



朱立新,冯华健,李鑫,等.紫叶稠李组织培养与快速繁殖[J].黑龙江农业科学,2019(10):15-17.

紫叶稠李组织培养与快速繁殖

朱立新,冯华健,李鑫,刘敏,梁艳,徐洪国

(齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院/抗性基因工程与寒地生物多样性保护黑龙江省重点实验室,黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘要:为建立紫叶稠李组织培养快速繁殖方法,对紫叶稠李重要种质材料的保存扩繁提供技术支持。本研究以紫叶稠李为材料,以 MS 培养基为基本培养基,通过不同种类和浓度的植物生长调节剂配比试验,筛选紫叶稠李快速繁殖与生根的最佳培养基组成。结果表明:紫叶稠李试管苗最佳增殖培养基为 $MS+2\sim3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} 6\text{-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{NAA}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖+ $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂,最佳生根培养基为 $1/2\text{ MS}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{IBA}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖+ $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂,生根诱导 20 d,生根率达 90%。将生根的试管苗在室外进行炼苗后,移栽到营养钵中,成活率达到 90% 以上。

关键词:紫叶稠李;组织培养;快速繁殖

紫叶稠李(*Padus virginiana*)为蔷薇科(Rosaceae)稠李属高大落叶乔木,原产于北美,是一种优良的彩叶观赏树种。紫叶稠李初生叶为绿色,随着温度升高,逐渐转为紫红绿色至紫红色,秋后变成红色,是观赏价值较高的彩叶树种^[1]。紫叶稠李树型高大,耐寒性强,适于北方地区栽种可作为背景树种、街道绿化树种,还可单独种植、点缀,极具市场前景^[2]。

由于该树种从国外引进,母本数量少,常规无性繁殖效果不佳,离体快速繁殖的成功可加快繁殖速度,提高繁殖系数,紫叶稠李可以采用传统的播种方式进行繁殖,但是这种繁殖方式后代的表现会出现较大的变异系数,在后代中只有 50%~60% 是紫叶稠李,在商品苗生产中应用较少^[3]。现在大多数苗木厂采用嫁接或扦插繁殖^[4],但面临生根和繁殖系数低的问题。也可以通过组织培养利用植物的叶片、枝条等进行快速繁殖。近年来在紫叶稠李的组织培养研究方面,有少量报道^[5-9],这种繁殖方式,用时短、见效快,它还能保持母株的原有特性。本研究通过对激素的调节和快速繁殖技术,来获得紫叶稠李新生植株,从而达到时间短并且繁殖快的目的,为紫叶稠李重要种

质材料的保存扩繁提供技术支持,为紫叶稠李工厂化育苗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

紫叶稠李采自齐齐哈尔大学校园。优选无病虫害、健壮的植株作为采穗母株,选取生长良好的半木质化枝条作为外植体材料,带回组培室。

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒 将带有腋芽的枝条切成小段,去掉叶片和叶柄,用自来水冲洗 30 min,拿到超净工作台上,用 70% 的酒精处理 30 s,再用 0.1% 的 HgCl_2 消毒 8 min,无菌水冲洗 4~5 遍后用无菌滤纸吸去外植体表面的水分。

1.2.2 初代培养 将枝条剪成 0.5~1.0 cm 长的带单芽茎段,接种于初代培养基中。每个处理 50 个茎段,重复 3 次。初代培养的培养基为: $MS+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} 6\text{-BA}$,培养基添加 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂, pH 5.8。

培养条件:培养温度 $(25\pm3)\text{ }^\circ\text{C}$,光照时间 $16\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$,光照强度 3 500 lx,30 d 后,观察腋芽的生长情况,统计腋芽萌发率。

1.2.3 继代增殖培养 以 MS 为基本培养基,添加不同浓度配比的 6-BA、NAA 和 TDZ(表 1),以筛选出最优的增殖培养基。切取 0.5~1.0 cm 长的单芽接种至增殖培养基上,每种培养基接种 30 个,置于培养室中进行增殖培养,观察丛生芽增殖及生长情况,25 d 后统计丛生芽的增殖系数(增殖系数=丛生芽分化的个数/丛生芽分化的外植体数)。

收稿日期:2019-04-01

基金项目:2018 年齐齐哈尔大学大学生创新创业训练计划(201810232147);黑龙江省省属高等学校基本科研业务项目(135109252、135109256);黑龙江省自然科学基金项目(C2018063)。

第一作者简介:朱立新(1998-),男,在读学士,专业为园艺。E-mail:1362559285@qq.com。

通讯作者:徐洪国(1977-),男,博士,副教授,从事园艺植物生物技术研究。E-mail:xuhongguo1977@163.com。

1.2.3 生根培养 生根培养以 1/2 MS 为基本培养基,添加不同浓度配比的 IBA,设置 0.1,0.2,0.5,1.0,2.0,3.0 mg·L⁻¹六种不同浓度,以筛选出最优的生根培养基。选取经过继代培养后生长健壮的生根培养苗,将其接种在生根培养基上,15 d后统计生根情况,计算生根率。

1.2.4 驯化移栽 将生根培养 25 d 的,长有完整试管苗的培养瓶由培养室转到半遮荫的自然光下锻炼 3~5 d,打开组培瓶封口膜,放置 2~3 d,定时进行叶片喷水保湿,促使组培苗适应自然环境条件。将组培苗从瓶中取出,在清水中洗掉培养基,移栽到珍珠岩:蛭石:泥炭土体积比为1:1:1的基质中,30 d 后统计移栽成活率,移栽成活率(%)=存活苗数/移栽苗数×100。

1.2.5 数据分析 采用 SPSS17.0 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 初代培养

将消毒的外植体枝条剪成 0.5~1.0 cm 长的

带单芽茎段,接种于初代培养基中。培养过程中很快就出现严重的褐化现象,及时更换新的培养基,褐化现象有所缓解。培养 7 d 后,茎段腋芽开始萌发,培养 30 d 后,获得大量的无菌试管苗。

2.2 继代增殖培养

把从茎段腋芽诱导出来的芽苗从基部切下来,接到继代培养基上,观察不同培养基对试管苗的生长势以及继代增殖率的影响(表 1)。一共设有 10 组不同激素浓度配比,每一个组合都可以促进芽的增殖和生长,只是长势和增殖倍数大不相同。从增殖倍数来看,2 号和 3 号培养基芽繁殖倍数都达到 12 倍以上,而且,芽长,长势较好,健壮。紫叶稠李试管苗最佳增殖培养基为 MS+2~3 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA+30 g·L⁻¹ 蔗糖+8 g·L⁻¹ 琼脂。

2.3 生根培养与驯化移栽

剪取株高 2 cm 以上带有 5 片左右叶片的单芽,在生根培养基上培养,7 d 左右开始诱导出根,20 d 后统计生根试验结果(表 2)。培养基 MS+

表 1 不同浓度激素组合对试管苗增殖的影响

Table 1 Effects of different concentrations of hormones on the proliferation of test-tube plantlets					
编号 No.	6-BA/(mg·L ⁻¹)	TDZ/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	生长情况 Adventitious bud growth	增殖倍数 Multiplication rate
1	1.0	-	0.1	芽短,生长缓慢	7.50±0.49 c
2	2.0	-	0.1	芽长,长势较好,健壮	12.31±0.80 a
3	3.0	-	0.1	芽长,长势较好,健壮	12.67±0.84 a
4	2.0	-	0.2	芽较长,长势一般	7.39±0.45 cd
5	2.0	-	0.5	芽短,长势一般	4.11±0.23 d
6	3.0	-	0.2	芽短,长势一般	6.72±0.38 cd
7	3.0	-	0.5	芽短,长势一般	5.97±0.29 cd
8	-	1.0	0.1	芽较长,长势一般	6.44±0.11 cd
9	-	2.0	0.1	芽短,长势一般	10.22±0.91 b
10	-	3.0	0.1	芽较长,长势一般	6.47±0.15 cd

不同小写字母代表 0.05 水平差异显著,下同。
Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level,the same below.

表 2 不同浓度激素组合对生根率影响

Table 2 Effects of different IBA concentrations on rooting of adventitious bud				
编号 No.	IBA/(mg·L ⁻¹)	生长情况 Plant growth	生根率 Rooting rate/%	生根数 Rooting number
1	0.1	植株生长健壮,根粗,叶色浓绿	0.90±0.29 a	3.35±0.46 a
2	0.2	植株生长健壮,根较粗,须根多	0.80±0.23 a	2.49±0.25 b
3	0.5	根短且较细,长势一般	0.58±0.12 b	1.98±0.23 b
4	1.0	根细,须根较少,长势一般	0.36±0.08 bc	0.98±0.12 c
5	2.0	根短且细,长势一般	0.42±0.09 bc	0.64±0.09 c
6	3.0	根短且细,长势一般	0.32±0.04 d	0.52±0.04 c

IBA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 生根数为 3.35 条,与其他培养基相比差异显著,表现为生根速率快,根系生长迅速,且根长势均匀、数量多,植株最高约 5 cm,健壮,叶片肥厚,深绿色。生长约 30 d,株高可达 10 cm 以上,根系长满培养基。将培养瓶封口膜打开,进行炼苗,2~3 d 后取出小苗,洗去根部培养基,移入营养钵,小苗的成活率达到 90% 以上。

3 结论与讨论

利用植物组织培养与快繁技术,可以在很短时间内建立高效的快速繁殖体系,但是在离体快繁过程中,特别是初代启动培养过程中,外植体褐化问题是影响组织培养能否成功的重要因素^[10]。本试验在初代启动培养过程中就发生了严重的褐化问题、通过连续更换培养基的方法有效地缓解了褐化问题,使紫叶稠李的初代启动培养得以成功,为其组织培养提供参考。在随后的继代增殖培养及生根培养过程中并没有发生很严重的褐化问题。

植物生长调节物质对植物细胞的分裂、分化产生影响。一定浓度配比的细胞分裂素和生长素对丛生芽的诱导与增殖发挥着重要作用^[11]。在继代增殖时,发现当 BA 激素浓度从 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,NAA 浓度保持不变,植株生长越来越旺盛,并且芽增殖倍数也很高,2~3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA 和 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 诱导芽的效果最好;NAA 浓度升高,BA 浓度不变,会发现植株长势一般,叶片长的比较小,并且生长不旺盛;NAA 浓度不变,TDZ 浓度增加,植株生长趋势都呈现

根生长都比较长,但是长势一般,芽增殖倍数也不高,与前面组合相比,还是 BA 和 NAA 组合在一起诱导紫叶稠李不定芽增殖效果更好。在植物快速繁殖生根培养过程中,培养基中添加一定浓度的生长素有利于诱导生根^[11]。在生根方面,本研究显示,从紫叶稠李不定芽诱导出不定根相对比较容易,生长素 IBA 对紫叶稠李组培苗生根诱导影响较大,本试验使用 1/2 MS 来诱导生根培养,生根率达 90%。

参考文献:

- [1] 刘广林, 梅梅, 罗东明, 等. 紫叶稠李在沈阳地区越冬安全性分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2014, 45(6): 696-700.
- [2] 孙冬伟, 邬俊财, 吴泽南, 等. 优良的彩叶树种——紫叶稠李[J]. 农业科技与信息: 现代园林, 2006(7): 42-43.
- [3] 张贵学, 原中园. 紫叶稠李的嫁接繁殖技术[J]. 中国林副特产, 2012(2): 56-47.
- [4] 杨广乐, 李颖, 张文修, 等. 紫叶稠李寒地繁殖技术与园林应用[J]. 现代化农业, 2008(9): 21-23.
- [5] 刘艳芝, 王中伟, 王玉民, 等. 稠李的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学报, 2004, 40(3): 344.
- [6] 孙宜. 紫叶稠李的离体快速繁殖[J]. 植物生理学报, 2003, 39(6): 637.
- [7] 邢国杰, 高明, 谭化, 等. 紫叶稠李叶片离体培养再生植株[J]. 北方园艺, 2011(3): 166-168.
- [8] 郑璐. 紫叶稠李组织培养过程中防止褐化的研究[J]. 辽宁林业科技, 2014(6): 38-40.
- [9] 王衍正, 张锐. 紫叶稠李组织培养研究[J]. 吉林林业科技, 2008, 37(4): 11-13, 46.
- [10] 曾镭, 刘燕. 植物组织培养中褐化问题的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(14): 49-50.
- [11] 植物生长调节剂在植物组织培养中的应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Padus virginiana*

ZHU Li-xin, FENG Hua-jian, LI Xin, LIU Min, LIANG Yan, XU Hong-guo

(College of Life Sciences and Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Key Laboratory of Resistance Gene Engineering and Cold Biodiversity Conservation, Qiqihar 161006, China)

Abstract: In order to establish a rapid propagation method for tissue culture of *Padus virginiana*, technical support was provided for the preservation and propagation of important germplasm materials of *Padus virginiana*. In this study, *Padus virginiana* was used as material, MS medium was used as basic medium, and the optimum medium composition for rapid propagation and rooting of *Padus virginiana* was screened through the ratio test of plant growth regulators of different kinds and concentrations. The results showed that the optimum medium for multiplication was MS+2-3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA+30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose+8 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ agar, and the optimum medium for rooting was 1/2 MS+0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA+30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose+8 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ agar. Rooting induction lasted for 20 days and the rooting rate reached 90%. After the rooting test-tube seedlings were refined outdoors, they were transplanted into nutrient bowls, and the survival rate reached more than 90%.

Keywords: *Padus virginiana*; tissue culture; rapid propagation