

濒危品种软籽石榴的组织培养和快速繁殖

闫志佩*

枣庄师范高等专科学校生物系, 枣庄 277160

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Punica granatum*

YAN Zhi-Pei*

Department of Biology, Zaozhuang Teachers' College, Zaozhuang 277160

1 植物名称 石榴(*Punica granatum*)。

2 材料类别 新梢茎尖。

3 培养条件 (1)芽诱导培养基 MS+6-BA 1.5 mg·L⁻¹(单位下同)+IBA 0.2+NAA 0.1; (2)芽增殖培养基: MS+6-BA 2.0+IBA 0.5; (3)生根培养基: 1/2MS+NAA 0.1。培养基(1)、(2)加蔗糖 30 g·L⁻¹, 培养基(3)加蔗糖 15 g·L⁻¹; (1)、(2)、(3)均加琼脂 0.7 g·L⁻¹; pH 5.8。培养温度为(28±1)℃, 光照度为2 000~3 000 lx, 光照时间12~14 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌外植体的获得 初始材料取自山东省枣庄市峯城万亩石榴园中的软籽石榴植株。将新萌枝条用自来水冲洗5~10 min, 切取茎尖1.0 cm左右, 摘除多余枝叶, 先用70%乙醇浸泡30 s, 然后再用0.1% HgCl₂消毒10~15 min, 在无菌室内用无菌水漂洗材料4~5次后, 置无菌水中待用。

4.2 接种和芽的诱导培养 在无菌条件下, 将处理好的无菌外植体材料于超净工作台上, 在实体显微镜下剥除茎尖幼叶, 切取茎尖生长锥1~3 mm, 接种于装有芽诱导培养基(1)的试管中培养。培养条件: 温度25℃, 先暗培养72 h后, 再转为光照培养, 光强1 000 lx, 光照时间12 h·d⁻¹。10~15 d后, 外植体周边有愈伤组织形成并不断增大、变绿; 15~20 d, 有丛生芽体分化。30 d后可将芽体分离, 进行转管继代培养。

4.3 芽体的增殖培养 在超净工作台上将芽体愈伤组织块取出, 用无菌水冲净愈伤组织块上残留的培养基, 用无菌解剖刀将带有芽体的愈伤组织块切成几个小块, 再接种到装有增殖培养基(2)的三角瓶中。在与芽体诱导相同的培养条件下增殖培养, 10~15 d芽体即可长大变绿; 20~30 d后, 芽体逐渐长大, 形成小枝条。通过增殖培养可获得大量芽体材料, 用于诱导生根培养。

4.4 生根培养 待无根小枝条长至长2~3 cm时, 在无菌条件下, 将幼枝条取出, 切取无根枝条长

约1 cm, 接种到生根培养基(3)中培养。培养条件: 温度为(28±1)℃, 光照度为2 000~3 000 lx, 光照时间为12~14 h·d⁻¹。约7~10 d即有数条白色幼根生出, 15~20 d幼根可生长3~5 cm。待试管苗长至高4~6 cm, 可将试管苗在无菌条件下取出, 截成长约1 cm枝条后接种到生根培养基(3)中扩大生根苗培养; 也可转入炼苗移栽。

4.5 炼苗和移栽 将培养生根试管苗的三角瓶口打开, 在培养室内炼苗3~5 d, 让试管苗逐渐适应外界环境。移栽时, 将试管苗小心地取出, 用自来水洗净培养基后, 用5%高锰酸钾浸泡1 min, 迅速植入蛭石土移植袋中, 先在培养室或大棚内炼苗10~15 d。炼苗期间保持温度25~28℃, 湿度80%~85%, 光强3 000 lx, 光照12~14 h·d⁻¹, 每2 d用2% MS大量元素营养液喷洒1次。待移栽苗健壮成活后, 移入大田或大棚栽培, 成活率可达90%以上。

5 意义与进展 石榴是石榴科石榴属落叶小乔木, 是我国北方地区的重要果树之一。山东省枣庄市峯城万亩石榴园有栽培石榴的悠久历史。人们在长期栽培石榴的过程中, 选育出了许多优良品种, 如软籽石榴、大红袍等都是比较珍贵的稀有品种, 特别是软籽石榴以其果实硕大、汁液甘甜、籽多仁软(石细胞少)而著名, 在清代道光年间当地官吏曾将软籽石榴作为贡品进奉朝廷。但是, 目前软籽石榴植株数量极少, 在峯城万亩石榴园中仅有几株, 濒临绝迹。本文采用组织培养技术, 以软籽石榴新梢茎尖为材料快速繁殖获得大量无毒试管苗, 对挽救软籽石榴这一珍贵濒危品种有重要意义。采用本文方法已获得大量软籽石榴试管苗, 并移入大田栽培成活。

收稿 2003-04-22 修定 2003-08-25

* E-mail:zhipeiy@sina.com, Tel:0632-3786851