

DOI:10.16515/j.cnki.32-1722/n.2018.03.018

樱花品种‘染井吉野’启动培养初步研究

夏明霞,张宁宁,江兴瑜,张琼,衡燕

(江苏丘陵地区南京农业科学研究所,江苏 南京 210046)

摘要:以春季萌发的樱花‘染井吉野’带腋芽嫩茎段为试材,进行了外植体启动培养研究。结果表明:最适外植体为樱花当年生未木质化嫩枝的中部;最佳消毒时间为先用70%的酒精消毒30 s再用0.1%的 HgCl_2 消毒10 min;适宜的启动培养基为 $\text{WPM}+6\text{-BA } 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,诱导率达66.67%。

关键词:樱花;外植体;启动培养

中图分类号:S685

文献标识码:A

文章编号:1672-755X(2018)03-0078-03

A Preliminary Study on the Seed Cultivation of *Prunus yedoensis*

XIA Ming-xia, ZHANG Ning-ning, JIANG Xing-yu, ZHANG Qiong, HENG Yan

(Nanjing Institute of Agricultural Science in Jiangsu Hilly Region, Nanjing 210046, China)

Abstract: The starting culture of explant was carried out with tender stem section of *Prunus yedoensis* with axillary bud, which was germinated in spring. The experimental results showed that the most suitable explant was the middle part of the cherry wood; the best disinfection time is to disinfect 30 s first with 70% alcohol and then disinfect 10 min by 0.1% of HgCl_2 ; the optimal starting medium was $\text{WPM}+6\text{-BA } 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and the induction rate was 66.67%.

Key words: *Prunus yedoensis*; explant; starting culture

‘染井吉野樱’(*Prunus yedoensis*),又称吉野樱,是日本樱花的一个重要栽培品种,为大岛樱和江户彼岸樱的杂交品种,花期于3月中旬,单瓣花,花色初期为淡粉红色,盛开后变半透明白色。传统樱花的繁殖以扦插、嫁接等无性繁殖方法为主^[1],虽然能保持品种的优良性状,但是繁殖速度慢,不能满足市场的需求;加之长期营养繁殖导致病毒、真菌、细菌在植物体内积累^[2],植株生活力、抗逆性下降^[3],花色、花型变劣,甚至整株死亡,带病植株为省内检疫对象严禁调运。利用组培快繁技术既可加快繁殖速度又能保持品种的种性,但是目前樱花组培快繁中存在表面灭菌困难、初代接种诱导慢、增殖效率低等问题,直接影响其在实际生产中的应用^[4]。而这些问题与樱花品种、外植体处理、培养基配方等关系极大,因此本试验主要初步探讨了‘染井吉野樱’不同外植体的选择、消毒时间以及基本培养基配方对樱花启动培养的影响,以期获得生长健壮的植株,达到优质快繁目的。

1 材料与方法

1.1 外植体来源

所用外植体取材于南京市农科所金陵绿谷现代园艺科技示范园樱花资源圃。供试品种为‘染井吉野

收稿日期:2018-07-26

基金项目:江苏省林业三新工程项目(LYSX[2015]29)

作者简介:夏明霞(1972—),女,江苏南京人,助理研究员,主要从事园艺植物栽培和育苗工作。

樱’。5月上旬从健壮的植株上,剪取无病害当年生的半木质化枝条带回实验室进行消毒处理,剪取枝条上叶片并剪带2个腋芽枝段作为一个茎段,分为新发枝条的前端茎段、中端茎段和后端茎段^[5-6]。每瓶1个外植体,每个处理20瓶,3次重复。

1.2 外植体灭菌

在自来水下冲洗30 min,去除叶片,留下带叶原基和茎尖的嫩枝,外植体经洗涤剂 and 自来水漂洗30 min后,放入70%酒精中进行30 s的预消毒处理,再分别放入0.1% HgCl₂溶液中进行5、10、15 min等不同时间的灭菌处理,经无菌水6次漂洗后,将外植体切割接种到培养基上^[7-9],每瓶1个外植体,每个处理30瓶,3次重复。

1.3 启动培养

在无菌条件下,切取长约0.8 cm、带生长点及叶原基的茎段,接种于添加不同浓度6-BA和NAA的MS和WPM培养基上。每瓶1个外植体,每种处理30瓶,3次重复。每7 d观察1次,记录外植体在不同培养基上的污染、生长、萌发等情况。

培养基的pH值均为5.8,蔗糖和琼脂含量(质量分数)分别为30 g·L⁻¹和6.5 g·L⁻¹,培养温度(25±2)℃,高压灭菌锅中118℃,灭菌18 min。空气相对湿度为60%左右,光照强度为1 500~2 000 lx,光照时间为14 h·d⁻¹。

1.4 结果统计

污染率在接种后15~20 d内统计,萌发率在培养30 d后统计。萌动的标准:萌发出1~2片完整的叶片记为萌动。

2 结果与分析

2.1 不同部位茎段对启动培养的影响

由表1可知,樱花嫩枝不同部位茎段萌发率存在一定差异,新发枝条的中端茎段腋芽的诱导率最高,达71.6%,且叶较绿,长势良好,丛生芽也较多;前段茎段和后端茎段的诱导率分别为30%和26.7%,长势也相对较弱。

表1 不同部位茎段对启动培养的影响

茎段类型	诱导率/%	生长状况
前端茎段	30	叶嫩绿,丛生芽较少,长势较弱
中端茎段	71.6	叶较绿,丛生芽较多,长势良好
后端茎段	26.7	叶有点黄,丛生芽较少,长势弱

2.2 不同消毒时间对启动培养的影响

由表2可知,用0.1% HgCl₂溶液处理外植体5 min,外植体死亡率低,为6.7%,但污染率高达46.7%;处理15 min,外植体死亡率33.3%,污染率为13.3%;处理10 min的效果最好,死亡率为10%,污染率23.3%,诱导率最高,达66.7%。

表2 不同消毒时间对启动培养的影响

编号	消毒时间/min	死亡率/%	污染率/%	诱导率/%
1	5	6.7	46.7	46.7
2	10	10.0	23.3	66.7
3	15	33.3	13.3	53.3

2.3 不同培养基对启动培养的影响

从表3中可以看出,12种培养基均能诱导出不定芽,但不同培养基对诱导率的影响差异显著。接种于MS培养基的外植体污染及褐化现象严重,丛生芽诱导率低于26.7%;而接种于WPM培养基上的外植体生

长良好,丛生芽诱导率在 26.7%~66.7%。12 个诱导培养基中,以培养基 WPM+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹效果最好,诱导率达 66.7%。可以看出在参试的浓度范围内,6-BA 浓度并非越高越好,当浓度高于 1.5 mg·L⁻¹时,腋芽的萌发率反而降低;低浓度 NAA(0.1 mg·L⁻¹)能促进腋芽的萌发,浓度越高,越容易出现抑制芽萌发的现象,这与朱育端^[10]在东京樱花组培快繁技术研究的结果较一致。因此,樱花茎段诱导不定芽最佳培养基中激素配比为 6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹。

表 3 不同培养基对丛生芽诱导的影响

实验号	因素			接种数	萌发数	诱导率/%
	基本培养基	6-BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)			
1	MS	1.0	0.1	30	6	20.0Aa
2		1.5	0.1	30	7	26.7ABb
3		2.0	0.1	30	5	16.7Bb
4		1.0	0.2	30	2	6.7Aa
5		1.5	0.2	30	4	13.3Aab
6		2.0	0.2	30	3	10.0Ab
7	WPM	1.0	0.1	30	14	46.7Aa
8		1.5	0.1	30	20	66.7Ab
9		2.0	0.1	30	15	50.0Ab
10		1.0	0.2	30	11	36.7Aa
11		1.5	0.2	30	12	40.0Aa
12		2.0	0.2	30	8	26.7Bb

注:小字母不同代表 0.05 水平上的差异显著,大写字母不同代表 0.01 水平上的差异显著。

3 结 语

樱花外植体组培诱导率受很多因素影响,而污染是重要影响因素,可能是由于材料冲洗及消毒不彻底引起的,而在操作过程中人为因素影响很大,导致实验结果受到一定影响,排除人为污染因素,本文初步探讨外植体选择、消毒时间以及不同培养基配方对染井吉野樱启动培养的影响。结果表明采取樱花当年生半木质化枝条的中部茎段腋芽的诱导率较高,达 71.6%;用 70%酒精和 0.1% HgCl₂ 具有较好的灭菌效果,70%酒精灭菌时间以 30 s 为宜,过长易导致外植体褐化严重从而影响腋芽萌发,过短则会大量细菌污染,0.1%的 HgCl₂ 随杀菌处理时间增加污染减少,但死亡率增加,处理 10 min 时诱导率最高。

近年来,关于樱花的组培报道中,启动培养中基本培养基大多用 MS 或 1/2 MS,本试验表明在初代培养过程中,以 WPM 为基本培养基效果明显好于 MS 培养基,染井吉野樱启动培养的最适培养配方为 WPM+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹,诱导率达 66.7%。

参考文献:

- [1] 王光萍,黄敏仁. 福建山樱花的组织培养及植株再生[J]. 南京林业大学学报,2002,26(2):73-76
- [2] 李艳敏,孟月娥,赵秀山,等. 红叶樱花的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2008,12(6):85-92
- [3] 姚连芳,张建伟,冷天波,等. 樱花组培快繁生产技术[J]. 林业实用技术,2004(3):27-28
- [4] 邹娜,曹光球. 观赏樱花繁殖技术研究进展[J]. 西南林学院学报,2007(6):42-46
- [5] 王文房,李修岭. 樱花花柄的组织培养[J]. 安徽农业科学,2006,34(22):5839-5841
- [6] 李艳敏,孟月娥,赵秀山,等. 赤霉素对樱花组培苗壮苗及生根的影响[J]. 园艺学报,2012(39):27-29
- [7] 冷天波,李乐辉,柴德勇,等. 樱花组织培养育苗技术[J]. 河南林业科技,2011,31(3):52-56
- [8] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1997:85-86
- [9] 李玉萍,王燕青,虞国弘,等. 建兰与杂交兰杂交亲和性与胚培养研究[J]. 金陵科技学院学报,2017(1):81-84
- [10] 朱育端. 东京樱花组培快繁技术研究[J]. 林业勘察设计(福建),2012(1):158-160

(责任编辑:谭彩霞)