

文章编号:1007-4961(2008)03-0241-04

灯台树组培快繁技术研究

冯丽娜¹, 郝爱丽¹, 路丙社¹, 白志英²,
蔡胜文¹, 冯 蕾¹, 王 晨³

(1 河北农业大学 园林与旅游学院, 河北 保定 071001;

2 河北农业大学 生命科学学院, 河北 保定 071001; 3 河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071001)

摘要:以灯台树带顶芽的茎段为外植体,进行了组培快繁研究。结果表明,启动培养基采用 WPM + BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L + GA₃ 1 mg/L为宜;继代增殖培养基采用 M + BA 1 mg/L + IBA 0.2 mg/L + GA₃ 2 mg/L为宜,增殖系数达 4.4;生根培养则以 1/2M + IBA 3 mg/L配合 10 d 暗培养效果最好,生根率达 60.0%。

关键词:灯台树;组织培养;生长调节剂

中图分类号:S 687.9

文献标识码:A

Micropropagation of *Bothrocaryum controversum* Hemsl.

FENG Li-na¹, HAO Ai-li¹, LU Bing-she¹, BAI Zhi-ying²,
CAI Sheng-wen¹, FENG Lei¹, WANG Chen³

(1 College of Landscape Architecture and Tourism, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China; 2 College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China; 3 College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: This experiment was conducted to investigate in vitro micropropagation of *Bothrocaryum controversum* Hemsl. with the apical buds excised from the mature elite plants. The results showed that the optimum induction medium was woody plant medium (WPM) supplemented with 0.5 mg/L 6-benzylaminopurine (BA), 0.2 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) and 1 mg/L gibberellin (GA₃); and the highest shoot proliferation rate of 4.4 times was obtained on the medium M (the concentration of CaCl₂ · 2H₂O in Murashige and Skoog (MS) medium was 1 200 mg/L) supplemented with 1 mg/L BA, 0.2 mg/L IBA and 2 mg/L GA₃; and 1/2M with 3 mg/L IBA was the optimum shoot rooting medium, on which the shoots cultured 10 days in dark then transferred to the light condition had the highest rooting efficiency (60.0%).

Key words: *Bothrocaryum controversum* Hemsl. tissue culture; growth regulators

灯台树(*Bothrocaryum controversum* Hemsl.)别名六角树、女儿木,为山茱萸科灯台树属落叶乔木,树冠圆锥形,侧枝层层平展形如灯台,叶形秀丽,花白素雅,为极具应用前景的园林绿化树种。灯台树长期以来以种子繁殖为主^[1],但因种皮致密、坚硬、通气透水性差、种子休眠期长^[2],影响了苗木的生产与繁殖。本试验以灯台树茎段为试材进行组培快繁技术的研究,为其在园林绿化中更广泛应用和园艺性

状遗传改良提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料取自于河北农业大学园林树木种质资源圃生长势良好的灯台树成年实生苗。

1.2 方法

1.2.1 培养条件 启动、增殖、生根基本培养基分

收稿日期:2008-06-20;修改稿收期:2008-07-01

作者简介:冯丽娜(1981-),女,河北万全人,农学硕士,主要从事观赏植物组织培养的研究。

别为 WPM, M (MS 培养基中的 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的浓度为 1200 mg/L)^[3], $1/2\text{M}$, 附加琼脂 8 g/L , 蔗糖 30 g/L (生根培养基附加蔗糖 20 g/L); $\text{pH} 5.8 \sim 6.2$, 温度 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光周期 (昼/夜) $14/10 \text{ h}$, 光照强度约 $40 \text{ mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

1.2.2 材料处理 于 2007 年 3 月初, 取 1 a 生休眠枝条带回室内水培, 待休眠芽萌发出约 2.5 cm 新梢后, 剪下, 自来水冲洗干净, 用 20% 84 消毒液浸泡 15 min , 并不断摇动, 无菌水冲洗 3 次, 接种于启动培养基上。生长 30 d 后, 将其切成约 1.5 cm 长的单芽茎段接种于继代增殖培养基上。增殖后, 切取长 1.5 cm 、带 2~3 个叶片的茎段接于生根培养基进行生根诱导。

1.2.3 数据统计 每处理接种 30 个茎段, 30 d 后统计平均苗高和增殖系数 (增殖系数 = 增殖周期结束时的芽苗数/增殖周期起始时的芽苗数), 45 d 后统计生根率 (生根率 = (生根苗数/培养总苗数) $\times 100\%$)。试验数据采用 DPS 软件进行统计分析, 采用新复极差法 (SSR) 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同生长调节剂组合对试管苗启动培养的影响

以 WPM 为基本培养基, 进行 BA、IBA、NAA 与 GA_3 的不同浓度配比组合, 茎段启动培养效果不同 (见表 1)。

表 1 不同生长调节剂组合对试管苗启动培养的影响

Table 1 Effects of different growth regulators on initial culture of *Bothrocaryum controversum* Hemsl.

编号 Code	BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	IBA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	GA_3 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	平均苗高/cm Mean shoot height
A1	0.5	0.05			$1.1 \pm 0.2 \text{ cd}$
A2	0.5	0.10			$0.9 \pm 0.2 \text{ d}$
A3	0.5	0.20			$1.2 \pm 0.4 \text{ cd}$
A4	0.5		0.05		$1.2 \pm 0.2 \text{ cd}$
A5	0.5		0.10		$1.0 \pm 0.2 \text{ cd}$
A6	0.5		0.20		$0.9 \pm 0.2 \text{ d}$
A7	0.5	0.05		1	$1.1 \pm 0.2 \text{ cd}$
A8	0.5	0.10		1	$1.3 \pm 0.2 \text{ bc}$
A9	0.5	0.20		1	$1.4 \pm 0.3 \text{ ab}$
A10	0.5	0.05		2	$1.4 \pm 0.3 \text{ ab}$
A11	0.5	0.10		2	$1.5 \pm 0.4 \text{ ab}$
A12	0.5	0.20		2	$1.6 \pm 0.7 \text{ a}$

注: 基本培养基为 WPM, 每处理的芽数为 30。表中不同小写字母表示多重比较在 0.05 水平上的差异。

从表 1 可知, $0.05 \sim 0.20 \text{ mg/L}$ 的 NAA, IBA 分别单独与 BA 组合对平均苗高的影响无显著差异。添加 GA_3 后, 处理 A7~A12 中除 A7 与 A1 无显著差异外, 其他处理均显著高于无 GA_3 的处理, 说明 GA_3 对试管苗高生长有显著的促进作用。方差分析结果表明, A12 与 A9、A10、A11 培养基平均苗高无显著差异, 但浓度越高, 培养成本也越高, 因此, 综合考虑认为启动培养基宜采用 A9 培养基, 即 WPM + BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L + GA_3 1 mg/L 。

2.2 不同生长调节剂组合对试管苗增殖生长的影响

BA、IBA 和 GA_3 不同浓度配比组合的各种处理之间增殖培养效果不同 (见表 2)。

表 2 不同生长调节剂组合对试管苗增殖生长的影响

Table 2 Effects of different growth regulators on shoot proliferation of *Bothrocaryum controversum* Hemsl.

编号 Code	BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	IBA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	GA_3 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	平均苗高 /cm Mean shoot height	增殖系数 No. proliferated
B1	0.1	0.10	1.0	$1.4 \pm 0.2 \text{ bed}$	$2.3 \pm 0.3 \text{ c}$
B2	0.5	0.05	1.0	$1.3 \pm 0.3 \text{ cd}$	$2.4 \pm 0.3 \text{ c}$
B3	0.5	0.05	1.5	$1.4 \pm 0.2 \text{ bed}$	$2.3 \pm 0.2 \text{ c}$
B4	0.5	0.05	2.0	$1.5 \pm 0.3 \text{ bed}$	$2.4 \pm 0.2 \text{ c}$
B5	0.5	0.10	0.5	$1.3 \pm 0.1 \text{ cd}$	$2.5 \pm 0.3 \text{ c}$
B6	0.5	0.10	1.0	$1.4 \pm 0.2 \text{ bed}$	$2.8 \pm 0.5 \text{ c}$
B7	0.5	0.10	1.5	$1.5 \pm 0.2 \text{ bed}$	$3.0 \pm 0.4 \text{ c}$
B8	0.5	0.10	2.0	$1.8 \pm 0.3 \text{ ab}$	$3.6 \pm 0.5 \text{ b}$
B9	0.5	0.20	1.0	$1.4 \pm 0.2 \text{ bed}$	$2.5 \pm 0.3 \text{ c}$
B10	0.5	0.20	1.5	$1.5 \pm 0.3 \text{ bed}$	$2.7 \pm 0.4 \text{ c}$
B11	0.5	0.20	2.0	$1.8 \pm 0.4 \text{ ab}$	$3.7 \pm 0.5 \text{ b}$
B12	1.0	0.10	1.0	$1.3 \pm 0.2 \text{ cd}$	$2.5 \pm 0.3 \text{ c}$
B13	1.0	0.10	1.5	$1.4 \pm 0.2 \text{ bed}$	$2.4 \pm 0.3 \text{ c}$
B14	1.0	0.10	2.0	$1.9 \pm 0.4 \text{ ab}$	$3.9 \pm 0.5 \text{ b}$
B15	1.0	0.20	1.0	$1.4 \pm 0.2 \text{ bed}$	$2.5 \pm 0.4 \text{ c}$
B16	1.0	0.20	1.5	$1.3 \pm 0.2 \text{ cd}$	$2.7 \pm 0.5 \text{ c}$
B17	1.0	0.20	2.0	$2.2 \pm 0.5 \text{ a}$	$4.4 \pm 0.6 \text{ a}$

注: 基本培养基为 M, 每处理的芽数为 30。表中不同小写字母表示多重比较在 0.05 水平上的差异。

从表 2 可知, 平均苗高来看, B17 培养基平均苗高 2.2 cm , 高于其他处理, 与 B8、B11、B14 培养基无显著差异; 从增殖系数来看, B17 培养基显著高于其

他处理。因此,选择 B17 培养基,即: M 附加 BA1 mg/L + IBA 0.2 mg/L + GA₃ 2 mg/L 的组合为灯台树试管苗最佳继代增殖培养基。

2.3 生根培养

2.3.1 不同种类及浓度的生长素对试管苗生根的影响 以 1/2M 为基本培养基附加 0.1 ~ 3 mg/L 的 IBA、NAA 和 IAA 进行生根培养(见表 3)。由表 3 可以看出,随着浓度的增加,IBA 和 IAA 对根的诱导率

均呈现先上升后下降再上升的趋势,NAA 浓度为 3 mg/L 时,生根率反而下降。当 NAA 浓度为 2 mg/L 时,生根率最高达 60.0%,显著高于其他处理。但 NAA 浓度大于 0.1 mg/L 后,生根效果不理想,苗基部出现大块愈伤组织,叶片多下垂,长势弱,移栽成活率反而最低。因此,综合考虑认为处理 C5 即 1/2M 培养基附加 3 mg/L 的 IBA3 为较适宜的生根培养基。

表 3 不同生长素及浓度对试管苗生根的影响
Table 3 Effects of different auxins and its levels on rooting of *Bothrocaryum controversum* Hemsl.

编号 Code	IBA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	IAA/ (mg·L ⁻¹)	生根率/% Rooting rate	生长情况 Growth condition	苗基部状况 Base condition of the plantlets
C1	0.1			0 h		
C2	0.5			6.7 g	叶翠绿,苗壮;	无愈伤
C3	1.0			16.7 e	叶翠绿,苗壮;	无愈伤
C4	2.0			0 h		
C5	3.0			36.7 b	叶大而绿,苗壮;	少愈伤
C6		0.1		20.0 d	叶翠绿,苗壮;	无愈伤
C7		0.5		26.7 c	叶片多下垂或萎蔫,有的发黄,长势弱;	大块愈伤
C8		1.0		16.7 e	叶片多下垂、发黄,长势弱;	大块愈伤
C9		2.0		60.0 a	叶片多下垂,有的发黄,长势弱;	大块愈伤
C10		3.0		26.7 c	叶片多下垂,有玻璃化现象;	大块愈伤
C11			0.1	0 h		
C12			0.5	6.7 g	有的叶微黄,苗壮;	无愈伤
C13			1.0	13.3 f	叶大而绿,苗壮;	无愈伤
C14			2.0	6.7 g	有的叶尖枯黄,苗壮;	无愈伤
C15			3.0	26.7 c	叶大而绿,苗壮;	无愈伤

注:基本培养基为 1/2M,每处理的芽数为 30。表中不同小写字母表示多重比较在 0.05 水平上的差异。

2.3.2 黑暗预处理对试管苗生根的影响 剪取健壮的组培苗接种到 C5 生根培养基上,即: 1/2M + IBA 3 mg/L,分别进行暗培养(7 d, 10 d, 14 d)后转入正常光照下培养,45 d 后统计生根率,结果见图 1。从图 1 中可看出,在生根的初期,给以黑暗处理有助于生根,暗培养 10 d 后转入正常光照下培养,生根最好,生根率达 60.0%,极大地提高了生根率,且幼苗叶片大而绿,强壮,生长状态良好。暗培养时间至 14 d 时,生根率反而降低,幼苗生长矮小,茎叶细弱,有的试管苗的叶片甚至全部枯黄。

3 结论与讨论

本研究以灯台树带顶芽的茎段为外植体,通过比较不同浓度 BA、IBA、NAA、IAA、GA₃ 对灯台树组培快繁的影响,初步建立了灯台树的组培快繁体系。结果表明,灯台树适宜的启动培养基为: WPM + BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L + GA₃ 1 mg/L;增殖培养基为: M + BA 1 mg/L + IBA 0.2 mg/L + GA₃ 2 mg/L;生根培养基为: 1/2M + IBA 3 mg/L,配合 10 d 暗培养效果最好。

赤霉素的生理作用是诱导茎的细胞伸长和形成

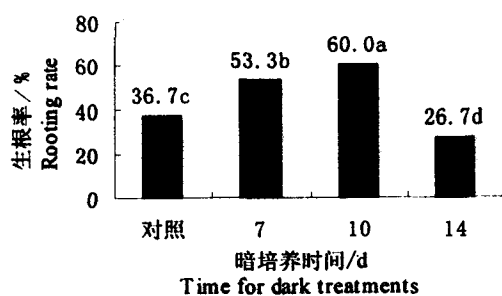


图1 暗培养对组苗生根的影响

Fig.1 Effects of dark treatments on rooting

层的细胞分化,并能刺激不定胚发育成小植株^[4]。灯台树继代增殖生长阶段存在茎段节间短、植株矮小的问题,影响增殖生长。因此,加入适宜浓度的 GA_3 对芽的伸长有明显的促进作用,与许多木本植物的研究结果一致^[5-8]。

金叶红瑞木、山茱萸、*Cornus florida* 在生根诱导上,IBA的促进作用大于NAA^[9-11]。而灯台树却是NAA对根的诱导率高于IBA、IAA,最高达60.0%,与以上3种山茱萸科的植物不同。但高浓度的NAA引起试管苗基部长满大块的愈伤组织,获得的根多长于愈伤组织上部,且苗长势弱,并不是适宜的培养基。暗培养对灯台树的生根诱导有显著的促进作用,与马和平对枸杞的研究结果一致^[12]。

参考文献:

- [1] 吴希从,温小玲.灯台树扦插繁殖技术研究[J].林业科技,2005,32(4):21-23.
- [2] 李连仁,杨玉芝,马广东.灯台树育苗技术[J].辽宁林业科技,2001(2):39.
- [3] 张明丽,李青.金叶红瑞木的组织培养与快速繁殖[J].园艺学报,2005,32(4):728.
- [4] 唐道城,梁顺祥.观赏植物组织培养研究进展[J].青海大学学报(自然科学版),2006,24(4):5-9.
- [5] 石大兴,辜云杰,王米力,等.山杜英离体培养植株再生的研究[J].园艺学报,2004,31(2):245-248.
- [6] 陈子萱,曹孜义,田福平.扁桃砧木 Nemaguard 和 Lovell 的组培快繁[J].甘肃农业大学学报,2004,39(5):524-528.
- [7] 卜朝阳. GA_3 在桉树离体培养中对芽的伸长及瓶苗质量的影响[J].广西农业科学,2004,35(4):265-268.
- [8] 金青,刘小阳,蔡永萍.植物激素对砀山酥梨脱病毒苗增殖生长的影响[J].激光生物学报,2006,15(4):378-382.
- [9] 张明丽.金叶红瑞木快繁技术研究[D].北京:北京林业大学,2004.
- [10] 李焱.山茱萸组织培养的研究[D].西安:陕西师范大学,2003.
- [11] Sharma A R, Trigiano R N, Witte W T, et al. In vitro adventitious rooting of *Cornus florida* [J]. Scientia Horticulturae, 2005, 103:381-385.
- [12] 马和平.枸杞组织培养关键技术的研究[D].兰州:甘肃农业大学,2005.

(编辑 郭丽娟)