

小金海棠叶片的组织培养与快速繁殖

王忆 许雪峰 李天忠 韩振海*

中国农业大学园艺植物研究所, 北京 100094

Tissue Culture and Rapid Propagation of Leaves of *Malus xiaojinensis* Cheng et. Jiang

WANG Yi, XU Xue-Feng, LI Tian-Zhong, HAN Zhen-Hai*

Institute for Horticultural Plants, China Agricultural University, Beijing 100094, China

1 植物名称 苹果(砧木)小金海棠(*Malus xiaojinensis* Cheng et. Jiang)。

2 材料类别 组培苗。

3 培养条件 以MS为基本培养基。(1)起始和增殖培养基: MS+6-BA 0.2 mg·L⁻¹(单位下同)+IAA 0.5+3%蔗糖+6.5 g·L⁻¹琼脂;(2)生长培养基: MS+6-BA 0.6+NAA 0.2+GA₃ 0.3+3%蔗糖+7 g·L⁻¹琼脂;(3)再生培养基: MS+6-BA 1.0+NAA 1.0+TDZ 4.0+3%蔗糖+7 g·L⁻¹琼脂;(4)生根培养基: 1/2 MS+IAA 1.0+3%蔗糖+6 g·L⁻¹琼脂。培养基pH调整至5.8, 121℃、0.11 MPa 灭菌20 min。培养温度为(25±2)℃, 光照时间14 h·d⁻¹, 光强为40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 材料的准备 直接取实验室小金海棠无菌组培苗, 将其剪成带1~2片叶的茎段, 接种至起始培养基中, 生长约20 d。选取长势良好、植株粗壮的组培苗, 接种至增殖培养基中, 培养30 d左右。每个植株的腋芽可萌发长成3~6个4~5 cm高、具3~4片叶的侧茎。将侧茎接种至生长培养基中约30 d后, 其叶片可作为再生培养材料。按照这种方法可大量繁殖组培苗, 每30 d增殖系数达6.8以上。

4.2 叶片再生 无菌条件下, 将生长培养基中植株顶部2~4叶位已展开的幼嫩叶片剪下, 手术刀垂直主脉进行横切, 切断主脉, 造成伤口, 但不穿透叶缘。叶片均匀放置于再生培养基上, 9 cm的培养皿中约放置10片, 远轴面接触培养基。培养皿边缘缝隙使用封口膜缠绕, (25±2)℃黑暗培养14~16 d后, 转入光培养。每28 d更换新鲜再生培养基, 50 d左右可见有再生植株产生。叶片再

生频率可达62%, 叶片平均再生芽数达2.64。

4.3 再生植株生根及炼苗 将再生植株转移至起始培养基中培养45~50 d, 待主茎达5~8 cm高、具6~8片叶后接种至生根培养基。温度(22±2)℃, 光照时间12 h·d⁻¹, 经25~30 d, 每棵再生植株可产生2~6条2~5 cm长的不定根, 生根率达88.4%。闭盖培养炼苗10 d后, 开盖炼苗3~4 d, 避免强光照射, 可加入0.5 cm深自来水防污、保湿。

4.4 移栽 在温室中对再生苗进行移栽。将其移至半营养液中, 盆上覆盖塑料膜保湿, 14 d后换为全营养液培养, 成活率可达90%以上。或以营养土(蛭石与腐殖土1:1混和)为基质, 0.3% KMnO₄ 浸渍3~4 h, 0.11 MPa 灭菌20 min, 移栽容器为塑料钵。移栽前基质水浸渍12 h, 移栽后覆塑料膜保湿80%以上, 7 d后逐渐通风至完全揭膜, 每隔2 d喷洒营养液, 成活率可达85%。

5 意义与进展 小金海棠为具极强的抗缺铁黄叶病能力的苹果砧木, 耐盐、耐旱、耐涝、耐寒和耐热能力也均属最强的种之一, 产于物种分化活跃的四川岷江一大渡河一带, 是极为重要的种质资源。小金海棠叶片再生植株的组织培养与快繁技术至今未见报道。本文用组培技术得到的小金海棠组培苗进行繁殖再生, 不仅种苗整齐、一致, 而且叶片再生效率高, 再生植株质量好, 建立了两步成苗、一步生根、一次移栽的组培再生快繁体系。

收稿 2004-12-28 修定 2005-06-28

资助 国家转基因植物研究与产业化开发专项(JY04-B-02)。

*通讯作者(E-mail: hanzhh@cau.edu.cn, Tel: 010-62731118)。