维普资讯 http://www.cqvip.com

贴梗海棠组织培养技术研究初报

马冬菁,叶景峰,陈 罡,潘文利,范俊岗
(辽宁省林业科学研究院,辽宁 沈阳 110032)

摘 要:以2~3年生贴梗海棠幼嫩枝条为试材,按茎段幼嫩程度,用0.1% $HgCl_2$ 不同时间处理外植体进行表面消毒。结果表明,幼嫩茎尖、半木质化和木质化茎段分别灭菌7、10、15min效果较好;通过植物生长调节剂对试管苗诱导分化作用及增殖效果的研究,表明在MS+6-BA 1.0mg·L^{-1}+NAA 0.1mg·L^{-1}培养基上,试管苗分化率较高,达90%,且生长发育良好;在MS+6-BA 0.5mg·L^{-1}+NAA 0.5mg·L^{-1}培养基上,增殖效果较好,增殖系数达6.0。

关键词:贴梗海棠;组织培养;分化;增殖
中图分类号:S661.4;S722.3 **文献标识码**:A **文章编号**:1001-1714(2007)04-0051-02

贴梗海棠(*Chaenomeles speciosa*)俗称红梅,蔷薇科灌木。高2m,喜光,稍耐寒,适应性强,产于我国陕西、甘肃、四川、贵州、云南、广东等省,辽宁南部有栽植。花色艳丽,硕果黄色、芳香,是优良的观花观果树种,在城市庭院、绿地、公园广泛栽植。长期以来,繁殖方法以分株、扦插和压条为主。苗产量低,市场短缺,价格高,为了缓解这种不利局面,快速繁育苗木,满足市场需求,辽宁省林科院于2004~2006年开展贴梗海棠离体组织培养技术研究工作,已筛选出一套适于贴梗海棠离体培养的方法,获得了一定数量的试管苗。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为2~3年生贴梗海棠幼树嫩枝,采自沈阳市园林科学院植物园,4~5月晴天剪取。

1.2 方 法

将取回的枝条带回实验室,剪去叶片,流水冲洗。用浓度适中的洗衣粉浸泡5min,清水冲洗干净。根据幼嫩程度,将枝条分为幼嫩茎尖、半木质化茎段、木质化茎段,切成6~7cm的小茎段。用蒸馏水冲洗3~4h后转至无菌室,用70%乙醇浸泡30s,无菌水冲洗5~6次,再用0.1% $HgCl_2$ 进行不同时间的表面消毒,无菌水冲洗6~8次后,剪成0.5~1.0cm的单芽茎段(少数带2芽),接种在初代培养基上培养,再将初培后的小苗进行继代增殖培养。

1.3 培养基及培养条件

以MS为基本培养基,附加不同浓度的6-BA和NAA作为初代培养基、增殖培养基,蔗糖30g·L^{-1},琼脂7g·L^{-1},pH值5.8。光强2 000lx,光照时间12h·d^{-1},温度25~28℃。

2 结果与分析

2.1 不同灭菌部位、灭菌时间对灭菌效果的影响

用0.1% $HgCl_2$ 分别对幼嫩茎尖、半木质化茎段、木质化茎段进行不同时间的灭菌,结果见表1。

表1 不同灭菌部位及时间对灭菌效果的影响

灭菌部位	时间(min)	灭菌率(%)
幼嫩茎尖	5	55
	7	80
	10	20
半木质化茎段	7	45
	10	75
	12	55
木质化茎段	10	50
	15	70
	18	60

从表1可以看出,以幼嫩茎尖灭菌7min、半木质化茎段灭菌10min、木质化茎段灭菌15min效果较好,灭菌率达70%以上。试验结果表明,消毒时间长短需根据茎段幼嫩及清洁程度而定,时间过长,部分茎段及腋芽就会中毒变褐,即使培养相当长的时间,也不会再生长分化;时间过短,则杂菌不能全部被杀死而造成污染,所以适宜的灭菌时间对组织培养研究至关重要。

收稿日期:2006-04-12

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.2 不同激素浓度对初代培养效果的影响

在不同激素浓度的培养基上接种20d后，贴梗海棠无菌苗的芽诱导分化情况见表2。

表2 不同培养基对贴梗海棠芽诱导分化的影响

编号	培养基配方 (mg·L⁻¹)	接种数 (瓶)	分化数 (瓶)	分化率 (%)	编号	培养基配方 (mg·L⁻¹)	接种数 (瓶)	分化数 (瓶)	分化率 (%)
1	MS+6-BA0.5+NAA0.05	10	5	50	7	MS+6-BA1.5+NAA0.05	10	6	60
2	MS+6-BA0.5+NAA0.1	10	5	50	8	MS+6-BA1.5+NAA0.1	10	6	60
3	MS+6-BA0.5+NAA0.5	10	5	50	9	MS+6-BA1.5+NAA0.5	10	6	60
4	MS+6-BA1.0+NAA0.05	10	8	80	10	MS+6-BA2.0+NAA0.05	10	4	40
5	MS+6-BA1.0+NAA0.1	10	9	90	11	MS+6-BA2.0+NAA0.1	10	4	40
6	MS+6-BA1.0+NAA0.5	10	8	80	12	MS+6-BA2.0+NAA0.5	10	4	40

培养基MS+6-BA 1.0mg·L⁻¹+NAA 0.1mg·L⁻¹对贴梗海棠芽的诱导分化率最高，达90%。在5号培养基上接种20d左右，茎尖变绿，膨大，伸长生长，茎段基部突起，产生愈伤组织细胞团。30d以后，愈伤组织上有绿色小芽点出现，逐渐形成嫩芽。试验表明，当培养基中6-BA浓度较低时，对顶芽无抑制作用，高生长明显，芽分化率低；而培养基中6-BA浓度过高时，不利于芽的萌动，愈伤组织生长加快，抑制了茎段分化，分化率更低。

2.3 不同激素浓度对继代增殖效果的影响

将初培后的无菌苗切割成茎段接种在MS培养基上进行继代增殖培养，结果见表3。

表3 不同培养基对贴梗海棠无菌苗增殖影响

编号	培养基(mg·L⁻¹)	接种数(瓶)	总芽数(个)	增殖系数	生长状况
1	MS+6-BA0.2+NAA0.1	20	96	4.8	苗较矮，长势弱，节间距短，芽少
2	MS+6-BA0.2+NAA0.2	20	98	4.9	苗较矮，长势弱，节间距短，芽少
3	MS+6-BA0.5+NAA0.2	20	120	6	苗高，长势壮，节间距适中，芽多
4	MS+6-BA0.5+NAA0.5	20	116	5.8	苗高，长势壮，节间距大，芽较多
5	MS+6-BA1.0+NAA0.2	20	96	4.8	苗矮，长势弱，节间距短，芽少
6	MS+6-BA1.0+NAA0.5	20	94	4.7	苗矮，长势弱，节间距短，芽少

由表3可见，3号培养基MS+6-BA 0.5mg·L⁻¹+NAA 0.2mg·L⁻¹的增殖系数最高，达6.0，生长状况最好，可用于贴梗海棠的扩繁。试验结果表明，当6-BA浓度较低时，增殖系数低，不利于分化增殖；当6-BA浓度过高时，茎基部产生大量愈伤组织，对幼苗形成有一定的抑制作用，易使试管苗玻璃化。

2.4 诱导生根与移栽

将继代增殖培养的试管苗先进行壮苗培养，然后将健壮无根的小苗接种到生根培养基1/2MS+IBA1.0mg·L⁻¹+NAA0.2mg·L⁻¹上。15d左右，茎基部产生根原基；20d左右，从根原基上产生5~6条白色粗壮的根系，根长达1.5~2.5cm，生根率为95%；30d左右，驯化培养，开瓶炼苗，移栽于灭菌的细沙，移栽前沙床要浇透水。当室内温度为23~25℃，湿度90%左右时，成活率可达90%。

3 小结

3.1 同一枝条上茎段的幼嫩程度不同，灭菌时间也有差异。以幼嫩茎尖7min、半木质化茎段10min、木质化茎段15min灭菌效果较好，灭菌率达70%以上。

3.2 激素浓度直接影响芽的分化率与增殖系数。初步筛选出最适芽诱导分化的培养基MS+6-BA 1.0mg·L⁻¹+NAA 0.1mg·L⁻¹，分化率为90%；MS+6-BA0.5mg·L⁻¹+NAA0.2mg·L⁻¹为最适继代增殖培养基，增殖系数达6.0。

总体看，试验获得一些有成效的经验，但还需进一步完善，增殖培养阶段虽然能够形成一定数量的茎段芽，提高增殖系数；但分化丛生芽方面还不太理想，有待于进一步研究。

参考文献：

[1] 陈正华.木本植物组织培养及其应用[M].北京：高等教育出版社，1986.

[2] 辜夕荣，石大兴.圆柏组织培养繁殖研究[J].亚热带植物通讯，2000，29(2)：40-42.

[3] 李作文，王玉晶.观赏树木图谱[M].沈阳：辽宁人民出版社，1998.

（责任编辑：张素清）