱导的研究[J]. 延安大学学报,2000,19(1): 66-71.
- [9] 赵 锦,代 丽,刘孟军. 水培方法在枣无菌繁殖系外植体建立中的应用[J]. 河北农业大学学报,2005,28(5):45-47.

(编辑 郭丽娟)