

TDZ 和 GA₃ 对提高红叶石楠组培快繁效率的研究

吴丽君

(福建省林业科学研究院, 福建 福州 350012)

摘要: 研究苯基噻二唑 (TDZ) 和赤霉素 (GA₃) 对红叶石楠组培快繁效率的影响, 结果表明: 红叶石楠两品种继代培养能适应多种基本培养基, 在 MS、4/5MS 和 B₅ 3 种基本培养基中, 红叶石楠的继代增殖率均达到 3.0 以上; 在继代培养中, TDZ、GA₃ 的添加对继代周期、年增殖率均有显著影响, 但对增殖倍率没有显著影响; 在生根培养基中添加 GA₃ 有效地缩短生根诱导时间及生根培养时间, 提高红叶石楠的组培快繁效率, 降低组培苗的生产成本。

关键词: 苯基噻二唑; 赤霉素; 红叶石楠; 继代周期; 增殖倍率; 生根时间; 快繁效率

中图分类号: S 723.1

文献标识码: A

**Effectiveness of TDZ and GA₃ on tissue culture and rapid propagation
of *Photinia Fraseri***

WU Li-jun

(Fujian Academy of Forestry, Fuzhou, Fujian 350012, China)

Abstract: Subculture cycle, proliferation rate, annual proliferation coefficient, rooting rate, rooting-culture time and re-planting survival rate are important indices for the efficiency of tissue culture and rapid propagation. These factors were studied to evaluate the effect of TDZ and GA₃ on stem tissue culture and rapid propagation of *Photinia fraseri*. The results showed that several basic media were suitable for the proliferation culture of the 2 varieties of *P. fraseri*. In 3 media, i. e., MS, 4/5MS and B₅, the proliferation rates were greater than 3.0. Among the subcultures, addition of TDZ and GA₃ had a significant effect on both subculture cycle and annual proliferation coefficient, but no significant effect on proliferation rate. On the rooting culture, the supplement of GA₃ shortened the root-inducing and rooting-culture time, improved micropropagation efficiency for *P. fraseri*, and reduced the cost of seedlings by tissue culture.

Key words: TDZ; GA₃; *Photinia fraseri*; subculture cycle; proliferation rate; rooting-culture time; propagation efficiency

苯基噻二唑 (N-Phenyl-N'-1, 2, 3-thiadiazol-5-ylurea; Thidiazuron) 即 TDZ, 是西德 Schering 公司人工合成的一种新的植物生长调节剂, 其有效成分为苯基脲重氮噻唑衍生物^[1-3], Mok 认为 TDZ 具有强的细胞分裂活性^[4]。赤霉素 GA₃ 对植物生长最突出的作用是促进茎的伸长, 特别对遗传矮化型效果更为明显^[5]。

红叶石楠 (*Photinia fraseri*), 也称紫叶石楠^[6], 属蔷薇科石楠属的常绿小乔木^[7], 具有生长迅速, 耐修剪, 株形紧凑, 萌芽力强, 适生范围广等特点。因其新叶四季鲜红亮丽, 配合修剪可常年保持极其醒目的鲜红色, 是园林绿化中珍贵的常绿彩叶树种。我国常见的红叶石楠有“红罗宾”

(Red Robin) 和光叶石楠“鲁宾斯”(Rubens) 2 个品种, 目前这 2 个优良品种的繁殖方式主要有播种、扦插、水培等常规技术^[8-9]。由于扦插、水培等常规无性繁殖方式存在插条生根时间长、生根率低、繁殖速度慢、季节限制、占地面积大等限制因素, 红叶石楠组培技术的开发研究掀起了热潮, 有关红叶石楠组培快繁技术研究已有许多报道^[10-15], 但这些研究主要采用常规嘌呤型细胞分裂素如 6-BA 等促进芽苗的增殖。TDZ 和 GA₃ 激素在红叶石楠组培中的应用还未见报道。本研究旨在通过细胞分裂素 TDZ 和赤霉素 GA₃ 两种激素的应用, 提高红叶石楠组培继代增殖系数、缩短继代周期、提高生根培养效率、降低组培苗的成本, 进

一步促进红叶石楠组培技术的成熟与推广应用。

1 材料与方 法

1.1 材料来源及无菌材料的建立

参试的红叶石楠品种由浙江森禾种业股份有限公司提供。红叶石楠生长季长, 外植体采集基本不受季节限制, 四季均可采集; 为降低外植体诱导污染率, 应尽可能选取当年生的幼态萌条, 外植体无菌消毒参照常规的无菌消毒程序; 在超净工作台上, 将消毒处理好的茎段两端切口切除仅保留约 0.8 cm 长的单芽茎段, 接种在配制好的诱导培养基上, 诱导培养基选用 MS 和 B_5 为基本培养基。诱导所获得的单芽或丛生芽作为试验材料。

1.2 继代增殖培养基的筛选

将诱导所获得的丛生芽苗切成单芽转接到 MS、4/5MS、1/2MS、 B_5 、 B_1 等 5 种基本培养基, 各培养基均附加 6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的激素浓度组合。转接 40 d, 统计芽苗增殖倍率, 每种培养基随机抽取 5 瓶继代苗共 35 丛芽苗, 统计各基本培养基继代苗的平均增殖倍率, 测定其芽苗平均高 (苗高低于 0.6 cm 的芽苗不在统计范围)。根据芽苗增殖率及生长势确定适宜的基本培养基。以 B_5 为基本培养基, 与 6-BA 2.0 、 1.5 、 1.0 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 4 个浓度、NAA 0.1 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2 个浓度进行正交组合形成 8 种继代增殖培养基, 培养 40 d 后, 统计 8 种继代增殖培养基的平均芽苗增殖倍率 (苗高低于 0.6 cm 的芽苗不在统计范围), 筛选适宜的 6-BA、NAA 激素组合。

1.3 TDZ 和 GA_3 对带腋芽的小芽苗增殖效率的影响

以长 1.0 cm 以上单株芽苗 (继代苗) 或芽苗茎段为材料, 选用 MS 和 B_5 为基本培养基, NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 以 B_5 + 6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基为对照, 设计以添加细胞分裂素 TDZ $0.005 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个浓度梯度和赤霉素 GA_3 0 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 形成 9 种培养基 (表 1), 观察、统计、分析 TDZ、 GA_3 2 种植物生长调节剂对红叶石楠继代增殖倍率与继代周期的影响。

1.4 GA_3 对生根诱导时间及生根培养时间的影响

选取高 2.0 cm 以上的小芽苗转接入生根培养基进行根的生诱导试验。生根培养基以 B_5 + ABT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为对照培养基, 在此基础上添加 GA_3 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2 个

浓度水平形成 3 种组合的生根培养基, 评价 GA_3 对苗高、生根诱导时间及生根培养时间的影响。当 80% 以上丛生小芽苗高达 2.0 cm 时, 作为继代周期及继代增殖倍率的统计调查时间 (苗高低于 0.6 cm 的芽苗不在统计范围)。

1.5 培养条件

继代培养基均附加 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 白糖, 生根培养基附加 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 白糖, 培养基以附加琼脂 $5.5 \sim 6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 为固化剂, pH 值均调制为 $5.7 \sim 5.8$ 。培养室白天温度为 $(27 \pm 2)^\circ\text{C}$, 夜间温度控制在 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。继代培养主要以日光灯照明, 光强约为 $1500 \sim 2000 \text{ lx}$ 。生根培养前 7 d 可放置在培养室无直接光源的位置, 生根培养 15 d 后应以自然散射光为辅助光源, 光强约为 3000 lx 。

2 结果与分析

2.1 继代增殖培养基的筛选结果

各基本培养基总的平均增殖倍率及总芽苗平均高统计结果如图 1。5 种基本培养基中, 平均继代增殖倍率均大于 3.0 且平均芽苗高大于 1.5 cm 的基本培养基为 MS、4/5MS 和 B_5 培养基, 这 3 种培养基上继代芽苗生长健壮、芽苗叶色浓绿, 均是红叶石楠较理想的基本培养基, 其中 B_5 应是首选。在 1/2MS 和 B_1 两种培养基上, 培养 20 d 内并未见芽苗生长异常, 25~30 d 后, 就可见芽苗叶色转淡, 有的甚至黄化, 这可能与 1/2MS 和 B_1 培养基中大量元素含量过低有关。

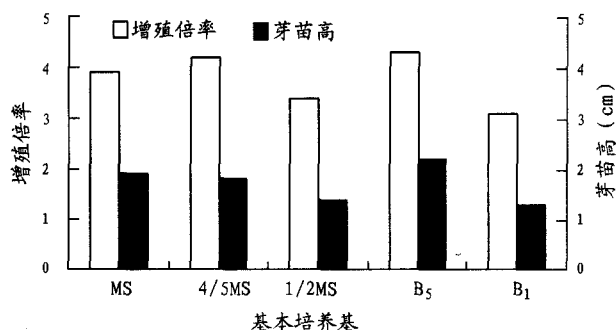


图 1 不同基本培养基的平均继代增殖倍率及平均芽苗高
Fig. 1 Average subculture proliferation rate and height of buds in different basic media

从图 2 可看出, 在 B_5 培养基附加生长素 NAA 2 种不同浓度下, 红叶石楠的继代增殖倍率均随受着细胞分裂素 6-BA 浓度的降低而降低, 6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合增殖倍率最高, 此外该培养基中每丛芽苗约有 2~3 个小于

0.6 cm 小芽苗, 这有利于提高连续继代的芽苗增殖倍率, $B_5 + 6-BA\ 2.0\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ 0.5\ mg \cdot L^{-1}$ 应是持续增殖的首选培养基。而在 $6-BA\ 0.5 \sim 1.0\ mg \cdot L^{-1}$ 与 $NAA\ 0.1 \sim 0.5\ mg \cdot L^{-1}$ 组合中增殖培养 40 d 后, 均不见有小于 0.8 cm 的小芽苗, 芽苗平均高可达 2.5 cm, 因此 $B_5 + 6-BA\ 0.5 \sim 1.0\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ 0.1 \sim 0.5\ mg \cdot L^{-1}$ 培养基是小芽苗转接生根前较为理想的壮苗继代培养基。

2.2 TDZ 和 GA_3 对带腋芽的小芽苗增殖效率的影响

对表 1 中第 1、2、3、4 试验号数据分析可见, 以不同浓度 TDZ 取代 6-BA 也可达到同样芽苗增殖目的, 一定浓度范围内, 增殖倍率随着 TDZ 浓度的提高而提高, 浓度为 $0.005\ mg \cdot L^{-1}$ 的 TDZ 即相当于 $2.0\ mg \cdot L^{-1}$ 的 6-BA 的效果, 在添加 TDZ $0.01 \sim 0.1\ mg \cdot L^{-1}$, 即有大量的玻璃苗的产生。同时试验结果表明激素种类不同, 芽苗分化增殖方式也有所不同, 单独以 6-BA 为分裂素的培养基中, 芽苗主要源于芽苗茎基部所产生的愈伤组

织。在附加 TDZ 的组合, 芽苗基部产生的愈伤组织较大, 芽苗不仅源于基部愈伤组织, 同时可见从小芽苗节间诱导产生不定芽。在同时附加 GA_3 的激素组合中, 发现大量小芽苗的腋芽萌发, 且分化的丛生芽苗生长快, 大大缩短继代周期。

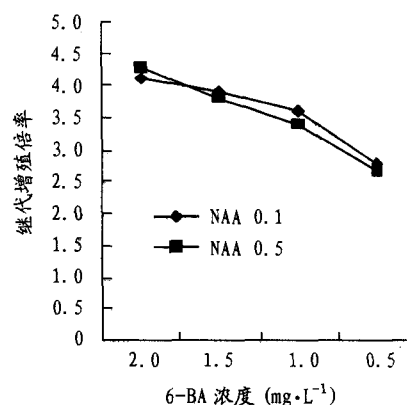


图 2 BA 与 NAA 激素组合对继代增殖倍率的影响

Fig. 2 Effect of combination of hormone BA and NAA on subculture proliferation rate

表 1 TDZ、6-BA、NAA、 GA_3 激素组合对继代增殖倍率、继代周期及芽苗分化方式的影响

Table 1 Effect of combination of TDZ, 6-BA, NAA and GA_3 on proliferate rate, subculture cycle and bud differentiation

试验号	6-BA ($mg \cdot L^{-1}$)	NAA ($mg \cdot L^{-1}$)	TDZ ($mg \cdot L^{-1}$)	GA_3 ($mg \cdot L^{-1}$)	继代周期 (d)	增殖倍率	玻璃苗 (%)	年增殖率	年增殖率 从大到小序号
CK	2.0	0.5	0	0	38±2	4.3	0	3.87 ^{9.6}	
1	0	0.5	0.005	0	38±2	4.5	0	4.05 ^{9.6}	5
2	0	0.5	0.01	0	42±2	5.2	13%	4.00 ^{8.7}	
3	0	0.5	0.1	0	48±2	6.1	37%	3.23 ^{7.6}	
4	2.0	0.5	0.005	0	35±2	5.9	0	5.31 ^{10.4}	3
5	2.0	0.5	0.01	0	40±2	6.4	24%	4.22 ^{9.1}	6
6	2.0	0.5	0.1	0	47±2	7.3	44%	3.36 ^{7.7}	
7	2.0	0.5	0.005	0.1	28±2	6.5	0	5.85 ¹³	1
8	2.0	0.5	0.01	0.1	31±2	6.8	16%	5.03 ^{11.8}	2
9	2.0	0.5	0.1	0.1	36±2	7.5	32%	4.35 ^{10.1}	4

注: 年增殖率 = [增殖倍率 × (1 - 10% - 玻璃苗 %)]^{年增殖代数}, 其中 10% 为每次继代污染率, 年增殖代数 = 365 d / 继代周期。

对表 1 中第 4 至第 9 试验号继代周期和芽增殖倍率进行方差分析, 结果表明: 继代周期 $F(TDZ) = 25.33 > F_{0.05}(2, 2) = 19.0$, $F(GA_3) = 60.75 > F_{0.05}(1, 2) = 18.5$, 可见 TDZ 与 GA_3 两因素对继代周期有显著的影响效果, 但对增殖倍率影响不显著。年增殖率是反映组培快繁效率的综合性指标, 从年增殖率的计算公式可分析, 继代周期是年增殖率的重要影响指数。根据表

1 中年增殖率大小序号 (对大于对照组年增殖率 3.87^{9.6} 的年增殖率进行排序), 可以推断第 7 试验号应是最理想的激素组合, 其年增殖率为对照组 (CK) 上万倍。可见 TDZ 与 GA_3 两种激素的添加大促进了红叶石楠组培快繁效率。获得最高快繁效率的培养基为 $B_5 + BA\ 2.0\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ 0.5\ mg \cdot L^{-1} + TDZ\ 0.005\ mg \cdot L^{-1} + GA_3\ 0.1\ mg \cdot L^{-1}$ 。

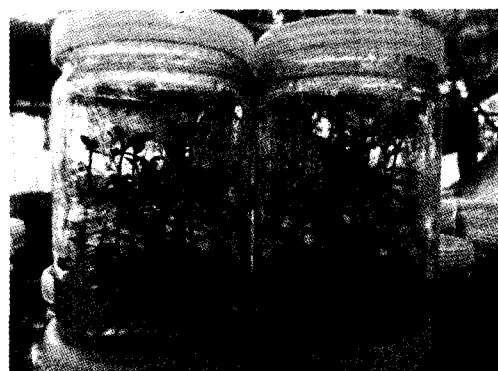
2.3 GA_3 对生根诱导时间、生根培养时间的影响

红叶石楠根的生根培养对培养基及激素种类浓度组合具有较为广泛的适宜。本试验用 $B_5 + ABT 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基同样获得 95%~100% 的生根率, 黄美娟等用附加

$IBA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 White 培养基获得 95% 的生根率^[10]。段祖安等采用 1/2MS 附加 $ABT 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 或 $NAA 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基可获得 100% 的生根率^[13]。可见红叶石楠生根率已不是限制其快繁的主要因素。



无附加 GA_3 的生根培养基培养 25 d 的生根苗



附加 GA_3 的生根培养基培养 25 d 的生根苗

图3 GA_3 对红叶石楠苗高的影响

Fig. 3 Effect of GA_3 supplement on seedling height

表2 GA_3 对根诱导时间、生根培养时间的影响

Table 2 Variance analysis of subculture cycle and multiplication rate with supplement of TDZ and GA_3

试验号	ABT	IBA	GA_3	根诱导时间 (d)	苗高 4 cm 的 生根培养时间 (d)
1	1.0	0.1	0	12~15	32~35
2	1.0	0.1	0.05	9~11	22~23
3	1.0	0.1	0.1	7~10	20~22

在生根培养阶段, 诱导生根时间及生根培养时间是影响红叶石楠快繁效率的重要因素。红叶石楠有效芽苗转入 $B_5 + ABT 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 生根培养基, 需要 12~15 d 的根诱导时间, 才可见到红色的根芽眼; 28 d 后, 约有长 1.5 cm 以上的根 3~4 条, 但芽苗的高生长不明显, 平均苗高约 2.5~3.0 cm。在原生根培养基上附加赤霉素 $GA_3 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 或 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的生根培养基上, 根原基的诱导时间约为 7~11 d, 比对照培养基提早 5 d; 培养 28 d, 约有长 2.0 cm 以上的根 4~5 条, 且苗平均高达 6 cm, 是根长的 3 倍。可见添加赤霉素 GA_3 不仅促进根的诱导和根的生长, 对苗高也有明显的促进作用 (图 3)。假定红叶石楠合格生根瓶苗的苗高为 4 cm, 以上 3 种生根培养基培养合格生根瓶苗所需的时间 (生根培养时间) 列表 2, 可见添加 GA_3 的生根培养基对对照培养基的生根培养时间缩短 15 d 左右, 这对

整个育苗周期的缩短、提高快繁效率具有重要的作用; 同时苗高约 4 cm 的生根瓶苗, 根长约 1.2 cm 左右, 此时移栽成活率可高达 95%~100%。值得注意的是, 由于 GA_3 激素的添加, 小苗生长迅速, 生根瓶苗对光照的要求也相对较高, 在日光灯辅以自然散射光是必要的。

3 小 结

3.1 红叶石楠两品种继代培养能适应多种基本培养基, 在 MS、4/5MS 和 B_5 三种基本培养基中, 红叶石楠的继代增殖率均达到 3.0 以上; 理想的继代增殖培养基为 $B_5 + 6-BA 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。小芽苗转接生根前较为理想的壮苗继代培养基为 $B_5 + 6-BA 0.5 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.1 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.2 TDZ 与 GA_3 两种激素的添加大大促进了红叶石楠组培快繁效率, 获得最高快繁效率的培养基为 $B_5 + BA 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + TDZ 0.005 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + GA_3 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.3 在生根培养基中添加 GA_3 不仅促进根的诱导, 根的生长, 对苗的高生长也有明显的促进作用。

参考文献:

- [1] 周俊彦, 郭扶兴. 苯基胍衍生物的细胞分裂素活性 [J]. 植物生理学通讯, 1990, 26 (4): 7~13.

- [2] 陈宗礼, 齐向英, 张向前, 等. TDZ 和 6-BA 对枣树继代培养的影响 [J]. 西北农业学报, 2006, 15 (3): 162-165.
- [3] 张宗勤, 董丽芬, 张波, 等. TDZ 对树莓微繁殖的影响 [J]. 经济林研究, 2004, 22 (4): 50-52.
- [4] MOK M C. Cytokinin activity of N-Phenyl-N'-1, 2, 3-thiadiazol-5-ylurea (Thidiazuron) [J]. Phytochemistry, 1982, 21: 1509-1511.
- [5] 潘瑞炽. 植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [6] 张虎, 王润贤, 邱国金, 等. 紫叶石楠的组织培养与快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2003, 39 (1): 34.
- [7] 潘晓东. 红叶石楠栽培技术及其园林应用前景 [J]. 绿色中国, 2003, 163: 61.
- [8] 朱玉球, 童再康, 黄华宏. 红叶石楠硬枝水培生根试验 [J]. 浙江林学院学报, 2004, 21 (1): 28-32.
- [9] 江灶发. 桃叶石楠的育苗技术及苗木生长规律研究 [J]. 江西林业科技, 2003, 5: 4-5.
- [10] 黄美娟, 邓小梅, 符树根. 红叶石楠“红罗宾”组培快繁技术研究 [J]. 江西农业大学学报, 2003, 25 (4): 604-607.
- [11] 邓小梅, 黄敏仁, 王明麻. 红叶石楠“红罗宾”的组培高效再生系统的建立 [J]. 江西林业科技, 2004, 4: 19-21.
- [12] 姜昱丞, 张同庆, 郑文德. 石楠组织培养及植株再生 [J]. 许昌师专学报, 1999, 18 (5): 80-83.
- [13] 段祖安, 齐建国, 张承庆. 石楠的组培快繁研究 [J]. 山东林业科技, 2000, 4: 19-21.
- [14] 轩志敏. 红叶石楠组培繁殖技术研究 [J]. 科技园地, 2004, 4: 8-9.
- [15] 于永根, 李玉祥, 秦昕祺. 红叶石楠组培苗移栽管理技术 [J]. 浙江林业科技, 2002, 22 (5): 43-45.

(责任编辑: 林树文)