

组织培养在枣树繁殖中的应用

李永红

(山西省吕梁市林业科学研究所,山西 吕梁 033000)

摘要:有“铁杆庄稼”之美称的枣树,耐瘠薄、抗盐碱、耐干旱,在我国栽培面积很广。枣果营养丰富,并且还含有大量的药物成分,可鲜食、制干和加工,深受人们喜爱,已成为我国果树发展中的一大热点。广大农村,特别是沿黄河的农民靠枣树发家致富。近年来全国枣生产发展很快,培育和发掘出许多优良品种,枣树在我国虽有几千年的栽培技术,但长期以来,一直沿用根蘖分株、嫁接等繁殖手段来繁殖苗木。植物组织培养是20世纪发展起来的一门新技术,是目前和未来繁殖优良苗木的基本方向。无菌体系的建立、试管苗的分化与生根、试管苗瓶外移栽过渡是组织培养的主要环节,如何能尽快获得外植体、选用合适的培养基加快繁殖速度以及如何提高试管苗对外界环境的适应性能,从而提高移栽成活率又是组织培养的关键,针对这些具体环节对枣树优良品种“冬枣”进行了探索性试验。

关键词:枣树 苗木繁殖 组织培养

中图分类号:S722.37

文献标识码:A

1 枣树概述

1.1 枣树简介

枣树(*Ziziphus jujuba*)鼠李科枣属,是我国最具有特色和优势的果树树种之一。耐瘠薄、抗盐碱、耐干旱,有“铁杆庄稼”之美称,枣果营养丰富,并且还含有大量的药物成分,尤其是维生素C(鲜枣)、环磷酸腺(CAMP)、糖等含量位于百果之首,可鲜食、制干和加工,深受人们喜爱。

1.2 枣树的经济效益

枣树在我国分布很广,北方的冀、鲁、豫、晋、秦是我国的主要产枣基地。据中国农业年鉴统计资料表明,从1980年到1998年的19年间,我国枣果总产量由37.6万t上升到110.4万t,增加了近2倍。近年来已成为我国果树发展中的一大热点。仅山西省吕梁市(原吕梁地区)红枣栽培面积就达到6.7万hm²,产量上长到0.5亿kg。广大农村,特别是沿黄河四个县(兴县、临县、柳林、石楼)的农民就是靠红枣来发家致富的。山西省临县克虎镇庞家庄村1990年人均占有枣树82株,单株产量5.6kg,人均收入达到1000元,比当年全县人均收入高出2倍,1995年人均纯收入达到2500元,比当年全县人均收入高出4倍。据吕梁市林业局统计,2004年红枣给沿黄河农民人均增收500~800元。

1.3 枣的优良品种

近年来全国枣生产发展很快,培育和发掘出许多优良品种,如鲜食品种有山西梨枣、山东冬枣、陕西油福水枣;制干品种有山西相枣、石楼大枣、河北婆枣、河南核桃纹枣、陕西大荔圆枣;兼用品种有山东金丝小枣、山西稷山板枣、骏枣、河北赞皇大枣等。这些优良品种果大、皮薄、肉厚、味甜,产量高,将成为枣区的主栽品种和改良品种。

1.4 枣树的繁殖方法

1.4.1 传统繁殖方法 分株繁殖是枣树的传统繁殖方法,一般是针对成年大树,并且要采取人为断根的措施,这样不仅对母树有伤害,还可造成品种混杂不清;嫁接繁殖,简单易行,成活率高,是目前采用较多的繁殖方法,但是发枝量少,树冠成型慢;嫩枝扦插繁殖是枣树繁殖的另一条新途径,虽然经过许多科研单位的试验,成活率大大提高,但是耗枝量大,必须是当年萌发的半木质化的枝条,取材困难。

传统的繁殖方法严重制约着枣树良种的推广速度,还可引起品质的退化。扦插、嫁接、分株等营养器官繁殖苗木都有可能携带一种或多种病毒或类病毒。病毒病是困扰枣区农民的一大难题,目前发现枣的惟一病毒病叫“枣疯病”,该病在我国主产区均有发生,发病株率为14%~74%,传播速度快,常导致整片枣林毁灭。树体一旦感病,终身携带,通过传统病害防治技术和栽培措施难以治愈。

1.4.2 先进育苗技术 植物组织培养是20世纪发展起来的一门新技术,不仅可去除病毒,保持母本的优良特性,还可在一定的时间内,利用一个外植体繁

收稿日期:2005-04-21

作者简介:李永红(1974-),男,山西吕梁人,大学,工程师,现从事林业科研工作。

殖出比常规繁殖多几百倍,甚至上万倍的小植株,是目前和未来繁殖苗木的先进技术。

2 枣树组织培养试验

2.1 植物组织培养的定义

植物组织培养是指在无菌条件下,将离体的器官(如根、茎、叶、花、果、茎尖等)组织(如形成层、表皮层、皮层、髓部细胞、胚乳等)、细胞以及原生质体,培养在人工控制的环境里使其形成完整植株的一种方法。

2.2 植物组织培养的理论基础

组成植物体的每个细胞都是由细胞分裂产生的,任何一个具有完整细胞核的植物细胞,都拥有形成一个植株所必须的全部遗传信息。由于体细胞具有全能性,所以单个体细胞在合适的条件下就能像合子一样发育成完整的生物个体。

2.3 植物组织培养的程序

母株(完整)→外植体(母株的一小部分)→接种到培养基上→长芽(继代增殖)→长根→练苗、驯化→完整植株

2.4 植物组织培养的优点

2.4.1 脱毒 植物组织培养根据病毒在植株内的分布特点(愈接近茎顶端分生组织病毒的愈低,在茎尖叶原基处的分生组织中几乎不存在病毒),利用茎尖培养脱除病毒,培育无病毒苗。

2.4.2 周年生产 植物组织培养在人为提供的环境中培育苗木,可周年试验生产,摆脱了大自然四季等各气候因子的限制。

2.4.3 快速 植物组织培养4~8周可完成1个繁殖周期,每1周期增值3~4倍很容易达到。繁殖材料是按几何级数扩大的,一年内繁殖十几万,几百万是很容易的事。生长周期短、繁殖速度快是组织培养最明显的一个特点。

2.4.4 遗传性一致 植物组织培养利用芽生芽的方式来繁殖苗木,培育出的苗木都能与优良母株的性状保持一致。

2.4.5 节省材料 植物组织培养只需要从母株上采集少部分的芽或茎段等外植体用于初代培养,一旦启动成功再无需采集就可繁殖出大批的苗木。

2.4.6 节约空间 植物组织培养利用试管或玻璃三角瓶在室内立体培育苗木,可以最大程度的利用空间。组织培养的这一点还常常用于保存资源种质。

2.5 枣树组织培养快繁试验

2.5.1 项目背景 吕梁地处黄河中游,日照时间充足,昼夜温差明显,是红枣起源的中心地带。栽培历

史悠久,据传可以追溯到西周时期。清代以来,红枣即成为大宗出境特产。正常年景年总产量1.1亿kg,占山西省总产量的67%,占全国总产量的13.4%。俗话说:“沟壑壕堙斜角角,十年九旱干巴巴,种庄稼没法法,栽上枣树十拿拿”。荒年庄稼歉收,枣树却较有收成,因此很适应吕梁十年九旱的气候。

吕梁地区虽然有很久的栽培历史,但是名特优品种很少,靠传统的繁殖育苗办法推广优良品种,不仅费工费时,繁殖率较低,酸枣嫁接大枣还会引起结果小,枣果品质差的问题,同时也无法避免感染枣疯病的危险。于是在1995年立项申请了世行项目——红枣组织培养快速育苗,1996年正式开始试验研究。

2.5.2 试验品种 山东的冬枣,别名冻枣、水枣、冰糖枣,果实近圆形,又称苹果枣,果皮赭红色,平均单果重14.5g,最大果重46g,果皮薄,果肉较厚,味酸甜适口,质地细嫩酥脆,品质极上,是优良的鲜食品种,由于其具有晚熟性,全国各地都有引种。

2.5.3 材料来源 与北京林业大学良种繁育中心通过技术合作,引进脱毒植株和试管苗进行试验。

2.5.4 试验思路 无菌体系的建立、试管苗的分化与生根、试管苗瓶外移栽过渡是组织培养的主要环节,如何能尽快获得外植体,选用合适的培养基加快速度以及如何提高试管苗对外界环境的适应性能力,从而提高移栽成活率又是组织培养的关键所在,针对这些具体环节展开探索性的试验。

2.5.5 试验方法 外植体的脱毒处理:植物组织培养所用的培养基中含有丰富的营养,非常适合微生物生长,稍不小心就会引起杂菌污染,所以组织培养中无菌体系的建立至关重要。

外植体的灭菌处理是快速繁殖的第一步,不同的外植体其带菌程度不同,灭菌难易程度和灭菌效果也有明显的差异。常规的材料是来源于早春刚刚萌发的叶芽或经过培养箱水培催芽而萌发的叶芽。试验发现叶芽灭菌处理杀菌剂浓度和灭菌时间掌握难度大,不是灭菌不彻底,就是连叶芽都杀死。于是我们设想用带腋芽的茎段作为外植体进行灭菌处理,灭菌成功后在试管内作催芽处理,然后切取叶芽作快速繁殖。利用这一思路设置2种试验方案:一种是在春季萌芽前采集一年生枝条,切取成枝条茎段进行灭菌处理;另一种是在生长旺盛的夏季采集当年生的枝条,切取成枝条茎段进行灭菌处理。通过对试验结果分析,用夏季当年生带腋芽的茎段灭菌成功率高,效果较好(表1)。

表1 外植体不同处理试验统计

材料类型	处理方式	重复数	污染数	死亡数量	脱毒数量	脱毒率(%)	平均脱毒率(%)	最高脱毒率(%)
春季萌芽前	0.1% HgCl 5min	30	23	5	2	6.7	9.8	11.3
1年生枝条	0.1% HgCl 8min	30	18	8	4	11.3		
	0.1% HgCl 10min	30	15	11	4	11.3		
夏季采集当	0.1% HgCl 5min	30	17	7	6	20	30	36.7
年生的枝条	0.1% HgCl 8min	30	11	9	10	33.3		
	0.1% HgCl 10min	30	4	15	11	36.7		

培养基试验:合理的培养基是快速繁殖的保证,培养基配方就象医生开的药方,只有合理配比使用才会收到好的效果。特别是细胞分裂素和生长素的用量与比例,对外植体的生长和分化起决定性的作用。细胞分裂素的主要作用是促进细胞分裂和分化,诱导胚状体和不定芽的形成,延缓组织的衰老并增强蛋白质的合成,在培养基中加入细胞分裂素,可促进植物细胞的分裂和不定芽的形成,打破顶端优势形成丛生芽,有利于芽的增殖;生长素影响茎尖和

节间的伸长、向性、顶端优势、叶片脱落和生根等现象,用于诱导细胞的分裂和根的分化。

分化繁殖阶段试验:这一阶段是诱导繁殖材料腋芽萌发形成丛生芽,再以芽繁殖芽的方法继代培养不断分化,繁殖出大量的芽和苗,组织培养快速育苗的特点正是通过此环节实现。通过大量的试验,找到了比较合适的细胞分裂素和生长素的配比量,6-BA4mg·L⁻¹+NAA0.4mg·L⁻¹繁殖系数可达到8,试管苗生长良好(表2)。

表2 分化繁殖阶段细胞分裂素和生长素的配比试验

编号	6-BA, NAA 用量(mg·L ⁻¹)	试验株数	生长状况(30 d)	增殖倍数	排序
1	1 0.2	200	分枝最少,苗状,生长快	2	3
2	2 0.2	200	分枝少,苗状,生长快	4	2
3	4 0.4	200	分枝较多,苗中等,生长良好	8	1
4	4 0.2	200	分枝最多,苗短,节间短,叶小	12	4

生根阶段试验:这一阶段就是将分化阶段繁殖出的大量无根试管苗,通过生长素的作用长出不定根,并使苗继续生长形成长根、茎、叶完整的植株。几

组试验对比发现6-BA0.01mg·L⁻¹+NAA1mg·L⁻¹+IBA1mg·L⁻¹较好(表3)。

表3 生根阶段细胞分裂素和生长素的配比试验

编号	试验株数	试剂及用量(mg·L ⁻¹)	生长状况	排序
1	200	NAA 2	生长慢,基部有愈伤组织产生,20 d左右才有少量粗根	3
2	200	6-BA0.01+NAA2	7 d左右腋芽萌发基部有少量愈伤组织,随后长出1~2条粗根	2
3	200	6-BA0.01+NAA1+IBA1	7 d左右腋芽萌发,15 d左右开始长出3~5条细根并有须根	1

试管苗移栽试验:试管苗移栽是组织培养快速育苗的最后关,组织培养获得的大量试管苗能否应用于生产,是否有效益取决于这一关。试管苗长期处于人为提供的高湿、恒温、弱光、养分适宜、无菌的环境中,根的吸收光合作用能力极低,叶表保护组织不发达,小苗体内的水分难以达到平衡,组织幼嫩,结构松散,机械组织很不发达,对病虫害特别敏感,容易引茎叶腐烂。试管苗移栽是试管苗由异养到自养的过程,常常通过喷雾或塑料小拱棚来增加空气湿度,导致基质湿度加大,不仅通气不良影响长根,而且容易导致病菌侵染,烂苗致死,许许多多的付出都毁于此环节。采用了在分化繁殖阶段降低增殖倍数,提高试管苗质量和移栽时使用杀菌剂处理,收到了一定的效果,提高了移栽成活率。

3 讨论

3.1 枣树采用无性繁殖的方式,利用组织培养这项

比较先进的育苗技术解决实际生产中优良苗木紧缺的问题是非常适合的,组织培养在枣树方面的应用将是枣树繁殖技术方面的一次革命,具有重要的应用价值。

3.2 植物组织培养技术含量高,要求严,前面所提试验的仅仅是关键环节的几方面,在整个的操作过程中,从药品的称量、母液的配制、培养基的制作、灭菌、到试管苗移栽过程中基质的配比都有很高的要求,并且试管苗的继代转接都必须在无菌环境的条件下进行。

3.3 植物组织培养是一项新技术,成功的经验不少,但是失败的例子也很多。截止目前,试管苗移栽仍是许多组培操作人员不可保证的环节。另外,从事组织培养工作的人员不是很多,这项技术还没有真正得到广泛推广,大部分从事生产的操作人员没有很高的理论水平,一直处于高深莫测的位置,使得这一技术普及难度加大。