

柰柰枣茎段组培繁殖研究

霍书新¹ 张小红¹ 杜国强²

(1. 河北北方学院园艺系, 河北, 张家口 075131; 2. 河北农业大学园艺学院, 河北, 保定 071001)

摘要:以 MS 为基本培养基, 幼嫩茎段为外植体, 进行柰柰枣组培繁殖研究, 筛选出适宜的培养基, 结果表明, 增殖培养以 MS + BA 5.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L 为好, 增殖系数为 6.7340; 生根培养以 1/2MS + IBA 1.0 mg/L 较好, 平均根长为 2.61cm, 平均生根条数为 5.12 条。

关键词:柰柰枣; 组培; 繁殖; 茎段

PROPAGATION OF GAGAZAO (*Zizyphus jujuba*) WITH STALK SEGMENT BY TISSUE CULTURE

HUO Shu-xin¹ ZHANG Xiao-hong¹ DU Guo-qiang²

(1. Department of Horticulture, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075131;

2. College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071001)

Abstract: To select an optimum culture medium, the Gagazao stalk segments were cultured in MS media. Results showed that the proliferating index was 6.734 at a medium of MS + BA 5.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L, which was a better culture medium formula for proliferating culture. And for rooting culture, the culture medium formula of 1/2MS + IBA 1.0 mg/L was the best, which with an average root length of 2.61cm and an average root number of 5.12.

Key words: Gagazao (*Zizyphus jujuba*); tissue culture; propagation; stalk segment

柰柰枣 (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Gagazao) 是张家口地区优良的鲜食枣品种, 其外形细长, 赭红光亮, 皮薄肉腻, 浓甜无渣, 深受消费者喜爱。该品种目前在国内栽培规模小, 极具市场发展潜力。但目前柰柰枣育苗仍沿用传统的分蘖繁殖法, 繁殖率低, 育苗速度慢, 且浪费材料, 使柰柰枣的推广受到极大的限制。另外, 传统的无性繁殖措施无法去除幼苗体内的病毒, 使一些病毒病 (如枣疯病) 代代相传, 危害日益严重, 这些都是柰柰枣种植中亟需解决的问题。

现代生物技术的发展为枣树良种的快速繁殖提供了一条出路, 利用组织培养技术可以在短期内迅速建立无性繁殖体系, 不受季节的限制、周年育苗, 规模大、推广快, 同时该技术可以有效地脱除存在于植株内的病原体及其他病毒, 从而使品种复壮^[1-4]。枣树组培繁殖可以茎尖、茎段、叶片、花药、胚等为外植体^[1,5-12], 而茎段为枣树组培繁殖的重要手段, 迄今已在多个枣品种上获得成功^[1,5,7], 柰柰枣幼嫩茎段组培

繁殖研究, 对柰柰枣种植发展有深远的意义。

1 材料与方法

供试材料为 4 年生柰柰枣, 采自河北省宣化县河子西乡柰柰枣根孽苗。6 月以柰柰枣幼嫩枣头为外植体, 流水冲洗 2h, 在超净工作台上用 75% 乙醇浸 30s, 后放入 0.1% 升汞 (HgCl₂) 溶液中, 加入 2 滴吐温 80, 浸 10min, 倾去升汞液, 用无菌水冲洗 5~6 次, 切成 1.5cm 长的单芽茎段接种到启动培养基上。培养室光强为 2000lx, 光照 12h/d, 温度 25℃~28℃。

启动培养: 以 MS 为基本培养基, 添加浓度不同的植物生长调节剂, 以 BA (6-苄基氨基嘌呤) 和 NAA (奈乙酸) 的不同浓度设 6 个处理, 将灭菌后的柰柰枣幼嫩茎段接种到培养基上, 促使萌发生长, 每处理调查 30 个茎段。

增殖培养: 以 MS 为基本培养基, 添加浓度不同的

植物生长调节剂进行增殖培养,每瓶接种杂枣的茎段培养产生的芽3个,以BA浓度为试验因素,共设5个处理(分别为0、0.5、1.0、2.0和5.0mg/L),添加IBA(吲哚丁酸)0.2mg/L,琼脂4.0g/L,每处理5瓶,每处理调查15个芽,调查芽的平均长度、增殖系数,并对调查结果进行方差分析(增殖系数经反正弦转换)。

生根培养:用1/2MS培养基,每瓶接种杂枣的增殖培养产生的芽5个,以1/2MS为基本培养基,加白砂糖20g/L,琼脂4.0g/L,以不同浓度的IAA和IBA设5个处理(分别为IAA 1.0和1.5mg/L;IBA 1.0和1.5mg/L;IAA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L),每处理3瓶,每处理调查15个芽,调查平均根长、平均生根条数,并对调查结果进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 生长调节剂浓度对启动培养的影响

以MS为基本培养基,以BA和NAA的不同浓度设6个处理,将灭菌后的杂枣幼嫩茎段接种到培养基上,促使萌发生长,结果(见表1)表明,NAA浓度达1.0 mg/L时(处理C和F),茎段上不发枣吊和枣头;其余处理茎段发枣吊,其中处理E发出的枣吊数最多,达3.2个/茎段,且生长良好;茎段发枣头数较少,带顶芽的茎段可萌发枣头。这表明启动培养以生长季带顶芽的茎段为外植体,以添加BA2.0mg/L + NAA0.5mg/L的培养基为好。

表1 BA和NAA浓度对茎段启动培养影响

Table 1 Effects of concentration of BA and NAA on initial culture of stalk segment

处理	激素种类和浓度 (mg/L)	接种茎段数 (个)	发枣吊数 (个)	发枣头数 (个)
A	BA1.0 + NAA0.2	30	51	2
B	BA1.0 + NAA0.5	30	48	1
C	BA1.0 + NAA1.0	30	0	0
D	BA2.0 + NAA0.2	30	87	1
E	BA2.0 + NAA0.5	30	96	3
F	BA2.0 + NAA1.0	30	0	0

2.2 BA浓度对增殖培养的影响

生长调节剂浓度对增殖培养有影响,影响丛生芽的发生数量和丛生芽的伸长。将茎段启动培养获得的丛生芽进行增殖培养,结果见表2。

从表2可知,芽生长以MS + IBA0.2 mg/L和MS + BA0.5 mg/L + IBA0.2 mg/L较好,平均芽伸长分别为1.7134和1.3533cm;从增殖系数来看,以MS + BA5.0

mg/L + IBA0.2 mg/L为好,增殖系数为6.7340,显著高于其他处理。

表2 BA浓度对增殖培养的影响

Table 2 Effects of concentration of BA on proliferation culture

激素种类和浓度(mg/L)	芽平均伸长(cm)	增殖系数
BA0.0 + IBA0.2	1.7134 ± 0.3365 a	1.9320 c
BA0.5 + IBA0.2	1.3533 ± 0.2755 ab	2.5340 c
BA1.0 + IBA0.2	0.8668 ± 0.3224 cd	1.9320 c
BA2.0 + IBA0.2	1.1734 ± 0.3030 bc	4.8660 b
BA5.0 + IBA0.2	0.5534 ± 0.1070 d	6.7340 a

注:邓肯氏新复极差测验,表中同列数值后标记不同字母表示差异达0.05显著水平。

2.3 生根培养

生长素的种类和浓度是杂枣组培苗生根的关键因素。由表3可见,1/2MS添加1.0 mg/L和1.5mg/L IAA有利于组培苗根系加长生长,而1/2MS添加1.0 mg/L和1.5mg/L IBA有利于组培苗根条数增加,综合考虑根长、根条数,杂枣组培苗生根以1/2MS + IBA1.0 mg/L较好。

表3 生长调节剂种类和浓度对生根培养的影响

Table 3 Effects of kinds and concentration of hormone on rooting culture

激素种类和浓度(mg/L)	平均根长(cm)	平均生根条数(条)
IAA 1.0	3.75 ± 0.5619 a	2.44 ± 0.6693 b
IAA 1.5	3.64 ± 1.4541 ab	1.72 ± 1.0450 b
IBA 1.0	2.61 ± 0.2684 bc	5.12 ± 1.2377 a
IBA 1.5	1.88 ± 0.3414 c	5.28 ± 1.8089 a
IAA0.5 + IBA0.5	2.84 ± 0.6010 abc	3.32 ± 1.0918 b

注:邓肯氏新复极差测验,表中同列数值后标记不同字母表示差异达0.05显著水平。

3 讨论

枣树以茎尖、茎段为外植体组培开展最早,迄今已在金丝小枣、灰枣、赞皇大枣、冬枣、骏枣等十几个品种上获得成功^[1,6,7]。本研究结果表明,以生长季杂枣枣头茎段为外植体进行启动培养,接种在MS + BA 2.0mg/L + NAA 0.5mg/L培养基上,萌发枣吊较多,带顶芽的茎段可萌发枣头,生长良好,能培养出苗。这与伍成厚在鸡蛋枣上的试验结果相同^[10]。这是由于枣吊是枣树的结果枝,不能形成发育枝培养成苗。枣树的枣头即一般果树所谓的发育枝,才是形成树体骨架和结果单位枝的主要枝条,也是组培繁殖培养成苗的主要枝条。

BA 是一种细胞分裂素,其作用是:(1)诱导芽的分化;(2)促进细胞分裂和扩大;(3)抑制根的分化。组织内细胞分裂素与生长素的比例决定着发育的方向,细胞分裂素/生长素比值高时,有利于诱导愈伤组织和芽的分化;细胞分裂素/生长素比值低,或除去细胞分裂素时,有利于芽的生长。在组培中不同基因型甚至同一基因型的不同生态型的培养效果间存在差别,这种差别主要由基因型间内源激素水平的差异所致,其次是基因型间营养水平的差别。除了遗传的主导因素外,还有部分生态条件(包括微生态条件)因素的影响^[11,13]。本试验证实,BA 浓度对增殖培养有影响,影响丛生芽的发生数量和丛生芽的伸长。MS + IBA 0.2 mg/L 和 MS + BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L 培养基利于芽生长;MS + BA 5.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L 培养基上的增殖系数显著高于其他处理。

生长素的种类和浓度影响组培苗根系的诱导和生长。IBA 对不定根的诱导明显优于 NAA 和 IAA^[5,9,12], IBA 诱导生根,枝条基部愈伤组织产生少,根较粗壮,数量多,也有一定长度;IAA 诱导生根,根细长,数量明显比 IBA 诱导的少^[10]。综合考虑本试验结果,杂枣组培苗生根以 1/2MS + IBA 1.0 mg/L 较好。

参考文献:

[1] 王玖瑞,刘孟军,代 丽,等. 枣树组织培养研究进展. 果树学报

- 2002, 19(5): 336 ~ 339
- [2] Fujiwara, a plant Tissue culture. Abe photo printing CO, Lid., ToKyo Japan. 1982
- [3] Rathore T, Sassing R P, et al. Clonal propagation of Zizyphus species through tissue culture. *Sciential Horticulture*, 1992, (51): 165 ~ 168
- [4] Goral Y, A rya H C. Tissue culture of desert trees colnal multiplication of Zizyphus *in vitro*. *Plant Physiol*, 1985, 119(5): 399 ~ 404
- [5] 王玖瑞,刘孟军,代 丽. 枣组培中的品种差异及辣椒枣的组培快繁. *河北农业大学学报*, 2003, 26(4): 59 ~ 61
- [6] 王慧瑜,张晓申,李 云,等. 灰枣的组织培养. *植物生理学通讯*, 2002, 38(6): 595
- [7] 罗晓芳,田砚亭,李 云,等. 金丝小枣组织培养快速繁殖的研究. *北京林业大学学报*, 1996, 18(2): 9 ~ 15
- [8] 李 云,王 宇,田砚亭,等. 赞皇大枣叶片再生植株的初步研究. *核农学报*, 2003, 17(3): 187 ~ 190
- [9] 陈宗礼,延志莲,薛 皓,等. 沾化冬枣叶片培养和植株再生. *植物生理学通讯*, 2002, 38(6): 584
- [10] 伍成厚,何业华,谢碧霞,等. 鸡蛋枣的组织培养与快速繁殖技术. *吉首大学学报*, 2004, 25(1): 26 ~ 28
- [11] 陈宗礼,薛 皓,延志莲,等. 红枣脱毒试管苗无性系建立的研究. *西北农业学报*, 2001, 10(1): 17 ~ 21
- [12] 延志莲,陈宗礼,薛 皓,等. 木枣的组织培养和快速繁殖. *植物生理学通讯*, 2002, 38(6): 585
- [13] Piero F, Filliberto L. Propagation of Fruit Trees by Tissue Culture in Italy. *Hot science*, 1987, 22(3): 53 ~ 57