

金丝小枣茎段离体培养及胚培养的研究

刘贵仁 严仁玲 王震星 张 磊 杨恩琴

(天津农学院, 天津)

桑子诚

(河北省沧县金丝小枣研究所, 沧州)

摘 要

1986—1987年将金丝小枣高产质佳4个品系、成年树上的枣头茎段,使用MS基本培养基培养成试管苗。试验结果表明,外植体的生理状态与培养试管苗有直接关系;试管苗经常出现二次枝,它可以生根,但生芽继代繁殖困难;利用果仁接种在适宜培养基上,可以生长健壮植株,下胚轴可由不定芽发育成小植株。

关键词 金丝小枣 枣头 茎段培养

金丝小枣属于鼠李科枣属 (*Zizyphus Mill*) 无刺枣 (*Z. jujuba. Var. inermis Rehd*) 变种的珍贵栽培品种,为我国独特出口果品之一,在国际市场颇受欢迎。

目前,金丝小枣的产量远远满足不了实际需要。为提高产量,除改进栽培管理条件之外,应尽快扩大枣树种植面积,推广普及优良品系。现在生产上利用根蘖苗繁殖,其繁殖系数甚低,而选出的优良品系往往萌发根蘖苗更少。如果利用酸枣为砧木嫁接繁殖,则费工费时,成苗率较低,同时易传染枣疯病。故长期以来金丝小枣的栽种面积不能迅速扩大。

自中国科学院植物研究所报道了酸枣组织培养中胚状体的形成之后,1983年张福泉等^[1]利用坛坛枣树根蘖苗幼梢离体茎段培养成功,1986年王玉英²利用金丝小枣休眠芽进行离体培养成苗。其他报道甚少。我们于1986年开始,经两年应用组织培养方法,将金丝小枣品系的枣头(由主芽萌发而来,是形成枣树骨架和结果基枝的基础,它不单是营养生长枝,同时又是结果单位枝)茎段,培养成试管苗和胚培养的试管苗。少量入土试验已获得移栽苗。

材料与方 法

材料为河北省沧县金丝小枣研究所选育的高产品系,代号为A₂₅、A₂₆、A₂₇,及高产枣园的优株A₈₀等4个品系。树龄均在20年以上。于5月下旬采其枣头为外植体及上年的枣果利用果仁进行培养。

采集后在5℃条件下保存,翌日首先用清水多次冲洗干净,在无菌环境中,去掉叶片,先用75%乙醇浸蘸1分钟,再先后用0.1%氯化汞、0.8%次氯酸钠各浸泡10分钟,最后用无菌水冲洗3—4次,剪去药液接触过的伤口与叶柄,截成2cm长的单芽茎段,插入经过高压灭

菌的培养基中。继代培养时, 将试管苗剪成 1.5—2cm 长的单芽茎段, 置于 100 或 150ml 的三角瓶中培养。培养基为改良 MS, 基本成份见表 1。

表 1 改良 MS 培养基的基本成份

药品名称	每 l 含 mg 数	药品名称	每 l 含 mg 数
NH_4NO_3	825	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
KNO_3	950	$\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
KH_2PO_4	85	肌醇	100
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	185	甘氨酸	2
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	220	盐酸硫胺素	0.4
$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	13.90	盐酸吡哆素	0.5
EDTA	10.65	烟酸	0.5
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.30	茶乙酸	0.3—0.4
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60	蔗糖	20000
H_3BO_3	6.20	琼脂	8000
KI	0.83	pH	5.8
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25		

胚培养是将枣核用清水冲洗, 去掉外壳经 75% 乙醇浸蘸 1 分钟之后, 用 0.1% 氯化汞浸泡 10 分钟, 再用无菌水冲洗 3—4 次, 于无菌条件下, 剥去种皮后接种在改良怀特(White)培养基中(改良 MS 培养基亦可), 生根长芽形成正常植株。

接种的茎段与试管苗均在 2500 勒克斯, 每日 10—12 小时光照, 室内温度 26—28℃, 相对湿度 60—75% 的条件下培养。

结果与讨论

1. 当前, 对金丝小枣有必要研究既易保存种质, 繁殖速度又快的新途径。我们试图利用组培方法繁殖优株或一些珍贵品系资源, 其繁殖速度之快, 又可长期保持遗传基础的稳定, 是明显优于其他方法。现在我们将金丝小枣的优良品系, 已批量继代繁殖试管苗, 45 天左右可繁殖一代, 每代繁殖系数平均为 4, 按理论繁殖系数计算, 一株一年可繁殖 65 536 株, 其速度是相当可观的(见图 1)。

2. 接种外植体的生理状态与接种繁殖试管苗的效果有直接关系。我们曾采用以下三种外植体, 其结果有显著差异: ①早春 2 月中旬采集成年树上的 1—2 年生枝条和 3—4 年生以上带有大量枣股的枝条, 在室温 25—28℃ 催芽后, 将芽消毒接种, 该芽萌发生出的新枝, 绝大部分为枣吊或二次枝, 个别的枣吊在三角瓶内呈现花蕾而开花, 花谢后停止生长而逐渐枯死(见图 2), 很少出现枣头(见表 2)。②5 月中旬至 7 月上旬采集根蘖苗新梢为外植体接种时, 仍然出现许多二次枝, 枣头较少, 虽然出现了枣头, 而长势较弱。③在成年树生长旺盛季节 5 月中旬至 6 月上旬, 采集其上的枣头为外植体接种, 出现的枣头较多, 而且生长的比较粗壮(见表 3)。出现枣头最多者 A₅₂ 为 82%, 一般在 70—75%。

表 2 早春采集枝条出现枣头的情况 (1986)

品系代号	接种后未污染芽数	出现枣头数	出现枣头所占 %
A ₂₅	48	2	0.04
绵枣	42	0	0
无核小枣	61	0	0

表 3 5 月 21 日采集成年树上的枣头

为外植体出现枣头的情况 (1987)

品系代号	接种后未污染芽数	出现枣头数	出现枣头所占 %
A ₂₅	63	52	82
A ₂₆	28	21	75
A ₂₇	41	29	70
A ₇₀	46	33	71

3. 枣头为外植体接种后, 大部分可长出枣头, 培养基适宜可正常生根, 成苗率平均在 74.5%。继代培养时, 在三角瓶内枣头生长出 4—5 个叶片之后, 从上部叶腋开始长二次枝或枣吊, 它生长的速度快, 长相比枣头细而长, 影响枣头正常的生长发育, 有的明显抑制枣头的生长, 甚至使其黄化萎缩枯死。当它长到 2—3 个叶片, 可以确认无误为二次枝时, 应

及时剪掉,以促进枣头正常生育,减少试管苗的营养消耗,增加繁殖系数。作者认为只有利用枣头,才便于继代繁殖试管苗,其他枝条的茎段继代繁殖十分困难(见图3)。在我们的试验中,外植体接种60—90天后,经过2—3次去掉二次枝,即可长出健壮的枣头(见表4)。

表4 剪二次枝或枣吊后出现的枣头的情况
(1986—1987)

品系名称	外植体接种日期	经剪二次枝或枣吊出现枣头时间
A ₁₉	1986年6月2日	10月10日
A ₂₁	1986年5月14日	9月23日
A ₂₂	1986年5月14日	9月23日
A ₂₅	1987年5月22日	7月18日
A ₇₀	1987年5月22日	7月18日

注: A₁₉、A₂₁、A₂₂为西郊区的小枣。

栽定植后,以备试验鉴定。我们共用4种培养基(MS、改良MS、怀特(White)及改良B₅等)均可长苗生根,发育为健壮的试(见图4)。有趣的是,利用其下胚轴进行培养时,发现在胚轴顶端横切面的边缘处,长出不定芽,形成小植株(见图5)。

4. 在枣头继代繁殖过程中,经常出现二次枝,将它剪下继续培养时,到一定时间可以长出正常的根,但枝的顶端生长点,长到一定程度之后,即停止生长,不从叶腋中长出新枝。枣吊在培养基中培养从未发现生根的试管苗,长到4—6个叶片停止生长,有的黄化枯死。

5. 我们进行胚培养的目的,是为今后进行枣树自交分离和杂交育种获得种子,克服用种子播种出苗率低的现象,获得一定数量的实生苗。必要时,还可以适量无性繁殖,入土移栽。

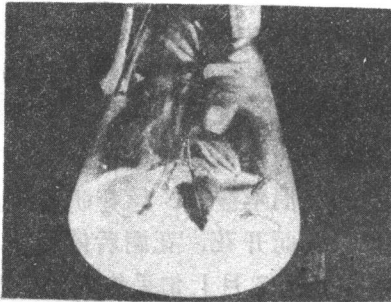


图1 A₂₅品系的试管苗

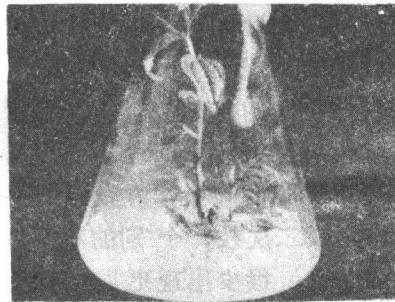


图2 A₂₆去掉二次枝的试管苗右旁小苗为二次枝插入培养基已生根

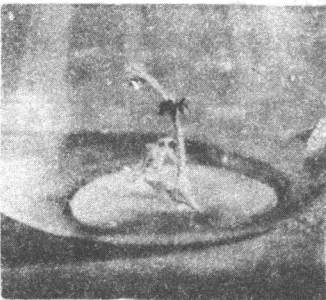


图3 培养枣呆在瓶内开花

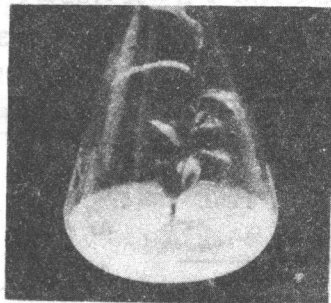


图4 胚培养的试管苗

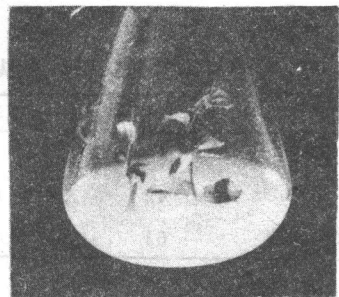


图5 左边的苗为下胚轴顶端出现不定芽生的小植株

参 考 文 献

- (1) 武之新: 土壤盐分对金丝小枣生长发育的影响, 《中国果树》, (2) 1985: 11—15
- (2) 曲泽洲: 《果树栽培学》, 农业出版社, 1983: 232—257
- (3) 张福泉等: 枣茎段离体培养初报, 《中国果树》, (3) 1983: 46—47
- (4) 王玉英等: 金丝小枣休眠芽培养成苗, 《植物杂志》, (5) 1986
- (5) 李安生等: 齿瓣延胡索胚状体无性系的初步建立, 《遗传学报》, 12 (4) 1985: 281—284
- (6) 俞德浚: 《中国果树分类学》, 农业出版社, 1956: 82—86
- (7) 陈正华等: 《木本植物组织培养及其应用》, 高等教育出版社, 1986: 1—74
- (8) 3 друшковская - рцхтер А. И. и А. Х. Хролькова: Сельскохозяйственная биология, 10 (4) 1975: 518—521

The Researchmen of Culturing Stem and Embryo of the Jinsi Chinese Date

Liu Guiren, Yan Renling, Wang Zhenxing, Zhang Lei, Yang Enqin
(Tianjing Agriculture College, Tianjing)

Sang Zicheng
(Institute of the Jinsi Chinese Date of Cangzhou county,
Hebei Province, Cangzhou)

Abstract

From 1986 to 1987, we cultured the stems of adult trees of four strains, which are highly productive and quality, to test-tube plants by modified MS medium. The results showed there were direct relationships between the physiological status of explants and the test-tube plants; the test-tube plants often developed second branches which could take root, but could'nt sprout; the plantlets were used to be grafted on a proper medium and could grow to robust plants and the adventitious buds on hypocotyl could develop to young plants.

Key words: Jinsi chinese date; Chinese date head; Stem culture