

中香梨的离体培养研究

宋健坤, 张志杰, 孙华丽, 王然 (青岛农业大学园林园艺学院, 山东青岛 266109)

摘要 [目的]对中香梨的离体培养进行研究。[方法]以中香梨茎尖和嫩叶为外植体, 筛选适合中香梨茎尖培养及叶片愈伤组织诱导的最佳培养基。[结果]中香梨茎尖培养的最佳培养基为 MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.15 mg/L NAA + 30 g/L 蔗糖 + 6 g/L 琼脂; 叶片的最佳愈伤组织诱导培养基为 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L IBA + 40 g/L 蔗糖 + 6 g/L 琼脂。[结论]通过茎尖培养可很快获得中香梨植株, 但从愈伤组织诱导植株较为困难。

关键词 中香梨; 茎尖; 叶片; 组织培养; 愈伤诱导

中图分类号 S661.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)01-00037-02

Study on in Vitro Culture of *Pyrus bretschneideri* Rehd. cv. 'zhongxiang'

SONG Jian-kun et al (College of Landscape and Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract [Objective] The aim was to study the *in vitro* culture of *Pyrus bretschneideri* Rehd. cv. 'zhongxiang'. [Method] The optimal media of shoot tip culture and leaf callus induction of *P. bretschneideri* Rehd. cv. 'zhongxiang' were screened by using shoot tips and tender leaves as explants. [Result] The optimal shoot tip culture medium of *P. bretschneideri* Rehd. cv. 'zhongxiang' was MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.15 mg/L NAA + 30 g/L Sugar + 6 g/L Agar; the best callus induction medium of leaf was MS + 1.0 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L IBA + 40 g/L Sugar + 6 g/L Agar. [Conclusion] It would be quickly to obtain *P. bretschneideri* Rehd. cv. 'zhongxiang' plantlet by shoot tip culture, but difficult to induce plant from callus.

Key words *Pyrus bretschneideri* Rehd. cv. 'zhongxiang'; Shoot tip; Leaf; Tissue culture; Callus induction

中香梨是我国莱阳农学院园艺系选育的新品种, 曾于 1985 年在兴城渤海湾梨树会议上被定为全国试栽品种。中香梨肉质酥脆, 石细胞较少, 汁多味甜, 果实品质较好, 目前在莱阳地区有一定的栽培面积。戴洪义等曾对中香梨的授粉品种进行了研究, 结果发现, 鸭梨、栖霞大香水等品种是中香梨适宜的授粉品种, 授粉后座果率分别可达 75.5% 和 72.8%^[1]。中香梨品质优良, 不仅可作为栽培品种在生产上推广, 还可作为很好的育种亲本在杂交育种中加以利用。梨的组织培养技术已得到广泛的应用, 但中香梨的组织培养目前还没有人进行过研究, 该试验以中香梨的茎尖和叶片为外植体, 通过不同激素组合的配比试验, 建立中香梨的离体再生繁殖体系, 为今后利用生物技术对其进行品种改良奠定基础。

1 材料与方

1.1 材料 中香梨一年生枝条采自青岛农业大学莱阳校区园艺试验站。2011 年 4 月中旬将枝条取回, 在室温下水培一段时间, 待茎尖和叶片萌发后, 取茎尖和叶片培养。

1.2 方法

1.2.1 茎尖培养。用小刀切取 0.2~0.5 cm 大小的茎尖, 先用 75% 酒精溶液消毒 15 s, 无菌水冲洗 2 次, 再用 0.1% 升汞溶液消毒 5 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 将消毒好的茎尖接种在以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 6-BA、NAA、IBA 激素组合的培养基上, 同时各处理培养基均添加蔗糖 30 g/L, 琼脂 6 g/L, 共设 6 个处理(表 1)。

1.2.2 叶片愈伤组织诱导。取一年生枝条幼嫩叶片, 先用酒精消毒 15 s, 无菌水冲洗 2 次, 再用升汞消毒 5 min, 无菌

水冲洗 4~5 次。将消毒后的叶片先放在不加任何激素的 MS 基本培养基上暗培养 4 d, 然后将预培养后的叶片用剪刀剪成 0.5 cm × 0.5 cm 大小的方块, 分别接种在以 MS 为基本培养基, 附加不同激素浓度组合的愈伤诱导培养基上光照培养, 并添加蔗糖 40 g/L, 琼脂 6 g/L, 共设 4 个处理(表 2)。

表 1 茎尖培养基配方

处理	激素浓度 // mg/L		
	6-BA	NAA	IBA
1	0.5	0.05	0
2	1.0	0.10	0
3	1.5	0.15	0
4	2.0	0.20	0
5	1.0	0	0.10
6	1.5	0	0.15

表 2 叶片愈伤组织诱导培养基配方

处理	激素浓度 // mg/L	
	6-BA	NAA
1	1.0	0.10
2	2.0	0.20
3	3.0	0.30
4	4.0	0.40

2 结果与分析

2.1 中香梨茎尖的离体培养 对接种后中香梨茎尖的成苗率进行比较, 不同处理对中香梨茎尖的影响见表 3。由表 3 可看出, 6 种处理中, 处理 3, 即 6-BA (1.5 mg/L) 和 NAA (0.15 mg/L) 激素组合的成苗率最高, 达 84%, 其他 5 个处理的成苗率都略低(图 1)。在试验中也发现, 处理 3 的生长势较其他处理的生长势快, 说明处理 3 是中香梨茎尖离体培养较为理想的培养基。

基金项目 青岛市科技计划基础研究项目(11-2-4-5-(2)-jch)。

作者简介 宋健坤(1978-), 男, 山东烟台人, 讲师, 博士, 从事梨育种研究, E-mail: qausjk@126.com。

收稿日期 2012-10-30

表 3 不同培养基处理对中香梨茎尖培养的影响

处理	接种茎尖数	成苗数	成苗率//%
1	16	6	38
2	19	14	74
3	19	16	84
4	20	12	60
5	15	7	47
6	15	9	60



图 1 中香梨茎尖苗

2.2 中香梨叶片愈伤组织的诱导 对接种后第 23 天、第 42 天叶片的出愈状况进行比较,结果见表 4。由表 4 可看出,接种第 23 天后 4 个处理都从叶片边缘长出黄色愈伤组织(图 2),其中处理 4,即 6-BA (4.0 mg/L) 和 NAA (0.4 mg/L) 激素组合的出愈率较高,达 38%。继续培养一段时间,到第 42 天后,各处理的出愈率均进一步提高,其中处理 4 的出愈率仍最高,达 66%。这说明处理 4 适于中香梨叶片愈伤组织的诱导。

表 4 不同培养基处理对中香梨叶片愈伤组织诱导的影响

处理	叶片总数	接种后 23 d		接种后 42 d	
		出愈数	出愈率//%	出愈数	出愈率//%
1	90	22	24	29	32
2	57	18	32	32	56
3	53	13	25	24	45
4	80	30	38	53	66

3 结论与讨论

通过中香梨的茎尖离体培养可看出,中香梨茎尖培养的最佳培养基为 MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.15 mg/L NAA + 30 g/L 蔗糖 + 6 g/L 琼脂,成苗率可达 84%;从 4 种浓度的 6-BA 和 NAA 激素组合来看,随着 6-BA 和 NAA 激素浓度的增加,茎尖培养的成苗率是逐渐升高的,至处理 3 时,成苗率达最



图 2 中香梨叶片愈伤组织

高,但随着激素浓度进一步增加,处理 4 的成苗率反而降低,说明过高的激素浓度组合并不利于茎尖的培养。处理 5 和 6 的激素组合为 6-BA 和 IBA,成苗率分别 47% 和 60%,低于相同浓度的 6-BA 和 NAA 激素浓度组合,说明 6-BA 和 NAA 激素组合更适于中香梨的茎尖培养。

从中香梨叶片愈伤组织的诱导可看出,随着 6-BA 和 NAA 激素浓度的提高,诱导率也进一步提高,但在培养过程中未发现不定芽的产生。在山梨、秋子梨和砀山酥梨等品种的叶片培养研究中都有直接产生不定芽的报道^[2-4],而在该研究中,中香梨在 4 种培养基上都是产生愈伤组织,无不定芽的再生,这可能与培养的品种和采用的激素组合不同有关,如刘洪章等认为 IBA 比 NAA 更适合梨叶片不定芽的诱导^[2]。

该试验在叶片愈伤组织诱导的过程中发现,将叶片直接进行培养,愈伤组织很难形成,而先将叶片在暗培养条件下预培养一段时间则有利于愈伤组织的形成,李海云等也认为暗培养预处理有利于提高叶片的再生频率^[5]。这可能与消毒剂对叶片的伤害有关,在消毒处理时酒精和升汞已对叶片产生一定的伤害,若再划伤口则更难以成活,将叶片在暗箱中预培养(4 d 左右),可缓解酒精和升汞的伤害,筛选出无菌叶片再划伤口,有利于叶片的成活。

参考文献

- [1] 戴洪义,孙敏,周爱芹,等. 中香梨授粉品种的选择[J]. 落叶果树,1990(1):36.
- [2] 刘洪章,谭雪辉,郑涛. 山梨叶片再生体系的研究[J]. 吉林农业大学学报,2008,30(4):472-476.
- [3] 杨芳,王忆,许雪峰,等. 秋子梨叶片植株再生研究[J]. 中国果树,2008(3):13-16.
- [4] 付镇芳,孟显光,张朝红,等. ‘砀山酥’梨叶片再生体系的建立[J]. 北方园艺,2011(14):98-101.
- [5] 李海云,王中伟,邢少辰,等. 早梨 18 号叶片不定芽诱导及植株再生的研究[J]. 北方园艺,2008(9):151-153.