

文章编号: 1003-8701(2008)01-0026-02

苹果矮化砧 GM256 组织培养与快繁技术研究

郑亚杰, 姚环宇

(吉林省农业科学院果树所, 吉林 公主岭 136100)

摘 要: 通过对苹果矮化砧 GM256 的离体组织培养和快繁实验, 探讨了 GM256 茎尖诱导、试管苗增殖、生根等组培技术。结果表明: GM256 外植体能否诱导成苗, 除了选择适宜的培养基外, 必须要经过暗培养才能诱导出苗。适宜的增殖培养基为 MS+3.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA, 可使增殖率达到 5.9%。暗培养对促进 GM256 试管苗的生根无明显效果, 最佳生根培养基是 1/2 MS+0.5 mg/L IBA。

关键词: 苹果矮化砧 GM256; 组织培养; 快繁

中图分类号: S661.1

文献标识码: A

Studies on Tissue Culture Technology of GM256, a Dwarf Rootstock of Apple

ZHENG YA-jie, YAO Huan-yu

(Pomology Institute, Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: Experiment of in vitro Gm256, a dwarf rootstock of apple, was carried out to study its tissue culture techniques which included inducing of stem tips, propagation, rooting, etc. Results showed that except proper medium dark condition was also need for the explant of GM256 to be induced to a plantlet. The proper medium for propagation was MS+3.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA, and the propagation rate reached 5.9%. Culture in dark condition was of no use for rooting of GM256 plantlet. The proper medium for rooting was 1/2MS+0.5 mg/L IBA.

Key words: GM256; Rootstock of apple; In vitro

GM256 是吉林省农业科学院培育的苹果矮化砧, 具有抗寒力强、早果丰产、提高果品质量等特点, 是北方寒地苹果栽培唯一的一个矮化砧。已在吉林、黑龙江、辽宁、内蒙、河北等省区广泛栽培。但由于其枝条扦插不生根, 无法进行田间繁殖, 因而只能用作矮化中间砧, 这样不但延长育苗时间 1~2 年, 而且浪费人力、物力, 增加生产成本, 因 GM256 枝条脆, 作中间砧后遇大风天气易倒伏。用组织培养方法繁殖 GM256, 就可以解决其不能用作砧的问题。而且可使苗木整齐一致, 生长健壮, 无病虫害, 缩短育苗时间 1~2 年。因此, 进行 GM256 组培快繁与种苗工厂化生产技术与开发, 对苹果生产和栽培具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

收稿日期: 2007-04-20

作者简介: 郑亚杰(1961-), 女, 副研究员, 主要从事果树、园林植物组织培养及草莓育种、栽培研究。

材料选自吉林省农业科学院果树所苹果园。春季芽萌动后取田间的枝条, 将萌发的新芽, 用自来水冲洗后进行表面消毒(75%酒精 0.5~1 min, 0.1%升汞 5 min), 然后剥取 0.5 mm 左右长的茎尖, 接种于诱导培养基上。以 MS 为基本培养基, pH 值为 5.8, 培养室温度 24℃, 湿度 60%左右。

1.2 试验方法

1.2.1 外源激素及光处理对芽的诱导

所用的外源激素种类和浓度如表 1 所示, 每个处理接种 10 瓶, 每瓶 4 个芽。30 d、60 d 各调查芽诱导情况。

将初选出的诱导培养基 A8、A9、A10、A11、A12、A13、A14、A15、A16、A17 重新接种进行光处理实验。实验分 5 个处理: (1) 外植体接种后进行光培养, 每天光照 12 h; (2) 外植体接种后暗培养 10 d, 然后进行正常的光培养; (3) 暗培养 20 d; (4) 暗培养 30 d; (5) 暗培养 40 d。每个处理接 5 瓶, 每瓶接 4 个芽。分别在接种后 40 d、60 d 时调查芽

的生长情况。

表 1 不同激素种类和浓度处理

处理号	激素的种类和浓度(mg/L)		
	BA	NAA	IBA
A1	0.25	0.25	
A2	0.25	0.05	
A3	0.25	0.10	
A4	0.25	0.20	
A5	0.50	0.01	
A6	0.50	0.05	
A7	0.50	0.10	
A8	1.50	0.01	
A9	1.50	0.05	
A10	1.50	0.10	
A11	2.00	0.01	
A12	2.00	0.05	
A13	2.00	0.10	
A14	2.00	1.00	
A15	2.00	2.00	
A16	2.00		0.01
A17	2.00		0.10
A18	2.00		1.00
A19	2.00		2.00
A20			

1.2.2 外源激素对芽增殖的处理

表 2 外源激素对芽增殖的处理 mg/L

处理号	BA	NAA
A21	1.0	0.01
A22	1.0	0.05
A23	1.0	0.10
A24	1.5	0.01
A25	1.5	0.05
A26	1.5	0.10
A27	2.0	0.01
A28	2.0	0.05
A29	2.0	0.10
A30	3.0	0.01
A31	3.0	0.05
A32	3.0	0.10
A33	4.0	0.01
A34	4.0	0.05
A35	4.0	0.10

表 3 不同激素处理 mg/L

处理号	IBA	IAA	NAA
A100	0.5		
A101	1.0		
A102	2.0		
A103	3.0		
A104		0.5	
A105		1.0	
A106		2.0	
A107		3.0	
A108			0.50
A109			1.00
A110			2.00
A111	1.0		0.50
A112	1.0		0.05
A103	0.5	1.0	
A104	1.0	0.5	
A105	1.0	1.0	

将初代培养出的芽接种到增殖培养基上, 每个处理连续继代(每次 25~30 d)2 次后, 调查生长

及增殖情况。

1.2.3 生根培养

将长至 2 cm 左右的试管苗接入生根培养基中诱导生根, 每个处理接种 20 瓶, 每瓶 6 个苗。其中 10 瓶正常培养, 10 瓶暗培养 4 d 后再进行光培养, 调查开始发根时间, 20 d 后调查根系生长情况。

2 结果与分析

2.1 外源激素及光处理对芽诱导的影响

调查结果表明, 外植体接种到诱导培养基中, 在正常的光照培养条件下均不能诱导出芽, A 1、A2、A3、A4、A5、A6、A7、A14、A15、A18、A19 培养基中外植体变褐, 枯死。A8、A9、A10、A11、A12、A13、A16、A17 培养基中的外植体虽然没有枯死, 但不萌发。

对初选出的 A8、A9、A10、A11、A12、A13、A16、A17 培养基光处理实验调查结果表明: 暗培养 10 d 的外植体没有诱导出苗, 20 d、30 d、40 d 都诱导出了黄化苗, 暗培养 20 d 和 30 d 的黄化苗经光照后很快变绿, 正常生长。而暗培养 40 d 的黄化苗玻璃化严重, 经光照后也很难正常生长。

在这些诱导培养基中, 生长最好的是 A13, 生长快、健壮, 其次是 A12、A11。A14 和 A15 由于生长素浓度过高, 芽基部及上部都产生大量愈伤组织。加入 IBA 的培养基 A16、A17, 虽然也能萌发出芽, 但生长不好。由此可见, 当 BA 浓度低于 2 mg/L, NAA 浓度高于 1mg/L 时不利于 GM256 矮化砧芽的诱导。IBA 也不适宜 GM256 矮化砧芽的诱导。适宜的浓度和种类是: BA2 mg/L + NAA0.1 mg/L。

2.2 外源激素对芽增殖的影响

在这些处理的增殖培养基中, 表现最好的是 A28 和 A31, 试管苗生长健壮, 增殖快, 可增殖 5~6 倍。A21、A24、A27、A30 和 A33 中的试管苗生长弱、有叶片黄化脱落现象, 并且玻璃化苗严重。BA 浓度为 1.0 和 1.5, NAA 浓度为 0.1 mg/L 时试管苗增殖少, 只增殖 1~2 倍, 有叶片黄化, 玻璃化苗现象。

表 4 不同培养基对试管苗生长及增殖的影响

培养基号	接种芽数(个)	增殖倍数	生长状况
(1)	150	4.0	叶片淡绿, 生长矮小, 玻璃化现象严重
(2)	150	3.4	叶片淡绿, 生长势弱
(3)	150	3.8	叶片淡绿, 苗生长细弱
(4)	150	4.8	叶片淡绿, 生长一般, 少部分苗有玻璃化现象
(5)	150	5.9	叶片浓绿, 生长健壮, 无玻璃花苗

2.3 生根培养

将长至 2 cm 左右的试管苗接入(下转第 32 页)

Spermatozoa of fam animals [J] Theriogenology 1991, 34: 1099-1110 .

[18]于健康, 阎维, 张玉廉, 等.精子介导鱼类基因转移和聚合酶链式反应检测技术[J] . 动物学报, 1994, 40(1): 96-99 .

[19]Khoo H W, Ang L H, Lim H B, et al. Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into zebrafish [J] . Aquaculture, 1992, 107: 1-19 .

[20]李国华, 崔宗斌, 朱作言, 等 . 鱼精子携带的外源基因导入[J] . 水生生物学报, 1996, 20(3): 242-247 .

[21]Rottmann O J. et.al.Proc.5th World Congress Genetics applied to livestock Production[C] . 1994.347-351 .

[22]武 坚, 刘明军, 李文蓉, 等.精子载体介导法生产转基因绵

羊的研究[J] . 草食家畜, 2001(增刊): 186-190 .

[23]Lavitrano M, et al. Efficient production bysperm-mediated gene transfer of human decay accelerating factor (hDAF) transgenic pigs for xenotransplatation [J] . Proceedings of the National Academy of Sciences USA.2002, 99(22): 14230-14235 .

[24]Chang,K, Qian.J et al. Effective generation of transgenic pigs and mice by linker based sperm-mediated gene transfer [J].BMC. Bitechndol.2002, 2(1): 5 .

[25]赵 君, 刘 彬, 任文陟, 等 . 体内精原干细胞转染法建立转基因小鼠[J] . 实验生物学报, 2003, 36(3): 197-200 .

[26]曹 阳, 高华颖, 等 . 精子干细胞转染法制备转基因兔的研究[J] . 高技术通讯, 2001(10): 17-19 .

(上接第 27 页)

接入生根培养基中诱导生根。结果表明(表 3), 浓度为 0.5 mg/L 的 IBA 对 GM256 生根效果最好, 生根快, 生根数多, 生根率可达 86.3%, 浓度超过 2 mg/L 则抑制生根, 只形成愈伤组织。IAA 对 GM256 的生根也有一定的诱导作用, 但生根率低, 只有 59.7%。NAA 不能诱导 GM256 生根。各种生长素配比后也不利于 GM256 的生根。另外, 调查数据显示, 暗培养和光培养对 GM256 生根无明显差别。

表 5 试管苗生根情况调查

处理号	开始生根时间(d)	平均生根数(个)	生根率(%)
A100	12	5.6	86.3
A101	14	4.1	79.2
A102			
A103			
A104	12	4.8	59.7
A105	12	4.2	45.6
A106	15	4.3	50.5
A107	14	3.5	42.3
A108		只形成愈伤, 没有发根	
A109		只形成愈伤, 没有发根	
A110		只形成愈伤, 没有发根	
A111		只形成愈伤, 没有发根	
A112		只形成愈伤, 没有发根	
A103		有大量愈伤, 没有发根	
A104		有愈伤	
A105		有愈伤	

注: A102、A103 茎节部和基部有大量愈伤组织; A107 基部有大量愈伤组织

3 讨 论

GM256 组培成功的关键是芽的诱导, GM256 不同于其它植物, 对激素的种类和浓度非常敏感, 正确的激素种类和浓度能使芽存活, 而诱导成苗的决定因素是暗培养, GM256 的芽只有经过暗培养处理后才能诱导成苗。

增殖培养中, 如果激素浓度配比不好, GM256 试管苗易出现玻璃化苗和黄化苗现象, 正确的激素浓度配比是 BA2~3 mg/L, NAA 0.05 mg/L。

1/2MS+IBA0.5 mg/L 是 GM256 最佳诱导生根培养基, IAA 可诱导生根, 但生根率低。NAA 不能诱导 GM256 试管苗生根。暗培养对 GM256 试管苗生根无影响。

参考文献:

[1] 吕 汰, 裴建文, 王 娟 . 苹果试管苗生根实验研究 [J] . 甘肃农业科技, 1998(6): 31 .

[2] 查仁明 . 苹果属植物组织培养快速繁殖技术 [J] . 青海农林科技, 2001(1): 58-59 .

[3] 师校欣, 等 . 苹果砧木离体培养快速繁殖的研究 [J] . 河北农业大学学报, 1991(3) .

[4] 高遐虹, 张 海, 张桂凤 . 苹果砧木试管苗发生玻璃化的因素与预防 [J] . 北京农学院学报, 1997, 12(2): 16-19 .

[5] 金 芳 . 珠美海棠适宜培养基的选择研究 [J] . 甘肃农林科技, 1996(4) .