

文章编号:1005 - 7129 (2008)04 - 0040 - 04 中图分类号:S722.3⁺7 文献标识码:A

笃斯越桔组培繁殖育苗技术研究初报

刘永富¹,陈建军²,吴俊遥¹,王龙福³,孙继平³

(1. 抚松县林业局江北苗圃,吉林 白山 134500;2. 吉林省林业科学研究院,吉林 长春 130033;3. 抚松县林业局,吉林 白山 134500)

摘要:以笃斯越桔去叶带芽嫩茎为试验材料,对长白山笃斯越桔组培繁殖育苗技术进行了研究。结果表明,笃斯越桔的外植体诱导丛生芽的最佳培养基配方为 WPM + 2ip3.0 mg L⁻¹,分化率可达 73%;最佳继代培养基配方为 WPM + 2ip15.0 mg L⁻¹ + NAA0.2 mg L⁻¹,增殖系数达 7.2 倍;最佳生根培养基配方为 1/4 MS + IBA0.10 mg L⁻¹,生根率达 97% 以上。生根小植株在阔叶腐殖土上,经温室炼苗 45 d,圃地移栽成活率可达 85.7% 以上。

关键词:笃斯越桔;组培繁殖;育苗技术

Tissue culture of *Vaccinium uliginosum* and breeding techniques

LIU Yong - fu¹, CHEN Jian - jun², WU Jun - yao¹, WANG Long - fu³, SUN Ji - Ping³

(1. Jiangbei Nursery of Fusong County Forestry Bureau, Baishan 134500, China; 2. Jilin Provincial Academy of Forestry Science, Changchun 130033, China; 3. Fusong County Forestry Bureau, Baishan 134500, China)

Abstract: Seedling techniques of tissue culture to *Vaccinium uliginosum* distributing in Changbai Mountain were studied, which taking the defoliating young branch with buds as trial materials. Results indicated that the best medium formula for inducing shoot clusters by explants was WPM + 2ip3.0 mg L⁻¹ with differentiation rate of 73%; best formula of subculture medium was WPM + 2ip15.0 mg L⁻¹ + NAA0.2 mg L⁻¹, the propagation coefficient reached 7.2 times; the best formula for the rooting medium was 1/4MS + IBA0.10 mg L⁻¹ with rooting rate of over 97%. After 45d greenhouse acclimatization in broad - leaved humus, transplanted survival rate of the rooting plantlets in nursery was up to 85.7% above.

Key words: *Vaccinium uliginosum*; propagation by tissue culture; seedling technique

笃斯越桔 (*Vaccinium uliginosum* L.), 又名甸果、地果、笃斯, 为杜鹃花科越桔属灌木, 自然分布于我国东北的大、小兴安岭及长白山林

区^[1]。在长白山区其垂直分布于海拔 700 m 以上的泥碳藓沼泽草甸中, 与苔草、落叶松、油桦、细叶杜香、越桔、蔓越桔等植物种混生, 成片集中分布呈大群落^[2,3]。由于野生笃斯越桔蕴藏量大, 分布集中, 便于采集利用, 商业开发价值很高。每当采收果实季节, 大量客商涌入长白山抢购, 由于利益驱使, 人们在采摘果实时不爱

收稿日期:2008 - 05 - 15

作者简介:刘永富 (1963 -), 男, 吉林抚松人, 助工, 主要从事林木种苗繁育工作。

护树体,掠夺式采集,给这一资源带来毁灭性灾难,自然资源量正逐年下降。为保护和合理开发这一珍稀植物资源,抚松县已启动了大面积对笃斯越桔天然群落进行封禁、人工恢复和人工栽培工作。

生产实践发现,采用笃斯越桔实生苗进行人工栽培的最大障碍是单位面积产量低,选育高产品种是解决这一问题的关键。在自然群落中,笃斯越桔浆果类型变异多,通过选种有提高品质的可能性^[3]。笔者从2000年起就在笃斯越桔天然群落中进行丰产单株的选择及评比测定工作,目前已初步选择出13个丰产结实单株,这为人工栽培及今后进一步的杂交育种奠定了一定的物质基础。为能在短期内大量繁殖这些丰产优良单株,从2005年6月起又开展了笃斯越桔组培繁殖育苗技术的研究工作。经近2a的大量试验研究,解决了笃斯越桔组培繁殖育苗的难题。

1 材料与方法

1.1 试验材料

于6月份从入选的优良个体上采集当年生

嫩枝,用苔藓包裹,带回试验室备用。

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理

将带回试验室的嫩茎去除叶子,用洗洁精水溶液浸泡20 min后,然后用自来水流水冲洗15 min,再将其放入超净工作台内,用0.1%的升汞液浸泡2 min,并不断搅动,再用无菌水漂洗5次,用无菌滤纸吸干材料表面水分,最后将茎条切分为1.0 cm左右长的带芽茎段,接种。

1.2.2 培养基配方及培养条件

在初始培养阶段,选取MS、WPM为基本培养基,附加不同含量的细胞分裂素6-BA、KT、2ip及生长素NAA、IBA;在继代增殖阶段,选取WPM为基本培养基,附加不同含量的细胞分裂素6-BA、KT、2ip及生长素NAA、BA;在诱导生根阶段,选取MS、1/2MS、1/4MS、WPM为基本培养基,附加不同含量的生长素NAA、BA。

上述培养基中均含有3%的蔗糖、pH5.2~5.8。高压灭菌20~25 min,培养室温度22~25℃,光周期16h/8h,光照强度1200~1500 Lx,湿度60%~70%。

表1 不同基本培养基对外植体的分化效果

基本培养基种类	分化速率/d	分化率/%	生长状况
MS	36	19	愈伤组织诱导率较分化率高,诱导出的嫩茎细弱,丛生芽分化少
WPM	28	73	嫩茎细弱,丛生芽分化多

2 结果与分析

2.1 无菌培养的建立

比较试验发现,不同基本培养基对笃斯越桔外植体诱导分化速度反应明显不同。WPM培养基较MS培养基更适合笃斯越桔丛生芽的诱导,MS培养基有诱导外植体更易分化出愈伤组织的倾向;不同激素组合方面,以单独的细胞分裂素2ip可诱导分化,2ip与2种生长素的多种含量组合,诱导分化效果不如单独的2ip理想;单独的细胞分裂素6-BA或KT均未使腋芽分化,其与2种生长素的多种含量组合也未使腋芽分化,结果见表1、表2。从表中不难看出,诱导笃斯越桔的外植体诱导丛生芽的最佳培养基配方为WPM+2ip3.0 mg L⁻¹。

2.2 继代与增殖

继代与增殖的主要目的是在无菌培养建立后大量扩繁丛生芽。比较试验发现,不同激素及含量组合,对诱导分化丛生芽的效果明显不同,要达到无菌培养建立时的茎条粗度,培养基中细胞分裂素2ip的含量直线上升,当达到15.0 mg L⁻¹时,才能获得满意效果;要保证继代丛生茎条旺盛生长,生长素是必需的,试验结果见表3。从表3中不难看出,笃斯越桔最佳继代培养基配方为WPM+2ip15.0 mg L⁻¹+NAA0.2 mg L⁻¹,增殖系数达7.2倍。

2.3 生根培养

比较试验发现,笃斯越桔组培茎条生根状况与基本培养基、茎条质量、生长素种类及质量浓度密切相关。基本培养基以1/4MS最为适

宜,茎条以中下部材料生根率高,不同生长素种类及质量浓度生根效果差异明显,试验结果见表4。对试验结果经比较认定,笃斯越桔组培生根最佳培养基配方为1/4MS+IBA0.10 mg·L⁻¹,生根率达97%以上。

2.4 试管苗练苗及移栽

将已生根并达到移栽要求的培养瓶瓶口打开,在培养架上继续培养4 d,取出试管苗于常

温水中,小心去除粘附于小植株根系上的培养基,移栽至过细筛、经灭菌处理并装入穴盘的阔叶腐殖土上;将穴盘置于有遮阳网的温室中,并在穴盘上做拱型架、覆盖地膜以保湿,15 d后去掉地膜,30 d后去掉温室遮阳网,45 d后即可移栽至苗圃地中。经多次试验,移栽成活率可达85.7%以上。

表2 不同含量的激素组合对外植体的分化效果

激素含量与配比/mg L ⁻¹	诱导分化速率/d	诱导丛生芽数量/个	生长状况
2ip1.0	33~41	3~5	茎条细弱,叶红
2ip3.0	32~39	6~9	茎条较为粗壮,叶红绿
2ip5.0	28~37	6~7	茎条较为粗壮,叶红绿
2ip1.0+NAA0.1	33~52	2~4	茎条细弱,叶红
2ip3.0+NAA0.1	34~48	3~5	茎条细弱,叶红
2ip5.0+NAA0.1	30~46	3~6	茎条细弱,叶红
2ip1.0+IBA0.1	36~59	1~3	茎条细弱,叶红
2ip3.0+IBA0.1	35~54	2~4	茎条细弱,叶红
2ip5.0+IBA0.1	32~44	2~4	茎条细弱,叶红

表3 不同水平激素含量对继代增殖的影响

激素水平组合/mg L ⁻¹	增殖倍数	40 d 平均苗高/cm
2ip3.0	2.4	茎条细弱,高0.3~1.6 cm,基部组织黑色
2ip5.0	2.8	茎条细弱,高0.5~1.8 cm,基部组织黑色
2ip10.0	3.1	茎条细弱,高0.6~2.1 cm,基部组织黑色
2ip15.0	4.5	茎条较粗壮,高0.7~2.5 cm,基部组织黑色
2ip20.0	4.5	茎条较粗壮,高0.6~2.5 cm,基部组织黑色
2ip15.0+NAA0.1	5.6	茎条较粗壮,高0.8~2.9 cm,基部组织绿色
2ip15.0+NAA0.2	7.2	茎条较粗壮,高1.0~3.5 cm,基部组织绿色
2ip20.0+NAA0.2	6.3	茎条较粗壮,高0.5~3.1 cm,基部组织绿色
2ip15.0+IBA0.1	4.2	茎条较粗壮,高0.7~2.3 cm,基部组织黑色
2ip15.0+IBA0.2	4.8	茎条较粗壮,高0.9~2.4 cm,基部组织黑色

表4 不同含量生长素对生根的影响

生长素种类	含量	平均每株生根数/个	平均根长/cm	生根率/%
NAA	0.05	1.4	1.6	79.9
	0.10	2.6	1.9	85.3
	0.20	2.3	2.2	84.5
	0.50	2.5	1.8	82.2
BA	0.05	3.8	2.1	88.6
	0.10	6.7	2.3	97.7
	0.20	4.9	2.1	93.1
	0.50	4.3	2.5	85.4

3 结论

3.1 在笃斯越桔组培无菌培养建立时期,以 WPM+2ip3.0 mg L⁻¹ 组合的培养基诱导外植体分化效果最佳,在 28 d 时间里,分化率可达 73 %。

3.2 在笃斯越桔组培继代与增殖时期,以 WPM +2ip15.0 mg L⁻¹ +NAA0.2 mg L⁻¹ 组合的培养基继代效果最佳,增殖系数达到 7.2 倍。

3.3 在笃斯越桔组培生根时期,以 1/4MS + IBA0.10 mg L⁻¹ 组合的培养基生根效果最佳,生根率可达 97.7 %。将根系完好的小植株移栽至阔叶腐殖土上,在温室中炼苗 45 d 即可移栽到圃地中,移栽成活率可达 85.7 % 以上。

3.4 在组培试验中发现细胞分裂素可促进外植体腋芽的快速形成,从而使嫩茎获得增殖,这是

快繁的一个重要途径^[4]。本试验发现笃斯越桔也遵循这一规律,只是对细胞分裂素要求特殊和较高而已。比较发现,本试验所选择的培养基配方繁殖速率较快,繁殖系数较高,遗传性状稳定,适合于产业化繁殖育苗应用。

参考文献

- [1] 罗旭,朴善阳. 笃斯越桔人工培育技术研究[J]. 中国林副特产,2006,81(2):28-30.
- [2] 吉林省野生经济植物志编辑委员会. 吉林省野生经济植物志[M]. 长春:吉林人民出版社,1961.
- [3] 郝瑞. 长白山笃斯越桔的调查研究[J]. 园艺学报,1979,6(2):87-93.
- [4] 陈建军,陆志民,章林,等. 大叶山杨优树组培微繁工厂化生产技术研究[R]. 长春:吉林省林业科学研究院,1999.

(上接第 10 页)

表 3 不同生长素组合对紫叶稠李生根的影响

NAA/mg L ⁻¹	BA/mg L ⁻¹	接种植株数	生根植株数	生根率/%
0.00	0.00	50	34	68
0.00	0.10	50	42	84
0.00	0.50	50	50	100
0.10	0.00	50	35	70
0.10	0.10	50	31	62
0.10	0.50	50	41	82
0.50	0.00	50	28	56
0.50	0.10	50	36	72
0.50	0.50	50	30	60
1.00	0.00	50	19	38
1.00	0.10	50	22	44
1.00	0.50	50	15	30

3 结论

在紫叶稠李组织培养过程中,6-BA 与 NAA 的配比对外植体的诱导具有显著影响。在初代培养阶段,MS+6-BA0.60 mg L⁻¹ +NAA0.05 mg L⁻¹ 培养基对外植体的脱分化效果最好,分化率达到 100.00 %。在继代增殖培养阶段,MS+6-BA0.50 mg L⁻¹ +NAA0.05 mg L⁻¹ + GA₃0.50 mg L⁻¹ 培养基的增殖倍数最高,达到 8.17 倍,且苗芽生长健壮。在生根培养时,1/2MS+IBA0.50 mg L⁻¹ 培养基的生根效果最好,生根率达到 100 %,且苗形美观,色泽深绿,移栽后生长旺盛。在移栽阶段,在蛭石 +

草炭土(体积比为 1:1)基质中,移栽 30 d 后平均苗高为 12.3 cm,有利于试管苗移栽的成活与后期生长。

参考文献

- [1] 张宝刚,符立志,朱志民. 紫叶稠李育苗方法研究[J]. 北方园艺,2006,(3):25-27.
- [2] 杨美纯,周歧伟,许鸿源,等. 外部因子对蝴蝶兰叶片原球茎状体发生的影响[J]. 广西植物,2000,20(1):42-46.
- [3] 叶晓青,谢东,魏书,等. 不同激素水平对蝴蝶兰原球茎体增殖的影响[J]. 江苏林业科技,2000,27(9):42-44.