

文章编号:1008-4584(2007)02-0051-03

甜柿品种“富有”组织培养技术研究

刘 恺¹, 贾春风²

(1. 保定学院 化学系, 河北 保定 071000; 2. 保定学院 综合理科系, 河北 保定 071000)

摘 要:较系统地对甜柿(*Diospyros kaki* Thunb.)品种“富有”柿组培苗的继代增殖、叶片不定芽再生和生根的培养条件进行研究。试验结果表明:“富有”柿的最佳长期继代培养基为 MS + ZT 2.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L; 高效不定芽再生体系在培养基 MS(1/2N) + TDZ 0.4 mg/L + ZT 1.0 mg/L 培养 30 d 之后, 转入培养基 MS(1/2 N) + IAA 0.1 mg/L + ZT 2.0 mg/L 中, 其分化率达到 90.3 % 以上, 外植体平均芽数为 4.6; 生根选取在培养基 1/2 MS + IBA 1.0 mg/L 培养基中暗培养 8 d, 生根率为 93.1 %。

关键词:甜柿; “富有”; 组培快繁; 不定芽再生

中图分类号:S604+.3

文献标识码:A

“富有”柿属于完全甜柿, 晚熟品种, 进入结果期早, 采收期长, 产量较稳定, 丰产且能在树上完全脱涩。一般自然放置 18 d 左右变软, 商品价值高。该品种适应性广, 比较耐瘠薄土地和干旱, 适宜在气候温暖、雨量较少的地方栽培种植^[1]。近年来, 甜柿的组织培养技术取得一定进展^[2-3], 本文对“富有”柿的组培快繁及再生技术进行较系统的研究, 以期生产中柿苗木的快繁提供技术依据, 同时也为柿转基因试验做准备。

1 材料和方法

1.1 材料

甜柿品种“富有”柿的休眠芽取自石家庄市井陉矿区天户峪村, 树龄约 8 年生。

1.2 试验方法

1.2.1 继代增殖培养

“富有”柿休眠芽接种于 MS(1/2N) 培养基中, 添加 ZT 1.0 mg/L, IAA 0.1 mg/L, 继代培养 15 代后, 把组培苗转接入含有 0.5、1.0、2.0 mg/L ZT 附加 IAA 0.1 mg/L 的 MS(1/2N)、MS 培养基中。30 d 后观察结果, 记录有效新梢率与增殖系数。

1.2.2 叶片再生体系的建立

切割“富有”柿组培苗顶端第 2~3 片展开叶, 平铺在含有 1.0 mg/L ZT 的 MS(1/2N) 培养基上, 分别添加 0.1、0.2、0.3 mg/L 的 IAA、NAA、IBA、2,4-D 和 0.2、0.4 mg/L 的 TDZ, 观察叶片分化的愈伤组织情况。30 d 后将诱导出的愈伤组织切下来, 放到 MS(1/2N) + ZT 2.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L 培养基中, 诱导出不定芽。

1.2.3 生根

将在 MS + ZT 1.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L 培养基中生长的“富有”柿组培苗接入 1/2MS + IBA 1.0 mg/L 培养基中, 培养前期进行 6~10 d 暗培养, 观察生根情况。

2 结果与分析

2.1 基本培养基及 ZT 对“富有”柿生长的影响

“富有”柿的休眠芽在 MS(1/2N) + ZT 1.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L 中生长 15 代以后组培苗的生长减缓,

苗高降低,愈伤组织褐变较为严重.通过调节 ZT 的浓度并不能从根本上改变组培苗的状态.组培苗在 MS (1/2N)中外植体表现为:生长速度较慢,芽苗矮小,节间距小,叶片发黄,增殖系数并不会随着 ZT 浓度的增高而升高.把“富有”柿的组培苗转入 MS 培养基后,组培苗的叶片深绿,植株较高,腋芽发育较快,说明 MS 培养基适合甜柿的长期继代生长.试验结果见表 1.

2.2 叶片愈伤组织不定芽分化

愈伤组织诱导结果显示,在含有 ZT 1.0 mg/L 的 MS (1/2N)培养基中,不同种类及浓度的激素诱导的“富有”柿组培苗叶片愈伤组织情况差别很大,见表 2. 2, 4-D 诱导愈伤组织能力最强,其次为 TDZ、NAA;从诱导的愈伤组织状态比较,0.2、0.4 mg/L TDZ 和 0.1、0.2 mg/L NAA 诱导出大量绿色、颗粒状、质地较疏松的愈伤组织;而较低浓度的 2, 4-D 诱导出大量乳白色、质地紧密的愈伤组织,很难分化出不定芽.将不同种类激素诱导的组培苗叶片愈伤组织切割后,接在培养基 MS(1/2N) + ZT 2.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L 中.“富有”柿组培苗叶片由 2, 4-D 诱导的愈伤组织不能分化不定芽,连续培养 3 代仍然不具有分化能力.“富有”柿组培苗叶片经 NAA 和 IAA 诱导的愈伤组织分化率能达到 80 % 以上.而经 TDZ 诱导的愈伤组织在含有 ZT 2.0 mg/L 的培养基中分化率都达到了 80 % 以上,平均不定芽数达到 4.6.

2.4 不同暗培养时间对“富有”柿组培苗生根的影响

试验结果表明,暗培养时间的延长,可以缩短“富有”柿生根时间,促进生根率的提高.不进行暗培养的组培苗生根培养 20 d 时,生根率仅为 3.1 %,远低于同期经过暗培养的组培苗.暗培养时间越长,组培苗生根时间越提前,但是暗培养 8 d 与暗培养 10 d 最终的生根率基本相同,暗培养 8 d 的生根率略高于暗培养 10 d 的组培苗生根率,达到 93.1 %.由于较长时间的暗培养会引起组培苗的死亡,所以,暗培养时间采用 8 d 为宜.见图 1.

3 讨论

MS 培养基是木本植物离体快繁中应用最广泛的一种基础培养基^[4].在“富有”柿组培苗的早期培养阶段,氮素浓度过高不利于芽的启动增殖培养^[5].但是多代培养后随着苗生长繁殖速度加快,组培苗对氮素营养需求增加,MS(1/2N)培养基不能满足幼苗的生长,就要采用 MS 作为基本培养基.在柿的组培快繁过程中,细胞分裂素 ZT 是高效的且大多数柿品种必需的激素,“富有”柿的组培苗则只能在含有 ZT 的培养基中生长.

培养基中附加细胞生长素可以提高组培苗叶片的愈伤组织诱导率,当培养基中附加 NAA 后,愈伤组织诱导率可以达到 100 %.但是细胞生长素对愈伤组织分化都有抑制作用,由 2, 4-D 诱导的愈伤组织不能分化出不定芽;NAA 会部分降低愈伤组织分化率.在根段分化试验中 IAA 也会略微降低根段分化率.TDZ 对“富有”柿组培苗叶片诱导愈伤组织效果十分明显,愈伤组织诱导率可以达到 90 % 以上,且分化不定芽效果显著.但是,TDZ 诱导不定芽生长成完整植株也存在一些问题,例如不利于芽延长^[6-7].本试验采用了只在含有 TDZ 的分化培养基中培养 1 代,之后将带有不定芽的愈伤组织切割后接入只含有 ZT 的继代 MS 培养基中培养;这种方法不仅能够增加不定芽的分化数,同时也能使不定芽长高.

表 1 不同 ZT 浓度和培养基对“富有”柿组培苗生长的影响

激素 /mg/L	苗高 /cm	增殖系数	平均每株苗的有效新梢 /%
MS(1/2N) + ZT 0.5 + IAA 0.1	1.54	3.1	5.3
MS(1/2N) + ZT 1.0 + IAA 0.1	1.29	3.3	6.2
MS(1/2N) + ZT 2.0 + IAA 0.1	1.28	4.1	10.1
MS + ZT 0.5 + IAA 0.1	1.61	4.2	13.2
MS + ZT 1.0 + IAA 0.1	1.71	5.5	17.5
MS + ZT 2.0 + IAA 0.1	1.80	5.8	30.0

表 2 生长素种类及浓度对诱导叶片愈伤组织的影响

激素	浓度 /mg/L	愈伤组织诱导率 /%	分化率 /%	平均不定芽数
NAA	0.1	100.0	83.3	1.5
	0.2	100.0	40.2	1.1
2, 4-D	0.1	100.0	0.0	0.0
	0.2	100.0	0.0	0.0
TDZ	0.2	93.3	83.3	3.2
	0.4	96.8	90.3	4.6

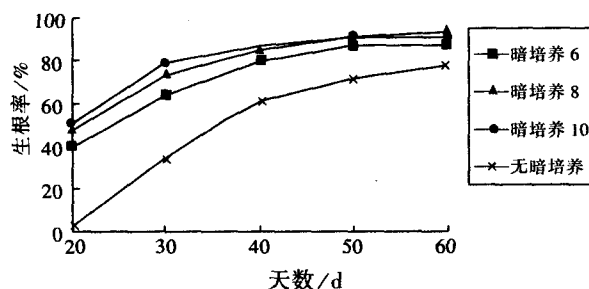


图 1 暗培养对“富有”柿生根的影响

实值偏小约 5% ~ 10%。而采用正确的方法得到的实验结果误差在 2.8% ~ 3.4%，数据的可靠性大大提高。

以上是对在用力敏传感器测量液体表面张力系数实验过程中出现的 2 个特殊现象以及容易出现的读数误差的分析。只有对原实验过程和结果进一步修正,才能得到更精确的结果。

参考文献:

- [1] 夏思淝, 刘东红, 孙建刚, 等. 用力敏传感器测液体表面张力系数的误差分析[J]. 物理实验, 2003, 23(27): 39 - 43.
- [2] 陈骏逸, 范伟民. 用硅压阻力敏传感器测量液体表面张力系数[J]. 实验室研究与探索, 2002, 21(6): 42 - 53.
- [3] 胡玉才, 李玉侠. 大学物理学基本原理及生物效应[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.

The Analysis of the Measuring Surface Tension Coefficient of Liquid by Force Sensor

LIU Li-fang¹, HOU Shuang-yin¹, HOU Zhi-qing¹, LIU Dong-zhou¹, WU Bao-zhong²

(上接第 52 页)

在生根培养初期进行数天的暗培养可以显著提高“富有”柿组培苗的生根率, 缩短生根时间。然而, 暗培养时间过长, 部分组培苗会枯萎死去。本试验表明生根培养初期暗培养 8 d, 可以得到较为理想的生根效果。

参考文献:

- [1] 范启荣. 日本甜柿优良品种简介[J]. 中国南方果树, 2001, 30(1): 39.
- [2] 孔祥生, 张妙霞, 张益民, 等. 柿离体繁殖技术[J]. 果树科学, 1998, 15(3): 232 - 238.
- [3] 刘晓娜, 马俊莲, 张子德, 等. 上西早生甜柿离体快繁技术研究[J]. 河北农业大学学报, 2004(1): 61 - 63.
- [4] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1998.
- [5] TAO R, SUGIURA A. Micropropagation of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* L.) [J]. Biotechnology in Agriculture and Forestry, 1992(18): 424 - 440.
- [6] BAKER B S, BHATIA S K. Factors effecting adventitious shoot regeneration from leaf explant of qince (*Cydonia oblonga*) [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 1993(35): 273 - 277.
- [7] HUETTEMAN C A, PREECE J E. TDZ: A potent cytokinin for woody plant tissue culture[J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 1993(33): 105 - 119.

Study on Tissue Culture “Fuyu” Persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.)

LIU Kai¹, JIA Chun-feng²

(1. Department of Chemistry, Baoding University, Baoding 071000, China;

2. Department of Comprehensive Science, Baoding University, Baoding 071000, China)

Abstract: Study was carried out on effect of “Fuyu” on micropropagation, shoot regeneration and rooting. The result indicated that: MS medium supplementing ZT 2.0 mg/L and IAA 0.1 mg/L was the best medium for micropropagation. The best regeneration was achieved in MS(1/2N) + TDZ 0.4 mg/L + ZT 1.0 mg/L. After 30 days culture, the callus were subdivided and transferred to MS(1/2N) medium supplemented with ZT 2.0 mg/L and IAA 0.1 mg/L. Regeneration rate was 90.3%, average number of bud of each explant was 4.6. 1/2MS medium supplementing IBA 1.0 mg/L was the best medium for inducing rooting by culturing 8 days under dark, and the rooting rate was 93.1%.

Key words: Persimmon; “Fuyu”; micropropagation; plant regeneration