



李小雪,陈龙杰,李月瑶,等. 榲李茎段腋芽诱导培养研究[J]. 黑龙江农业科学, 2021(1):96-98.

榲李茎段腋芽诱导培养研究

李小雪,陈龙杰,李月瑶,石玉波
(嘉兴职业技术学院,浙江 嘉兴 314036)

摘要:为提高榲李茎段腋芽诱导培养效率,本文以榲李茎段为外植体,通过植物组织培养方法,研究外植体最佳消毒方法和腋芽诱导最适宜的培养基,为榲李的无性繁殖提供理论依据。结果表明:最适宜榲李茎段外植体消毒的方法为 75%乙醇消毒 30 s,2%次氯酸钠消毒 20 min。茎段腋芽诱导最佳的培养基为 WPM+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹。

关键词:榲李;组织培养;初代培养

榲李是蔷薇科(Rosaceae)李属(*Prunus* L.)栽培中国李(*Prunus salicina* L.)的一个品种群,产于嘉兴市。榲李树形优美,花似雪海,远望晶莹如雪,是典型的千年名果,在中国“十大名李”中居首位,是水果精品中的精品,也是浙江省唯一列入濒危抢救保护的果树品种^[1]。榲李主要为嫁接繁殖,成活率低,但利用组培快繁技术,其外植体易褐化,杂菌污染现象严重。本试验以榲李半木质化茎段为外植体,研究榲李茎段消毒的有效方法以及腋芽诱导的最佳培养基,可为以后组培快繁提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选取校园内 5 年生以上树龄的榲李;所用药品试剂均为化学分析纯。

1.2 方法

1.2.1 材料采集 在春季 3 月到 4 月下旬,选取无病虫害、生长健壮的植株,于晴天上午 9:00—10:00 采集当年生榲李半木质化茎段。

1.2.2 外植体灭菌处理 选取生长健壮的榲李茎段,切去叶片,先用洗衣粉浸泡 15 min,期间不断搅拌,然后用自来水冲洗 2~5 h 后,将材料移

入灭菌的三角瓶中,75%乙醇震荡 30 s,无菌水冲洗 2 次,然后用 2%次氯酸钠溶液分别浸泡 10, 15, 20, 25 和 30 min,无菌水冲洗 4 次。超净工作台进行无菌操作,接种 7 d 后统计污染率,根据污染情况确认最适合的灭菌方式。每组 5 瓶,每瓶接种 3 株,3 次重复。

1.2.3 腋芽诱导培养基筛选 将榲李幼嫩的茎段剪成 1.5 cm 左右,上端平切口,下端斜切口,垂直插入培养基中,基本培养基配方筛选如表 1,培养基中添加蔗糖 30 g·L⁻¹,琼脂 7 g·L⁻¹。30 d 后统计诱导率。每组 5 瓶,每瓶接种 3 株,3 次重复。以 MS、1/2MS、WPM 为起始诱导基本培养基,比较不同基本培养基的芽诱导情况。

1.2.4 植物生长调节剂的筛选 将榲李幼嫩的茎段剪成 1.5 cm 左右,上端平切口,下端斜切口,垂直插入培养基中,以 WPM 为基本培养基,添加不同浓度的 6-BA 和 NAA,接种 30 d 后统计诱导率和出愈率。每组 5 瓶,每瓶接种 3 株,3 次重复。各种培养基配方详见表 1。

表 1 培养基与植物生长调节剂筛选 (mg·L⁻¹)

序号	基础培养基筛选	植物生长调节剂筛选
1	MS+6-BA 1.0+NAA 0.5	WPM+6-BA 0.5+NAA 0.2
2	1/2MS+6-BA 1.0+NAA 0.5	WPM+6-BA 1.0+NAA 0.2
3	WPM+6-BA 1.0+NAA 0.5	WPM+6-BA 1.5+NAA 0.2
4		WPM+6-BA 2.0+NAA 0.2
5		WPM+6-BA 0.5+NAA 0.5
6		WPM+6-BA 1.0+NAA 0.5
7		WPM+6-BA 1.5+NAA 0.5
8		WPM+6-BA 2.0+NAA 0.5

1.2.5 数据分析 所有试验数据采用 Excel 2013 进行分析。

收稿日期:2020-09-28

基金项目:2019 年浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划项目(2019R467010);嘉兴市科技局项目:榲李离体再生体系的建立与工厂化生产技术研究(SQGY202100117);嘉兴职业技术学院教改项目(JG201801);嘉兴职业技术学院校级重点项目(jzyz202008);嘉兴职业技术学院一般教改项目(JG202016)。

第一作者:李小雪(1999—),女,在读学士,专业为园林技术。E-mail:1848472604@qq.com。

通信作者:石玉波(1982—),女,博士,副教授,从事植物种质资源开发与应用研究。E-mail:shiyubo2000@163.com。

污染率(%)=(污染数量/接种外植体总数)×100

腋芽诱导率(%)=(诱导 30 d 后的萌发数/接种外植体总数)×100

出愈率(%)=(30 d 诱导出的愈伤组织数量/外植体总数)×100

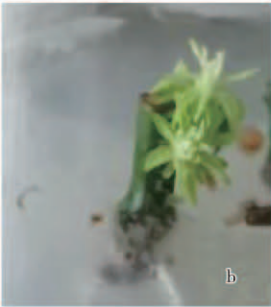
2 结果与分析

2.1 不同方法的消毒效果比较

采用 75%乙醇 30 s, 2%次氯酸钠不同时间灭菌效果如表 2 所示。2%次氯酸钠溶液对材料进行灭菌, 效果较好的消毒方法为 75%乙醇 30 s+2%次氯酸钠 20 min, 污染率最低为 15%(表 2)。次氯酸钠 10 min 处理组污染率最高, 达到 82%。因此, 后续试验以 75%乙醇 30 s+2%次氯酸钠 20 min 为最佳的灭菌方法。

表 2 灭菌效果比较

组别	2%次氯酸钠/min	污染率/%
1	10	82
2	15	65
3	20	15
4	25	38
5	30	46



a~c 基础培养基分别为 WPM、1/2MS 和 MS

图 1 不同基础培养基条件下檵李茎段腋芽诱导生长情况

2.3 不同生长调节剂对檵李茎段芽诱导的影响

将灭菌的带有一个腋芽的檵李幼嫩茎段接种到以 WPM 为基本培养基并添加 6-BA 和 NAA 不同浓度的生长调节剂的培养基上, 结果表明(表 3), 在诱导分化过程中以 WPM+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹诱导效果最好, 出芽率为 87%, 当 NAA 浓度为 0.2 mg·L⁻¹时, 随着 6-BA 浓度的增高, 出芽率逐渐升高, 最高为

2.2 不同基本培养基对檵李茎段芽诱导的影响

由表 3 可知, WPM 为基本培养基时, 出芽率最高, 为 54.0%, 腋芽生长健康, 无黄化、枯萎、玻璃化等不正常的现象(图 1a)。以 1/2MS 为基本培养基时, 出芽率为 39.3%, 芽苗生长缓慢, 叶片皱缩发黄后枯萎(图 1b)。MS 为基本培养基时, 出芽率最低, 为 27.5%, 芽苗基本健康、生长缓慢(图 1c)。因此, 采用 WPM 为最适基本培养基进行后续试验。

表 3 不同植物生长调节剂对檵李腋芽诱导的影响

组别	6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	出芽率/%	出愈率/%
1	0.5	0.2	5.3	40
2	1.0	0.2	12.8	20
3	1.5	0.2	26.5	65
4	2.0	0.2	56.0	30
5	0.5	0.5	10.6	40
6	1.0	0.5	56.0	53
7	1.5	0.5	87.0	80
8	2.0	0.5	68.5	60

56%。生长素 NAA 浓度偏低时, 出愈率也偏低; 当 NAA 浓度为 0.5 mg·L⁻¹时, 出芽率和出愈率逐渐升高。

3 结论与讨论

外植体带菌引起的污染与外植体的种类、取材季节、部位、预处理方法及消毒方法等密切相关。通常, 多年生材料上细菌较幼嫩材料多; 田间材料上细菌较温室内材料多; 温室材料上细菌较

水培材料多;带泥土的材料上细菌较不带泥土的材料多;未经过阳光照射过的材料上细菌数较经过阳光照射过的材料多^[2]。因此,橐李的外植体取材以春季生长旺季、当年生的嫩稍为佳,尽量晴天中午进行取材。外植体的彻底消毒是控制污染的前提,本文中外植体表面灭菌采用的消毒剂是75%乙醇30 s和2%次氯酸钠20 min,此类方法,消毒只停留在表面,且不够彻底,后续试验中可探索筛选多种药剂交替浸泡法,来降低污染率,提高消毒效果。在试验操作方面,每个人的操作手法各不相同,从而对于同种外植体,在相同条件下,不同的操作习惯所产生的污染也不相同。

不同基本培养基对橐李腋芽诱导存在显著差异,同样的植物生长调节剂条件下,MS为基本培养基时可以成功诱导外植体萌芽,但诱导率只有27.5%,低于1/2MS和WPM培养基。当培养基为WPM+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹时,茎段出愈率最高为80%,说明WPM培养基对橐李腋芽的诱导效果有明显的促进作用,更加有利于橐李茎段腋芽的诱导,可能是WPM中含有适量的K₂SO₄对橐李茎段腋芽的生长有利。基本培养基中的营养元素不仅可以提供外植体生长所必需的营养,还可以促进腋芽的发生和愈伤组织形成。

植物生长调节剂可以影响植物的营养分配、

细胞分裂和伸长生长,但浓度并非越高越好,仅在一定的范围内对植物才具有促进作用^[3]。本试验中添加的生长调节剂主要有生长素(NAA)、细胞分裂素(6-BA)。生长素参与植物茎的发育、器官衰老等方面的植物生长分化过程,生长素浓度较低时,植株长势弱;浓度过高时,芽苗畸形。橐李茎段腋芽诱导率最高的生长素浓度为0.5 mg·L⁻¹。细胞分裂素可以促进细胞分裂扩大、诱导芽分化和侧芽生长^[4]。橐李茎段腋芽诱导最适宜的分裂素6-BA浓度为1.5 mg·L⁻¹,低浓度的细胞分裂素会导致芽或愈伤组织生长缓慢,浓度过高的细胞分裂素在增殖过程中会导致芽增殖过密,芽苗细弱、节间短,个别出现新芽失色转至枯黄现象,可能是因为浓度过高导致顶端分生组织停止分化或细胞坏死所致^[5]。本试验中细胞分裂素浓度为1.5 mg·L⁻¹,生长素浓度为0.5 mg·L⁻¹作用效果最明显。

参考文献:

- [1] 林琴,橐李的良种筛选及其结实稳定性研究[J]. 现代农业科技,2014(4):102-103.
- [2] 石玉波,刘和平. 植物组织培养[M]. 杭州:浙江大学出版社,2018.
- [3] 周亮. NAA和IBA生根剂对柳叶马鞭草插条生根的影响[J]. 西北林学院学报,2015,30(5):161-164.
- [4] 高燕,张婷,奉树成. 木本植物的无性繁殖方法[J]. 现代农业科技,2018(4):129-132.
- [5] Mandegaran Z, Sieber V K. Somatic embryogenesis in *Clematis integrifolia* × *C. viticella* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,2000,62(2):163-165.

Induction and Culture of Axillary Buds from Stem Segments of Zuili(*Prunus salicina* Lindl.)

LI Xiao-xue, CHEN Long-jie, LI Yue-yao, SHI Yu-bo

(Jiaxing Vocational and Technical College, Jiaxing 314036, China)

Abstract: In order to improve the induction and culture efficiency of axillary buds in stem segments of Zuili, in this paper, the stems of Zuili were used as explants, through tissue culture methods, researching the best disinfection method for explants and the most suitable medium for axillary bud induction were studied to provide scientific basis for the asexual reproduction of Zuili. The results showed that, the best disinfection method for explants of Zuili stem was 75% ethanol 30 s+2% sodium hypochlorite for 20 min. WPM+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹ was the best inducing culture for axillary bud of stem segment.

Keywords: Zuili(*Prunus salicina* Lindl.); tissue culture; primary culture