

文章编号 :1005 - 7129 (2008)04 - 0008 - 03 中图分类号 :S722.3⁺7 文献标识码 :A

紫 叶 稠 李 组 织 培 养 研 究

王衍正¹,张 锐²

(1. 辽宁林业职业技术学院,辽宁 沈阳 110101;2. 本溪县林业局,辽宁 本溪 117100)

摘要:以紫叶稠李的冬眠芽或萌动芽为外植体,对其进行组织培养研究。结果表明,初代培养最适宜的培养基为 MS+6-BA0.60 mg L⁻¹+NAA0.05 mg L⁻¹。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增殖倍数最高,达到 8.17 倍。试管苗在 1/2MS+IBA0.50 mg L⁻¹培养基中的生根效果最好,生根率达到 100.00%。在蛭石+草炭土(体积比为 1:1)的基质中,移栽 30 d 的试管苗平均苗高为 12.3 cm。

关键词:紫叶稠李;组织培养;培养基;激素

Research on tissue culture of *Prunus virginiana* 'Schubert'

WANG Yan - zheng¹ Zhang Rui²

(1.Liaoning Forestry Vocation - technical College, Shenyang 110101, China; 2. Forestry Bureau of Benxi County, Benxi 117100, China)

Abstract: Tissue culture of *Prunus virginiana* 'Schubert' was conducted by dormancy buds and bourgeoning buds. It shows that when the explants are stimulated, the best inducing effect of basic medium is MS+6-BA0.60 mg L⁻¹+NAA0.05 mg L⁻¹. When the reproducing tender shoots are cultivated, the highest multiplication of shoots of basic medium is MS+6-BA0.50 mg L⁻¹+NAA0.05 mg L⁻¹+GA₃0.50 mg L⁻¹ reached 8.17 times. The tube seedlings roots well on the basic medium 1/2MS+IBA0.5 mg L⁻¹ with rooting rate of 100%. After transplanted 30 d, the seedlings have an average height of 12.3cm in the medium of vermiculite - peat soil (volume ration at 1:1).

Key words: *Prunus virginiana* 'Schubert'; tissue culture; basic medium; plant hormone

紫叶稠李(*Prunus Virginiana* 'Schubert')是优良的园林绿化树种。辽宁林业职业技术学院林盛教学基地于 2003 年 4 月从北京植物园引入紫叶稠李,经过引种观察,树体健壮,生长速度较快,3 a 生树高达 2.5 m,地径 2.8 cm;抗寒性强,2003 年 1 月和 2005 年 1 月园地气温达到 - 27.1 和 - 29.0 ,无冻害发生;枝条密度

大,叶片卵状长椭圆形,长度达 12 cm,尤其突出的是叶片在生长季表现为深紫色,用做行道树、庭荫树和园景点缀,具有较高的观赏价值。张宝刚等对紫叶稠李进行了芽接、枝接、扦插等方面的研究,取得了一定的成果^[1]。为了在短期内获得大量的紫叶稠李苗木,满足绿化需求,笔者进行了紫叶稠李的组织培养研究,为进行工厂化育苗提供基本技术数据。

1 材料与amp;方法

收稿日期:2007-12-23

作者简介:王衍正(1953-),男,辽宁盖县人,工程师,主要从事林木种苗繁育方面的研究。

1.1 材料来源

试验材料为辽宁林业职业技术学院林盛教学基地从北京植物园引入的生长良好、无病虫害的紫叶稠李。

1.2 外植体选用

取生长健壮、无病虫害的紫叶稠李冬眠枝或刚刚萌动的枝条,切成带有一个顶芽或侧芽的茎段。

1.3 外植体的灭菌处理

灭菌流程:小茎段 →流水冲洗 (30 min) →洗涤剂溶液浸泡 (10 min) →流水冲洗 (30 min) →(以下工作在超净工作台完成) 75 %酒精浸泡

30 s →无菌水冲洗 2 次 (1 min1 次) →0.1 % HgCl₂ 浸泡 (8 min) →无菌水冲洗 6 次 (2 min1 次)。

1.4 试验方法

1.4.1 不同激素对比对紫叶稠李初代培养的影响。基本培养基为 MS+蔗糖 30 g L⁻¹ + 琼脂 6 g L⁻¹ (pH5.8),其中加入不同质量浓度的 6-BA (设 0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mg L⁻¹ 5 个质量浓度梯度)和 NAA (设 0.00、0.05、0.10 mg L⁻¹ 3 个质量浓度梯度)作为初代培养的脱分化培养基,然后将消毒处理后的茎段接种在其中进行培养观察^[2-3]。

表 1 不同激素对比对紫叶稠李初代培养的影响

6-BA/mg L ⁻¹	NAA/mg L ⁻¹	外植体茎段数	分化数	分化率/ %
0.20	0.00	30	15	50.00
0.20	0.05	30	18	60.00
0.20	0.10	30	18	60.00
0.40	0.00	30	20	66.67
0.40	0.05	30	21	70.00
0.40	0.10	30	22	73.33
0.60	0.00	30	26	86.67
0.60	0.05	30	30	100.00
0.60	0.10	30	24	80.00
0.80	0.00	30	23	76.67
0.80	0.05	30	14	46.67
0.80	0.10	30	11	36.67
1.00	0.00	30	10	33.33
1.00	0.05	30	10	33.33
1.00	0.10	30	6	20.00

1.4.2 不同激素对比对紫叶稠李再生嫩茎增殖的影响。将初代培养获得的小植株除去叶片后再切成小茎段,接种到附加不同质量浓度的 6-BA (0.50、1.00、2.00 mg L⁻¹)、NAA (0.05、0.10、0.20 mg L⁻¹)和 GA₃ (0.00、0.50、1.00 mg L⁻¹)的继代分化培养基上(基本培养基同初代培养基),4 周后观察增殖状况,并统计结果。

1.4.3 不同生长素组合对紫叶稠李生根的影响。以 1/2MS + 蔗糖 20 g L⁻¹ + 琼脂 7 g L⁻¹ (pH5.8) 为基本培养基,其中加入不同质量浓度的 NAA (0.00、0.10、0.50、1.00 mg L⁻¹) 和 IBA (0.00、0.10、0.50 mg L⁻¹)作为生根培养基;将继代培养得到的株高在 1.5 ~ 2.0 cm 的嫩茎转入生根培养基中,20 d 后观察生根状况,并统计结果。

以上培养基均在 121 条件下灭菌 20 min。培养温度为 20 ±2 ,光照 12 h ·d⁻¹,光强为 2 000 ~ 3 000 lx。

1.4.4 生根苗移栽。当生根培养的小苗根长为 1.5 ~ 2.5 cm 时,开瓶在温室炼苗 7 d,移栽前 3 d 用 50 %可湿性多菌灵 800 倍液喷浇灭菌,试管苗移栽基质为珍珠岩 + 泥炭土和蛭石 + 草炭土两种,每种基质中 2 种材料的体积比均为 1:1。每种基质移植小苗 1 000 株。

2 结果与分析

2.1 激素对比对紫叶稠李初代培养的影响

试验发现,紫叶稠李顶芽和侧芽的分化能力均较强,培养 2 周后逐渐分化出小植株,30 d 后部分小植株的叶腋处又分化出新的小植株。

由表 1 可知,不同激素配对外植体的分化有显著影响,在 MS + 6 - BA1.00 mg ·L⁻¹ + NAA0.10 mg L⁻¹培养基中,小植株分化数量最少;而在 MS + 6- BA0.60 mg L⁻¹ + NAA0.05 mg L⁻¹培养基中,小植株分化数量最多,质量最好,分化率达到 100.00 %。可见,适宜的激素配比是诱导外植体分化的关键因素。

2.2 激素对比对紫叶稠李再生嫩茎增殖的影响

由表 2 可知,增殖培养结果因激素配比不同而异,嫩茎增殖倍数随细胞分裂素质量浓度的增加而降低,以 MS + 6 - BA0.50 mg L⁻¹ + NAA0.05 mg L⁻¹ + GA₃0.50 mg ·L⁻¹增殖倍数最高,达到 8.17 倍,且苗芽生长健壮。

表 2 不同激素对比对紫叶稠李再生嫩茎增殖的影响

6 - BA/mg L ⁻¹	NAA/mg L ⁻¹	GA ₃ /mg L ⁻¹	接种小茎段数	4 周后 苗数	增殖倍数
0.50	0.05	0.00	30	142	4.73
0.50	0.05	0.50	30	245	8.17
0.50	0.05	1.00	30	201	6.70
0.50	0.10	0.00	30	93	3.10
0.50	0.10	0.50	30	111	3.70
0.50	0.10	1.00	30	133	4.43
0.50	0.20	0.00	30	88	2.93
0.50	0.20	0.50	30	98	3.26
0.50	0.20	1.00	30	87	2.90
1.00	0.05	0.00	30	61	2.03
1.00	0.05	0.50	30	69	2.30
1.00	0.05	1.00	30	63	2.10
1.00	0.10	0.00	30	51	1.70
1.00	0.10	0.50	30	64	2.13
1.00	0.10	1.00	30	65	2.17
1.00	0.20	0.00	30	49	1.63
1.00	0.20	0.50	30	56	1.87
1.00	0.20	1.00	30	52	1.73
2.00	0.05	0.00	30	41	1.37
2.00	0.05	0.50	30	45	1.50
2.00	0.05	1.00	30	45	1.50
2.00	0.10	0.00	30	48	1.60
2.00	0.10	0.50	30	45	1.50
2.00	0.10	1.00	30	41	1.37
2.00	0.20	0.00	30	43	1.43
2.00	0.20	0.50	30	44	1.47
2.00	0.20	1.00	30	48	1.60

2.3 不同生长素组合对紫叶稠李生根的影响

由表 3 可知,以 1/2MS + BA0.50 mg ·L⁻¹ 培养基的生根效果最好,每个试管苗生根 3~5 条,长度约 1.5~2.5 cm,生根率达到 100 %。

2.4 基质对紫叶稠李生根苗移栽的影响

在生根植株培养阶段,对生长健壮的生根苗进行炼苗移栽。移栽后浇一次定根水,以后保持基质湿润,温度保持在 20 左右,初期适

当遮荫。移栽后约 15 d 的缓苗期过后,植株发出新根开始正常生长。

试验所使用的 2 种混合基质对移栽成活率的影响不显著,但对小苗后期生长速率有影响。移栽 30 d 后统计珍珠岩 + 泥炭土和蛭石 + 草炭土的平均苗高分别为 9.5 cm 和 12.3 cm。由此可见,蛭石 + 草炭土做移栽基质更适合试管苗的生长。(下转第 43 页)

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.