

# 山核桃组织培养的初代培养技术研究

俞飞飞\*, 江 芹, 孙其宝, 刘 茂

(安徽省农业科学院园艺研究所, 合肥 230031)

山核桃 (*Carya cathayensis*) 常规扦插难于生根, 嫁接成活率低而不稳, 另外山核桃成枝能力较弱, 枝条生长缓慢, 接穗量远不能满足嫁接繁殖需要。本试验中结合山核桃冬季修剪, 选取当年生健壮枝条为材料, 研究其初代培养过程中外植体灭菌和防止褐变的措施, 为进一步开展组培研究奠定基础。

将剥去外叶的休眠芽用清水冲洗后, 放入装有洗洁精饱和水溶液的杯中, 不停摇晃 10 min 左右, 再用软毛刷反复刷洗, 最后用流动的自来水冲洗 30 min。

外植体材料不同灭菌处理: 在超净工作台上外植体用 70% 酒精处理 30 s 后, 然后分别采取不同灭菌处理。A: 用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  浸泡 10 min, 用无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  浸泡 15 min, 无菌水冲洗 3~4 次; B: 用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  浸泡 25 min 后, 用无菌水冲洗 3~4 次; C: 用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  浸泡 10 min, 用无菌水冲洗 3 次, 除去外面包裹的部分鳞片, 再用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  浸泡 15 min, 然后用无菌水冲洗 3~4 次。将灭菌后的休眠芽除去外面包裹的鳞片, 切取茎尖生长点接种在初代培养基 ( $1/2\text{MS} + 2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 2\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{PVP} + 0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ ) 上, 观察灭菌效果。

灭菌后不同抗氧化剂溶液保存处理: 将上述 A 方法灭菌处理后的外植体材料分别放入无菌 0.2%  $\text{Na}_2\text{O}_2\text{S}_3$  溶液和过滤灭菌的 0.03% 维生素 C 溶液中, 以放入干净培养皿中为对照, 接种时从溶液中取出置于初代培养基 ( $1/2\text{MS} + 2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 2\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{PVP} + 0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ ) 上观察褐变情况。

培养基中不同附加成分对褐变的影响: 以  $1/2\text{MS}$  为基本培养基, 分别加入活性炭 (AC)、PVP、维生素 C, 以不加附加物的基础培养基为对照, 采用上述 A 方法灭菌处理后的外植体材料接种, 比较不同抗氧化剂和吸附剂对外植体材料褐变的影响。

生长调节剂对外植体生长及褐变的影响: 将上述 A 方法灭菌处理后的外植体材料放入无菌 0.2%  $\text{Na}_2\text{O}_2\text{S}_3$  溶液中, 随取随用, 以  $1/2\text{MS} + \text{PVP} 2\text{g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{AC} 2\text{g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA}_3 2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  为基本培养基, 分别加入不同浓度的 6-BA 和 NAA 组合, 比较其对初代培养生长及褐变的影响。

培养条件: 温度  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$  恒温, 光照  $1500 \sim 2000\text{lx}$ , pH 5.3~5.8, 糖  $30\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 琼脂  $7\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 初代培养在黑暗条件下培养 8 d 后取出进行光培养, 光照时间  $12\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$ , 30 d 后观察统计结果。

综合分析上述试验结果, 以实生山核桃休眠芽为材料进行初代培养, 0.1%  $\text{HgCl}_2$  二次灭菌法明显优于一次灭菌; 灭菌后的材料放入 0.2%  $\text{Na}_2\text{O}_2\text{S}_3$  溶液或 0.03% 维生素 C 溶液中浸泡, 可以有效减轻外植体的褐变, 基本培养基  $1/2\text{MS}$  中加入  $3\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{GA}_3 + 2\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{PVP} + 2\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{AC}$ , 对初代培养中防止外植体材料褐变, 促进生长效果最好。

**关键词:** 山核桃; 初代培养; 褐变; 灭菌

**中图分类号:** S 664.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) S-2492-01

**收稿日期:** 2011-08-01

\* E-mail: anhuiyufeifei@163.com; Tel: 13965019251