

桃‘豫农矮砧1号’叶片愈伤组织诱导的研究

谭 彬, 郑先波, 熊明国, 连晓东, 李 靖, 冯建灿*

(河南农业大学园艺学院, 郑州 450002)

桃‘豫农矮砧1号’是1992年在毛桃实生后代中发现的矮化变异, 其成年树冠不到毛桃成年树冠的1/2, 用其作砧木嫁接品种后, 成年树冠仅为对照的2/3, 是理想的矮化砧木; 但因其不能结实, 无法获得种子, 阻碍了在生产中应用。本试验中以‘豫农矮砧1号’幼嫩叶片为外植体, 探讨稳定、高效获得愈伤组织的诱导与增殖条件, 为其离体快繁及体胚发生机理研究提供理论依据和试验基础。

以‘豫农矮砧1号’幼嫩叶片为外植体进行了以下试验。(1) 灭菌条件: 灭菌剂为爱尔施牌消毒片(有效氯含量 $50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 选取不同浓度 (4.0 、 5.0 、 $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 和灭菌时间 (5 、 8 、 10 min) 进行 2 因素 3 水平完全设计, 共 9 个处理。灭菌叶片接种于 MS 培养基, 培养 7 d 后统计污染率。(2) 2,4-D 浓度: 将灭菌叶片接种至添加不同浓度 2,4-D (0.5 、 1.0 、 1.5 、 2.0 、 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 MS 培养基上, 以不添加的为对照, 4 周后统计愈伤组织诱导率。(3) 光/暗条件: 将灭菌叶片接种于附加 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D 的 MS 培养基中, 分别置于黑暗(培养箱)和光照(光照强度 2000 lx , 光/暗周期 $16 \text{ h} / 8 \text{ h}$) 下培养, 4 周后统计愈伤组织诱导率并观察愈伤组织状态。(4) 叶片愈伤组织诱导培养 30 d 后, 选取生长状态良好的愈伤组织, 以 MS 和 WPM 为基本培养基(附加 0 、 1.0 、 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D), 在光照条件下进行交替培养, 每种培养基上培养 25 d 后观察愈伤组织增殖及生长状态。

试验结果表明:(1) $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 消毒片处理 8 min , 灭菌效果最好。培养 7 d 后统计污染率, $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 消毒片处理的叶片污染率明显高于 5.0 和 $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 消毒片处理的叶片污染率。其中 $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理 8 或 10 min , $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理 5 或 10 min 的污染率较低, 但 4 个处理间差异不显著。考虑到高浓度、长时间的消毒处理对外植体的毒害作用, 确定最适的灭菌处理为 $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 消毒液处理 8 min 。(2) 附加 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D 的 MS 培养基愈伤组织诱导率最高。2,4-D 在 $0.5 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, 随着浓度的增加, 愈伤组织诱导率也随之增加, $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大, 为 83.3% , 且愈伤组织生长状态良好; 当 2,4-D 浓度超过 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 诱导率反而下降为 66.7% 。(3) 黑暗条件更有利于高质量愈伤组织的产生。接种于附加 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D 的 MS 培养基上叶片在黑暗条件下培养 4 周后愈伤组织诱导率高达 86.7% , 且愈伤组织多为淡黄色, 疏松, 生长状态良好; 而在光照条件下愈伤组织诱导率仅为 66.7% , 且愈伤组织多呈淡绿色或绿色的硬块状。(4) 附加 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D 的 MS 和 WPM 培养基交替培养可实现愈伤组织的长期继代保存, 增殖快, 产生大量生长旺盛的愈伤组织, 且很少发生褐变; 而当 MS 和 WPM 培养基不附加 2,4-D 时, 交替培养中愈伤组织生长缓慢, 且很快硬化并褐化; 当附加 2,4-D 提高到 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 在 MS 培养基中培养 25 d 后, 愈伤组织增殖较快, 生长良好, 而随后转入附加 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D 的 WPM 培养基后, 愈伤组织逐渐褐化。

关键词: 桃; 愈伤组织

中图分类号: S 662.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2474-01

收稿日期: 2011-07-28

基金项目: 河南省教育厅自然科学研究计划项目 (2011B210021)

* 通信作者 (E-mail: jcfeng@henau.edu.cn; Tel: 0371-63579621)