

西宁地区北美海棠初代组织培养技术研究

瞿 珍,常黎明

(西宁市城南苗圃,青海 西宁 810016)

摘要:选取北美海棠王族和绚丽两个品种为试材,以无性繁殖的方式选择外植体,接种于不同激素配比的 MS 培养基上,探究其初代组织培养技术。结果表明:无性繁殖选择以春季萌发的新梢或根部萌发的新枝条作为外植体适合不定芽诱导,其中诱导的最佳培养基为 $MS+6-BA1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+IBA0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;不定芽增殖最佳培养基为 $MS+6-BA1.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+NAA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词:北美海棠;茎段;初代组织培养;快繁技术

中图分类号:S682.1⁺9

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)09-0011-02

北美海棠为蔷薇科苹果属。落叶小乔木,株高一般在 5~7 m,呈圆丘状,或者整株直立呈垂状。分枝多变,互生直立悬垂等无弯曲枝。新干棕红色,黄色,老干灰棕色,有光泽,观赏性高。多年来,北美海棠一直依赖传统的嫁接繁殖,繁殖速度较慢,形不成规模。截至目前,国内未见有关北美海棠的组培快繁技术方面的报道。因此,基于从事组织培养的经验,查找相关资料,于 2010 年开展了北美海棠组培快繁研究,通过大量试验,获得一套完整的北美海棠初代组织培养技术。

1 材料与方 法

外植体是第一次接种的植物材料,从理论上讲植物体的任何部位都可以作为外植体。但是适宜的外植体取决于培养体系的目的和所涉及的植物种类。植物种类不同,其无性繁殖的能力也有很大差异。通常木本植物和较大的草本植物选取茎段比较合适,可萌发出侧芽。现结合无性繁殖

的特点,设计适合外植体适宜的培养方案。

1.1 材 料

供试材料为城南苗圃引进的王族和绚丽两个品种,从其中两个品种上筛选出健壮植株,3~5 月分别采集植株上一年生枝条和半木质化枝条两种。北美海棠一般以春季萌发的新梢,作为外植体进行培养,最容易萌发。根据《园林树木学》得知,来自同一株嫩枝的不同部位的外植体,在同一培养条件下芽的分化率明显不同。上部的分化率高达 90%以上,而下部则仅有 60%~70%。所以,根据这一特性,将外植体分为顶芽、上部、下部 3 部分对比试验。剪取的茎段长约 7 cm。

1.2 方 法

1.2.1 外植体消毒及灭菌 将茎段自上而下分成不同部位,不同部位用不同的处理方式,作对比试验,进行消毒及灭菌(见表 1)。

表 1 茎段不同部位的处理

茎段种类	剪取时间	剪取长度/cm	流水冲洗时间/min	10%洗衣粉浸泡时间/min	流水冲洗时间/min	蒸馏水冲洗次数	无菌水冲洗次数	75%酒精灭菌时间/s	无菌水冲洗次数	0.1%升汞灭菌时间/min	无菌水冲洗次数
一年生枝条(顶芽)	3月	7.5~8.0	60	15	30	1	2	30	4	6	8
一年生枝条(上部)	3月	7.5~8.0	60	15	30	1	2	35	4	8	8
一年生枝条(下部)	3月	7.5~8.0	60	15	30	1	2	40	4	10	8
半木质化枝条(顶芽)	5月	7.5~8.0	60	15	30	1	2	30	4	6	8
半木质化枝条(上部)	5月	7.5~8.0	60	15	30	1	2	35	4	8	8
半木质化枝条(下部)	5月	7.5~8.0	60	15	30	1	2	40	4	10	8

收稿日期:2011-06-08

第一作者简介:瞿珍(1986-),女,甘肃省兰州市人,助理工程师,从事培养基制作及组培繁育研究。E-mail:443027475@qq.com。

1.2.2 基本培养基及基本培养条件 结合木本植物塔青杨、河北杨组织培养的特点,以这两种木本植物的培养基为参照,查找相关资料,在塔青杨和河北杨组织培养中发现在前期诱导培养中,愈

伤组织较难形成。所以在选择激素时,选用 IBA 进行不定芽的诱导试验,观察结果。以 MS 为基本培养基分别附加激素 6-BA(0.5,0.7,0.9,1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和 IBA(0.1,0.3,0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)作为诱导培养基(见表 2),这些培养基中均附加食用白糖 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、琼脂 5.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,pH5.8。

表 2 不定芽的诱导培养基 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

培养基号	6-BA	IBA	培养基号	6-BA	IBA
H1	0.5	0.1	H7	0.9	0.1
H2	0.5	0.3	H8	0.9	0.3
H3	0.5	0.5	H9	0.9	0.5
H4	0.7	0.1	H10	1.0	0.1
H5	0.7	0.3	H11	1.0	0.3
H6	0.7	0.5	H12	1.0	0.5

以 MS 为基本培养基,附加激素 6-BA(1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和 NAA(0.2, 0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)作为增殖培养基进行不定芽的增殖培养。其中附加琼脂 5.8 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,白糖 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,培养条件为 pH 5.8,培养温度为 $(22\pm 2)^{\circ}\text{C}$,光照时数 14 $\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$,光照强度 2 500 lx,光照时间

12 $\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。增殖培养基分别为:

HTJ1 MS+6-BA1.0+NAA0.2
 HTJ6 MS+6-BA1.0+NAA0.3
 HTJ2 MS+6-BA1.2+NAA0.2
 HTJ7 MS+6-BA1.2+NAA0.3
 HTJ3 MS+6-BA1.4+NAA0.2
 HTJ8 MS+6-BA1.4+NAA0.3
 HTJ4 MS+6-BA1.6+NAA0.2
 HTJ9 MS+6-BA1.6+NAA0.3
 HTJ5 MS+6-BA1.8+NAA0.2
 HTJ10 MS+6-BA1.8+NAA0.3

2 结果与分析

2.1 外植体(茎段)诱导培养基确定

从表 3 中诱导率可看出,6-BA 含量过低,与 IBA 搭配,无法诱导出芽;6-BA 为 1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,与 NAA 任意浓度配合,均可诱导出芽,当 IBA 为 0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时诱导出芽,茎段底部愈伤伴有生根,即 H11 培养基为北美海棠最适诱导培养。

表 3 不同激素浓度对丛芽诱导培养的影响

培养基类型	接种数量	诱导数量	诱导率/%	不定芽生长情况
H1	28	10	35.7	茎段未萌发,基部无愈伤产生
H2	28	15	53.5	茎段未萌发,基部无愈伤产生
H3	28	10	35.7	茎段未萌发,基部无愈伤产生
H4	28	12	42.8	茎段未萌发,基部无愈伤产生
H5	28	15	53.5	茎段未萌发,基部无愈伤产生
H6	28	25	89.2	茎段未萌发,基部无愈伤产生
H7	28	16	57.1	萌发的腋芽均无健壮分枝,叶色淡绿,基部无愈伤产生
H8	28	13	46.4	萌发的腋芽均无健壮分枝,叶色淡绿,基部无愈伤产生
H9	28	13	46.4	萌发的腋芽均无健壮分枝,叶色淡绿,基部有愈伤产生
H10	28	13	46.4	萌发的腋芽均有健壮分枝,叶色淡绿,基部有愈伤产生
H11	28	13	46.4	萌发的腋芽均有健壮分枝,叶色淡绿,基部有愈伤产生,且伴有生根
H12	28	13	46.4	萌发的腋芽有健壮分枝,叶色淡绿,基部有愈伤产生

2.2 不定芽增殖阶段培养基的筛选

将健壮的不定芽转移到增殖培养基上,转接 20 d 后,各继代培养基上均出现了不同程度的不定芽,40 d 后出现了明显的差异,由表 4 可知,与其它培养基相比 HTJ1、HTJ2 与 HTJ5 中虽然不定芽增殖倍数多,但不定芽颜色为墨绿色,不定芽叶边出现黄化且玻璃化现象严重,HTJ6~HTJ10 增殖系数出现递减现象,说明 NAA 为 0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,激素浓度提高,不适合海棠分芽。HTJ4 培养基不定芽增殖数最多,颜色嫩绿,且无玻璃化现象。

表 4 继代培养增殖情况

培养基号	接种数	增殖数	增殖系数	玻璃化	不定芽颜色
HTJ1	50	60	1.2	有玻璃化现象	黄绿偏黄
HTJ2	50	60	1.2	有玻璃化现象	黄绿偏绿
HTJ3	50	40	0.8	无玻璃化现象	黄绿偏黄
HTJ4	50	100	2.0	无玻璃化现象	嫩绿
HTJ5	50	80	1.6	有玻璃化现象	黄绿偏绿
HTJ6	50	65	1.3	有玻璃化现象	黄绿偏绿
HTJ7	50	60	1.2	有玻璃化现象	黄绿偏绿
HTJ8	50	45	0.9	有玻璃化现象	黄绿偏绿
HTJ9	50	40	0.8	无玻璃化现象	黄绿偏黄
HTJ10	50	30	0.6	无玻璃化现象	黄绿偏黄

(下转第 29 页)

- [17] 黄昌勇. 土壤学[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [18] 熊毅,李庆逵. 中国土壤[M]. 2 版. 北京:科学出版社,1990.
- [19] 魏孝荣,邵明安. 黄土高原小流域土壤 pH、阳离子交换量和有机质分布特征[J]. 应用生态学报,2009,20(11):2710-2715.
- [20] 罗淑华,曾跃辉. 茶园土壤阳离子交换量研究[J]. 中国茶叶,1989(5):15-17.
- [21] 孔晓玲,季国亮. 我国南方土壤的酸度与交换性氢铝的关系[J]. 土壤通报,1992,23(5):203-204.
- [22] 刘世全,张宗锦,王昌全,等. 西藏酸性土壤的酸度特征[J]. 土壤学报,2005,42(2):211-218.

Study on the Feature of Acidity Change in Brown Soils of Changtu County

YI Yan ,YI Yan-li

(Land and Environment College of Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866)

Abstract: Changtu county locates in the north of Tieling. It is one of the major grain-producing counties in Liaoning province. Using the method of combining the field investigation and analysis indoor, the feature of acidity change in soils of Changtu county was studied. The results showed that besides a small amount of sand soil and meadows soil, soils of Changtu were mainly brown soil. The proportion of the three types of soil which pH < 5.0 (strongly acidic) and pH 5.0~6.5 (acid) accounted for 75.68% of the 3 750 survey soil samples, the neutral soil accounted for 16.56%. Brown soil's acidification degree was the largest. The soil samples of the pH < 5.0 (strongly acidic) and pH 5.0~6.5 (acid) accounted for 1.17% and 87.28%, respectively. Compared with the second soil census, the soil pH of the towns all decline between 0.16~0.13. The results showed that the soil pH had positive correlations with CEC and BS and negative correlations with exchanged acid (exchanged H^+ and exchanged Al^{3+}).

Key words: cultivated brown soil; soil acidity; distribution characteristic; change trend; correlation

(上接第 12 页)

由此表明:不定芽增殖最佳培养基为 MS+6-BA1.6 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹。

4 结论与讨论

研究结果表明:北美海棠不定芽诱导的最佳培养基为 HT11: MS+6-BA1.0 mg·L⁻¹+IBA0.3 mg·L⁻¹; 塔青不定芽诱增殖的最佳培养基为 HTJ4: MS+6-BA1.6 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹。

在以后的组织培养中,对北美海棠组织培养

的部位以及适合北美海棠组织的培养基还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 吴殿呈,胡繁荣. 植物组织培养[M]. 兰州:上海交通大学出版社,1996.
- [2] 曹春英. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2005.
- [3] 张天麟. 园林树木 1200 种[M]. 北京:中国建筑工业出版社,2004.
- [4] 陶绿. 林业实用技术[M]. 北京:《林业实用技术》编辑部,2011.

Primary Study on Tissue Culture of North American Begonia in Xining Area

QU Zhen, CHANG Li-ming

(Nursery of Chengnan in Xining City, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: Two species (Malus 'Royally', Malus 'Radiant') of North American Begonia were selected as materials, explants were selected by asexual reproduction way, and different hormones were inoculated on MS medium. The results showed that: clonal selection in the spring shoot or root germination of new shoots were suitable for using as explants for adventitious bud induction, the optimal medium was MS+6-BA1.0 mg·L⁻¹+IBA0.3 mg·L⁻¹; the optimal medium for adventitious bud proliferation was MS+6-BA1.6 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹.

Key words: North American Begonia; stem segment; primary tissue culture; rapid propagation technique