

白禹萱,蒲东祥,李阳,等.大樱桃 Gisela 矮化砧组织培养技术研究[J].黑龙江农业科学,2020(7):87-89.

大樱桃 Gisela 矮化砧组织培养技术研究

白禹萱,蒲东祥,李阳,关丽霞

(辽宁农业职业技术学院,辽宁 熊岳 115009)

摘要:为建立大樱桃 Gisela 矮化砧组培工厂化生产技术体系,本试验以其陆地当年生新梢茎段为外植体,进行了组织培养研究。结果表明:大樱桃 Gisela 矮化砧外植体采用 0.05% HgCl₂+0.05% HgCl₂ 组合方式,消毒 2 min+5 min 效果最好;采用培养基 MS+BA 0.3 mg·L⁻¹+NAA 0.05 mg·L⁻¹+琼脂粉 7.5 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 进行增殖效果最佳,25 d 为 1 个增殖周期增殖率最高;采用培养基 1/2 MS+IBA 0.2 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+琼脂粉 7.5 g·L⁻¹+蔗糖 15 g·L⁻¹ 进行瓶内生根,移栽 30 d 后,成活率达 95% 以上。

关键词:大樱桃;矮化砧;茎段;组织培养

大樱桃 Gisela 矮化砧是由德国贾斯特斯里贝哥大学利用几种樱属植物进行种间杂交育成的对大樱桃有明显矮化作用的砧木,该砧木具有极强的抗病、抗寒能力、土壤适应能力,且萌蘖少、固地性好,用大樱桃 Gisela 矮化砧嫁接的大樱桃早熟、丰产、口感好,因此市场对其苗木需求量极大^[1]。然而在常规条件下,吉塞拉系列大樱桃矮化砧,分株繁殖速度较慢,扦插成活率低,难以满足市场需求^[2]。组织培养是苗木工厂化生产的有效途径,王侠礼等^[1-4]用休眠芽或分生茎尖等作外植体,建立了组培快繁体系,但组培过程中仍然存在初代污染率高、增殖系数低等问题。本文则以陆地当年生新梢茎段为外植体,建立了大樱桃 Gisela 矮化砧成熟的组培快繁体系,旨为大樱桃 Gisela 矮化砧工厂化育苗提供新的途径。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试大樱桃 Gisela 矮化砧新梢,选自普兰店陆地栽培大樱桃 Gisela 两年生矮化砧,当年未木质化 5 cm 以下新梢。

1.2 方 法

1.2.1 不同消毒方法对大樱桃 Gisela 矮化砧无菌材料建立的影响 将选取的外植体材料去叶片、留叶柄,置于流水下冲洗 0.5 h,之后在无菌

条件下,采用不同的消毒方法(表 1)进行消毒灭菌,最后将消毒好的材料剪切成 0.5~1.0 cm 长、含 1~2 个茎节茎段或茎尖,接种到培养基 MS+BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.05 mg·L⁻¹+琼脂粉 6.0 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 上,研究不同消毒方法对大樱桃 Gisela 矮化砧无菌材料建立的影响。每个处理接种 20 个材料,重复 3 次。

1.2.2 不同浓度 BA 对大樱桃 Gisela 矮化砧增殖培养的影响 将大樱桃 Gisela 矮化砧试管嫩稍剪切成 0.5~1.0 cm 长,带 1~2 茎节的茎段接种到以 MS+NAA 0.05 mg·L⁻¹+琼脂粉 7.5 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 为基本培养基,附加不同浓度外源激素 BA(0.1, 0.3 和 0.5 mg·L⁻¹) 的培养基上培养,研究不同浓度 BA 对大樱桃 Gisela 矮化砧增殖培养的影响。每个处理接种 30 个材料,重复 3 次。

1.2.3 增殖周期长短对大樱桃 Gisela 矮化砧组培苗增殖的影响 选取大樱桃 Gisela 矮化砧增殖一代培养不同天数(20, 25, 30 和 35 d)的试管嫩稍,先观察其生长状况,然后将其剪切成 0.5~1.0 cm 长,带 1~2 茎节茎段接种到 MS+BA 0.3 mg·L⁻¹+NAA 0.05 mg·L⁻¹+琼脂粉 6.0 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹ 培养基上培养,研究增殖周期长短大樱桃 Gisela 矮化砧组培苗增殖的影响。每个处理接种 30 个材料,重复 3 次。

1.2.4 大樱桃 Gisela 矮化砧组培苗瓶内生根及瓶外移栽驯化 将大樱桃 Gisela 矮化砧增殖苗剪切成高 2.0 cm 以上的嫩稍,接种到生根培养基 1/2MS+IBA 0.2 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+琼脂粉 7.5 g·L⁻¹+蔗糖 15 g·L⁻¹ 培养基上培养,研究瓶内生根及瓶外移栽驯化。每个处理接种 30 个材料,重复 3 次。

收稿日期:2020-04-13

基金项目:辽宁农业职业技术学院创新创业基金项目(Ln-nzyxcxy0006);辽宁农业职业技术学院重点科研基金项目。

第一作者:白禹萱(1999-),女,专业为农业生物技术。E-mail:2351542851@qq.com。

通信作者:关丽霞(1978-),女,硕士,实验师,从事农业生物技术研究。E-mail:674401702@qq.com。

琼脂粉 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 上,进行瓶内生根培养。20 d 后将生根的试管苗取出,洗去基部附着琼脂,用 1 000 倍海藻酸生根剂浸泡,然后移栽至消毒过的河沙:草碳=2:1的基质中,搭建小拱棚,注意保温、保湿。

1.2.5 培养条件 组培室内培养温度 $21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, 光照度 $2\ 000 \text{ lx}$,光照时间 $13 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。温室拱棚内湿度 85%以上,温度 $18 \sim 28 \text{ }^\circ\text{C}$,光照度 $2\ 000 \sim 3\ 500 \text{ lx}$ 。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对大樱桃矮 Gisela 化砧无菌材料建立的影响

由表 1 可知,大樱桃 Gisela 矮化砧以酒精 + HgCl_2 组合消毒外植体材料萌动率较 HgCl_2 + HgCl_2 组合消毒外植体材料萌动率低,其中采用 70%酒精 + 0.10% HgCl_2 组合消毒,消毒时间 $15 \text{ s} + 3.5 \text{ min}$ 的萌动率最低,仅为 5%,采用 0.05% HgCl_2 + 0.05% HgCl_2 组合消毒,消毒时间 $2 \text{ min} + 5 \text{ min}$ 的萌动率最高为 95%,因此,0.05% HgCl_2 + 0.05% HgCl_2 组合消毒 $2 \text{ min} + 5 \text{ min}$ 是大樱桃 Gisela 矮化砧无菌材料建立的最好消毒方式。

表 2 不同浓度 BA 对大樱桃 Gisela 矮化砧增殖培养的影响

Table 2 Effects of different concentrations of BA on the proliferation of *Cerasus pseudocerasus* Gisela dwarf rootstock

| BA 处理浓度 Concentration of BA/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | Gisela 5 | | Gisela 6 | | Gisela 7 | |
|---|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|-----------------------|
| | 增殖系数 Proliferation coefficient | 生长状况 Growth status | 增殖系数 Proliferation coefficient | 生长状况 Growth status | 增殖系数 Proliferation coefficient | 生长状况 Growth status |
| 0.1 | 3.0 | 浓绿、健壮 | 1.0 | 浓绿、健壮 | 2.0 | 浓绿、健壮 |
| 0.3 | 7.0 | 浓绿、健壮 | 4.0 | 浓绿、健壮 | 5.5 | 浓绿、健壮 |
| 0.5 | 10.0 | 弱、玻璃化 | 5.0 | 弱、玻璃化 | 7.0 | 弱、玻璃化 |

2.3 增殖周期长短对大樱桃 Gisela 矮化砧组培苗增殖的影响

由表 3 可知,增殖周期长短(即增殖培养天数)对大樱桃 Gisela 矮化砧组培苗的生长状况及增殖系数有很大影响。增殖周期为 20~25 d 的增殖苗,生长渐高,无木质化,转接后增殖系数最大为 7.0;随时间延长(25~35 d),增殖苗木质化程度逐渐增强,增殖系数降低。大樱桃 Gisela 矮化砧组培苗最佳增殖周期 25 d。

表 1 不同消毒方法对大樱桃 Gisela 矮化砧无菌材料建立的影响

Table 1 Effects of different disinfection methods on the establishment of aseptic materials for dwarf rootstock of *Cerasus pseudocerasus* Gisela

| 消毒方法 Disinfection method | 最佳时间组合 The best time combination | 萌动率 Germination rate/% |
|---|--|------------------------------|
| 70%酒精 + 0.05% HgCl_2 | 15 s + 5 min | 10 |
| 70%酒精 + 0.10% HgCl_2 | 15 s + 3.5 min | 5 |
| 0.05% HgCl_2 + 0.05% HgCl_2 | 2 min + 5 min | 95 |
| 0.05% HgCl_2 + 0.10% HgCl_2 | 2 min + 3.5 min | 80 |

注:萌动率(%) = 萌动新稍数/未污染、未死亡新稍数 $\times 100$ 。

2.2 不同浓度 BA 对大樱桃 Gisela 矮化砧增殖培养的影响

由表 2 可知,大樱桃 Gisela 矮化砧不同砧号之间的分化能力差异较大,其中 Gisela 5 能力最强,Gisela 7 较强,Gisela 6 最弱,且综合来看,3 个砧号均以基本培养基添加 BA 浓度 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基中生长状况最好,因此,培养基 MS + BA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂粉 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 是大樱桃 Gisela 矮化砧增殖的最佳培养基。

2.4 瓶内生根及驯化移栽

大樱桃 Gisela 矮化砧试管苗在生根培养基 $1/2\text{MS} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA} 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂粉 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 上进行生根培养,10 d 后苗基部形成根原基,20 d 时苗高 3.5 cm 以上,根长 1.5~2.5 cm,瓶内生根率 98% 以上。此时,将生根的试管苗取出,洗去基部附着培养基,用 1 000 倍海藻酸生根剂浸泡,然后移栽至消毒过的河沙:草碳=2:1的基质中,搭建小拱棚,棚内湿度 85%以上,温度 $18 \sim 28 \text{ }^\circ\text{C}$,光照度

2 000~3 500 lx,30 d 后有新叶萌出代表成活,移栽成活率达 95% 以上。

表 3 增殖周期长短对大樱桃 *Gisela* 矮化砧组培苗增殖的影响

Table 3 Effects of the length of proliferation cycle on the proliferation of tissue culture seedlings on *Cerasus pseudocerasus* *Gisela* dwarfing rootstock

| 增殖周期 Proliferation cycle/d | 增殖培养一代苗生长状况 Growth status of the first generation seedlings in proliferation culture | 转接后增殖系数 Proliferation coefficient after transfer |
|----------------------------------|--|--|
| 20 | 浓绿、健壮,矮,未木质化 | 6.0 |
| 25 | 浓绿、健壮,较高,未木质化 | 7.0 |
| 30 | 浓绿、健壮,较高,多数接近木质化,个别木质化 | 4.0 |
| 35 | 浓绿、健壮,较高,个别接近木质化,多数木质化 | 2.0 |

3 结论

在多次预试验中发现,利用休眠枝条或木质化枝条等作为外植体,进行大樱桃 *Gisela* 矮化砧的组织培养,存在污染率高、褐变重、操作复杂、增殖率低、增殖周期长等问题,从而选用了陆地当年生 5 cm 以内新稍作为外植体,同时采用不同组合的消毒处理方式,提高了试管无菌系建立的萌动率,最高可达 95%。

70%酒精易使幼嫩材料失水死亡,降低萌动率;过高浓度的 HgCl_2 对杂菌有极强的杀菌作用,同时对外植体材料也有极强的杀伤力,因此适合的浓度和消毒时间,对大樱桃 *Gisela* 矮化砧组培无性系的建立至关重要。本试验研究表明大樱桃 *Gisela* 矮化砧外植体材料采用 0.05% HgCl_2 + 0.05% HgCl_2 组合方式,消毒 2 min + 5 min 效果

最好;采用培养基 MS+BA 0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA 0.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + 琼脂粉 7.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + 蔗糖 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 进行增殖效果最佳,25 d 为 1 个增殖周期增殖率最高;采用培养基 1/2 MS+IBA 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + 琼脂粉 7.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + 蔗糖 15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 进行瓶内生根,移栽 30 d 后,成活率达 95% 以上。

参考文献:

- [1] 王侠礼,钟士传,郑亚琴,等.大樱桃矮化砧吉塞拉(*Gisela*)的快繁技术研究[J].山西果树,2003,96(6):9-10.
- [2] 张玉君,彭兴龙,张哲民.大樱桃砧木吉塞拉组培快繁技术研究[J].安徽农业科学,2009,37(10):434-435.
- [3] 李江,范志强,孙仲序.大樱桃优质矮化砧木吉塞拉批量组培快繁系统优化的研究[J].烟台大学学报(自然科学与工程版),2007,2(1):26-30.
- [4] 许杰.大樱桃砧木吉塞拉 5 号组培快繁技术研究[J].农业科技通讯,2011(3):38-39.

Study on Tissue Culture of Dwarfing Rootstock of *Cerasus pseudocerasus* *Gisela*

BAI Yu-xuan, PU Dong-xiang, LI Yang, GUAN Li-xia

(Liaoning Agricultural Vocation-technical College, Xiongyue 115009, China)

Abstract: In order to establish the industrialized production technology system of tissue culture of *Gisela* dwarfing rootstock, tissue culture was carried out in this experiment with the stem segments of the same year old new shoots as explants. The results showed that the combination of 0.05% HgCl_2 + 0.05% HgCl_2 had the best disinfection effect of 2 min + 5 min. The best proliferation effect was obtained by using MS+BA 0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA 0.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + agar powder 7.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + sucrose 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, and the proliferation rate was the highest in 25 days. The culture medium 1/2 MS+IBA 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + agar powder 7.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + sucrose 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ was used after 30 days of transplanting, the survival rate was more than 95%.

Keywords: *Cerasus pseudocerasus*; dwarf stock; stem segment; tissue culture