

火艳石楠组织培养快繁技术研究

刘粉莲^{1,2}, 杨淑慎^{1*}, 宋西德¹, 张端伟¹, 张永丽²

(1. 西北农林科技大学, 陕西 杨陵 712100; 2. 杨凌职业技术学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:采用“火艳石楠”的一次枝、二次枝作为不同外植体,研究了无菌培养体系建立、增殖培养和生根培养技术,结果表明:建立无菌系适宜的外植体为3月中、下旬萌发的腋芽,污染率小,诱导率高;幼苗茎段在 $MS+2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}6\text{-BA}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{KT}$ 增殖效果最好,增殖系数可达到5.8;适宜的生根培养基为 $1/MS+0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{NAA}+0.2\sim0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{IBA}$,生根率为59.7%~70.0%。

关键词:火艳石楠;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S687.103

文献标识码:A

文章编号:1001-7461(2008)03-0123-04

Studies on Technique for Rapid Propagation of *Photinia fraseri* cv. *camelvy*

LIU Fen-lian^{1,2}, YANG Shu-shen¹, SONG Xi-de¹, ZHANG Duan-wei¹, ZHANG Yong-li²

(1. Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Journal of Yangling Vocational & Technical College, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The young stem apexes of the first branch and the second branch of *Photinia fraseri* cv *camelvy* were used as different explants to establish sterile culture system, proliferation culture and rooting culture. The results showed that buds which were plucked in March were easier to induce axillary buds, because of less contamination rate and high induce rete; axillary buds could be induced on $MS+6\text{-BA } 2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{KT } 0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ from juvenile stems, and the propagation rate up to 5.8; $1/MS+\text{NAA } 0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{IBA } 0.2\sim0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ was suitable for inducing roots, with the rooting rate up to 59.7%~70.0%.

Key words: *Photinia fraseri* cv. *camelvy*; tissue culture; rapid propagation

红叶石楠(*Photinia fraseri*)属蔷薇科石楠属的杂交品种^[1-3],为常绿小乔木,春秋季节新梢和嫩叶鲜红持久,园林观赏价值高。红叶石楠栽培品种、变种或杂交种较多,园林中常见的有红罗宾(*P. × fraseri* Red Robin)、红唇(*P. × fraseri* Red Tip)、鲁宾斯(*P. glabra* var. *Rubens*)^[3-4]等,火艳石楠(*P. fraseri* cv *camelvy*)是较红罗宾、红唇和鲁宾斯颜色更红、长势更旺盛的新品种,具有很强的生态适应性,不仅耐低温、耐土壤瘠薄,还有一定的耐盐碱性和耐干旱能力;性喜强光,也有很强的耐荫能力。从黄河以南至广东均可正常生长,病虫害较少,与我国的原生石楠相比,具有较强的杂种优势。目

前,在欧洲已基本取代了其他红叶石楠品种,被誉为“红叶绿篱之王”。火艳石楠的发展潜力巨大,有广阔的发展前景^[5-6]。但火艳石楠引自国外,资源稀少,且为杂交种,采用常规扦插繁殖,繁殖速度慢;种子繁殖变异大,大大限制了其推广进程。通过组培研究,建立一套经济、高效的火艳石楠快繁技术体系,为实现工厂化生产奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料

试验材料为超盛园艺科技公司2005年1月引入杨陵地区栽培的“火艳石楠”当年生一次枝、二次

收稿日期:2008-03-03 修回日期:2008-04-13

作者简介:刘粉莲(1962-),女,陕西澄城人,教授,主要从事植物栽培学的教学与研究工作。

* 通讯作者:杨淑慎。

枝的腋芽和叶片。

1.2 方法

1.2.1 材料处理 3月下旬和5月中旬,在晴天的上午采集火艳石楠当年生一次枝、二次枝的腋芽,选取嫩枝先端未木质化和半木质化部分,剪成带芽茎段,茎尖部分可保留半张小叶,用饱和洗衣粉溶液浸泡3 min,清水冲洗后备用。

1.2.2 不同外植体培养 3月中、下旬和5月中旬,采集火艳石楠当年生一次枝、二次枝的腋芽和叶片。预处理后,70%的酒精消毒30 s,无菌水冲洗3次,用0.1%升汞灭菌8 min,无菌水再冲洗4~6次,于超净工作台上切取腋芽茎段,接种于MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹上培养,每瓶培养基接种1个外植体,每个处理接种30瓶,重复3次,随时观察记载成苗情况,40 d后统计成苗数及诱导率。

1.2.3 增殖培养 (1)6-BA对火艳石楠不定芽增殖培养的影响。初代培养形成的芽长至5~6个叶片时,切成带1个叶片的茎段,接入增殖培养基中进行培养。增殖培养基以MS为基本培养基,附加不同浓度的6-BA(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg·L⁻¹),每瓶接5个芽,重复6次。接种后随时观察出芽情况,30 d后统计芽增殖数。

(2)KT对火艳石楠增殖培养的影响。初代培养形成的芽长至5~6个叶片时,切成带1个叶片的茎段,接入增殖培养基中进行培养。增殖培养基以MS为基本培养基,附加不同浓度KT(0.2、0.5、1.0、1.5 mg·L⁻¹),每瓶接5个芽,重复4次。接种后随时观察出芽情况,30 d后统计芽增殖数。

(3)KT和6-BA组合对火艳石楠不定芽增殖培养的影响。初代培养形成的芽长至5~6个叶片时,切成带1个叶片的茎段,接入增殖培养基中进行培养。增殖培养基以MS为基本培养基,附加不同浓度的KT和6-BA。其中KT设置0.2、0.5、1.0 mg·L⁻¹3个浓度梯度,6-BA设置1.0、2.0、3.0 mg·L⁻¹3个浓度梯度。每瓶接5个芽,重复4次。接种后随时观察出芽情况,30 d后统计芽增殖数。

1.2.4 生根培养 (1)NAA、IBA对火艳石楠生根的影响。将初代培养及增殖培养中形成的健壮无根苗接入生根培养基中进行培养。生根培养基以1/2MS为基本培养基,分别附加不同浓度的NAA和IBA。NAA和IBA均设置5个浓度梯度:0、0.2、0.5、0.8、1.0 mg·L⁻¹,每瓶接5个芽,重复6次。接种后随时观察生根情况,30 d后统计生根率及根生长情况。

(2)NAA和IBA配合使用对火艳石楠生根的影响。将初代培养及增殖培养中形成的健壮无根苗接入生根培养基中进行生根培养。生根培养基以1/2MS为基本培养基,附加不同浓度的IBA、NAA。其中,IBA设置0.2、0.4、0.6 mg·L⁻¹3个浓度梯度,NAA设置0.2、0.5、0.8 mg·L⁻¹3个浓度梯度。每瓶接5个芽,重复6次。接种后随时观察生根情况,30 d后统计生根率及根生长情况。

培养条件为:蔗糖20~30 g·L⁻¹,琼脂4.0~4.5 g·L⁻¹,pH 5.8~6.0,培养温度25±1℃,光照强度2 000 lx,每天光照14 h。

2 结果与分析

2.1 不同外植体对芽诱导的影响

研究表明,以茎段为外植体时,3月中、下旬采取的一次枝和5月中旬采取的二次枝均有芽苗生成。其中,一次枝茎段诱导率达76.7%,污染率3.33%;二次枝茎段诱导率为36.7%,污染率为13.3%。以叶片为外植体时,一次枝和二次枝成苗数和诱导率均为零,污染率一次枝为零,二次枝为20%。表明茎段为适宜的外植体,且一次枝比二次枝污染率低。

2.2 增殖培养

2.2.1 6-BA对火艳石楠增殖培养的影响 对火艳石楠茎段增殖培养表明(表1),腋芽萌发能力随着6-BA浓度的升高而增强,增殖系数迅速增大。当6-BA分别为1.0、1.5、2.0、2.5 mg·L⁻¹时,增殖系数由2.4上升为5.0;当6-BA浓度达到3.0时,增殖系数下降为2.2。表明选用适当浓度的6-BA有利于芽的再生。

表1 6-BA对增殖培养的影响

Table 1 Effect of different concentration of 6-BA on shoots induction

6-BA 浓度 /(mg·L ⁻¹)	接种数 /个	平均生成不 定芽数/个	芽苗生长情况
1.0	20	2.4C	苗粗壮,叶大
1.5	20	4.5B	苗粗壮,叶大
2.0	20	4.6B	苗粗壮,叶较大
2.5	20	5.0A	苗粗壮,叶较大
3.0	20	2.2C	苗粗壮,叶较小

不同浓度6-BA处理时,形成的不定芽数差异极显著($P<0.01$)。多重比较(表1)表明,6-BA浓度为2.5 mg·L⁻¹时,生成的不定芽数显著大于其

他浓度。

2.2.2 KT对火艳石楠增殖培养的影响 由图1可知,不定芽数随KT浓度的增加而增加;芽苗高度随着KT浓度的增加呈先升高后降低的趋势,当KT浓度由 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 上升到 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,芽苗平均高度由 2.6 cm 增加到 3.1 cm ,此后,随着KT浓度的增大,芽苗高度降低。

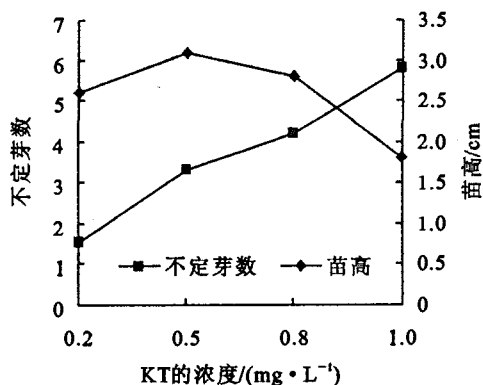


图1 KT对增殖培养影响

Fig. 1 Effect of different concentrations of KT on shoots induction

表2 6-BA与KT不同浓度对比对芽增殖的影响

Table 2 Effect of different concentrations of KT and 6-BA on shoots induction

6-BA/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	KT/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	接种数/个	平均分化不定芽数/个	芽苗生长情况
1.0	0.2	20	3.0	细弱、偏黄、叶小
1.0	0.5	20	3.8	较粗、淡绿色、叶小
1.0	1.0	20	4.2	细弱、偏黄、叶小
2.0	0.2	20	4.9	细弱、绿色、叶小
2.0	0.5	20	5.8	较粗、浓绿、叶小
2.0	1.0	20	5.1	粗壮、绿色、叶小
3.0	0.2	17	5.3	玻璃化
3.0	0.5	17	5.1	玻璃化
3.0	1.0	17	4.9	玻璃化

不同浓度6-BA对增殖倍数的多重比较表明,6-BA浓度为 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 间差异不显著, $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 均与 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 差异显著。对于KT,虽然各浓度处理间差异不显著,但仍可直观看出,当6-BA浓度为 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,KT浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,增殖系数较高,为比较适宜的激素配比。

2.3 生根培养

2.3.1 NAA、IBA对火艳石楠生根的影响 由图

对不同浓度KT时形成的不定芽数进行多重比较,结果表明,在5%水平上, 1.0 、 0.8 、 0.5 、 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间均有显著差异。对苗高的多重比较表明,在5%水平上, $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 0.8 、 0.2 、 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间差异显著, $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间差异不显著。

可以看出,KT浓度为 $0.5\sim 0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时有利于不定芽的产生和伸长生长,可进一步试验确定更加适宜的浓度。

2.2.3 KT和6-BA组合对火艳石楠不定芽增殖培养的影响 由表2知,当6-BA的浓度为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,增殖系数随着KT浓度的增加而增加;当6-BA的浓度为 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,增殖系数随KT浓度的增加呈先升高后降低的趋势,其中,KT浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,增殖系数最大(5.8),且芽苗茁壮,色泽健康;当6-BA浓度为 $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,增殖系数随KT浓度的增加呈逐渐降低的趋势,且有玻璃化现象。因此,6-BA浓度为 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、KT浓度为 $0.5\sim 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时不利于不定芽增殖。

2知,在附加NAA的培养基上,生根率随着NAA浓度的增加呈现先升高后降低的趋势;而在附加IBA的培养基上,当浓度为 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,生根率最高,为45.33%,此后随着浓度的增加,生根率降低。

可以看出,NAA和IBA对根的诱导都有一定的影响。同时,在试验中观察到,无论是NAA还是IBA,随着浓度的增加,芽苗基部的愈伤组织量随之增加,导致根系生长质量下降,这也是生根率随之降

低的主要原因。

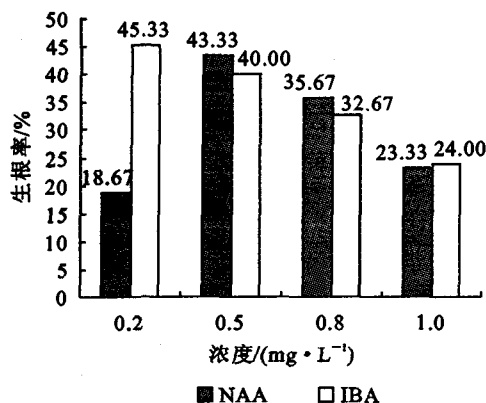


图2 NAA 和 IBA 对生根的影响

Fig. 2 Effect of different concentration of NAA or IBA on root induction

表3 NAA 与 IBA 不同浓度对比对芽增殖的影响

Table 3 Effect of different concentrations of NAA and IBA on root induction

NAA/(mg · L ⁻¹)	IBA/(mg · L ⁻¹)	接种数/个	生根率/%	根系质量
0.2	0.2	30	48.3	纤细
0.2	0.4	30	54.7	一般
0.2	0.6	30	20.3	一般,基部有少量愈伤组织
0.5	0.2	30	39.3	细
0.5	0.4	30	30.7	纤细,基部有少量愈伤组织
0.5	0.6	30	11.3	一般,有少量愈伤组织
0.8	0.2	30	70.0	一般
0.8	0.4	30	59.7	细
0.8	0.6	30	49.3	细,有少量愈伤组织

3 结论与讨论

适宜于火艳石楠组织培养的外植体为3月中、下旬萌发的腋芽。增殖培养基为MS+2.0 mg · L⁻¹6-BA+0.5 mg · L⁻¹KT;生根培养基为1/MS+NAA 0.8 mg · L⁻¹+0.2~0.4 mg · L⁻¹IBA。

研究中发现,3月份采集的腋芽作为外植体比较适合,主要是由于材料比较幼嫩,纤维化和木质化程度较低,对于培养基和培养条件反应比较敏感,容易诱导愈伤组织的产生和器官的分化。说明外植体取用的部位、季节、发育阶段、质量等都对消毒、器官分化有一定影响。

增殖培养中激素的种类和浓度制约着芽的增殖,这与王正加等^[7](2003)在研究月季组织培养中的影响因素相一致。另外,在试验中发现,火艳石楠增殖中丛芽簇生比较多,何家涛等认为,加入GA可解决红叶石楠增殖中的丛芽簇生问题^[8],有待于进一步试验。

生根培养中,随着激素浓度的升高,茎尖基部不同程度的生成一些愈伤组织,根系生长质量下降^[9]。

2.3.2 NAA 和 IBA 配合对火艳石楠生根影响

NAA 与 IBA 不同浓度配比时生根率的方差分析表明,NAA 与 IBA 处理间差异极显著。不同浓度 NAA 对生根率的多重比较表明,5%水平上,NAA 浓度为0.8 mg · L⁻¹与0.2 mg · L⁻¹和0.5 mg · L⁻¹间差异显著,0.2 mg · L⁻¹和0.5 mg · L⁻¹之间差异不显著。IBA 不同浓度时生根率的多重比较表明,5%水平上,IBA 浓度为0.2 mg · L⁻¹与0.4 mg · L⁻¹均与0.8 mg · L⁻¹间差异显著,0.2 mg · L⁻¹和0.4 mg · L⁻¹之间差异不显著。因此,当 NAA 与 IBA 配合使用时,适宜的培养基为1/2MS+NAA0.8 mg · L⁻¹+IBA0.2~0.4 mg · L⁻¹(表3)。生根率为59.7%~70.0%。

给进一步驯化移栽带来了困难。

加入活性炭对不定根的分化具有良好的促进作用^[9],CCC 的加入也可以提高根系质量^[10],在后续研究中将从此着手,进一步提高生根质量。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学技术出版社,1998.
- [2] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京: 中国林业出版社,1994:56.
- [3] 袁军辉. 花秀树美话石楠[J]. 中国花卉园艺,2002(1):31.
- [4] 吴平,赵渊. 红叶石楠不同品种生物特性比较[J]. 现代园艺,2007(8):12-13.
- [5] 潘晓东. 红叶石楠栽培技术及其园林应用前景[J]. 绿色中国,2003,13(8):23.
- [6] 芦建国 连洪燕. 红叶石楠在园林中的应用[J]. 园艺博览,2007(1):40-41.
- [7] 王正加,高云振,李军萍. 月季组织培养过程中的影响因素[J]. 浙江林业科技,2003,23(4):51-56.
- [8] 何家涛,王会. 红叶石楠离体培养技术研究[J]. 贵州农业科学,2006,34(1):40-41.
- [9] 朱建华. 红叶石楠的组织培养研究[J]. 宁波职业技术学院学报,2005,9(5):78-80.
- [10] 魏和平,赵凯. 红叶石楠组织培养快速繁殖技术研究[J]. 安徽林业科技,2006(1):2-4.