

# 黑龙江省林区野生山桃稠李组织培养技术的研究

舒钰<sup>1</sup>,王丹<sup>1</sup>,周野<sup>2</sup>,崔岩<sup>3</sup>,冯春庆<sup>3</sup>

(1. 黑龙江省林业科学研究所,黑龙江 哈尔滨 150081;2. 黑龙江省农业科学院 食品加工研究所,黑龙江 哈尔滨 150086;3. 北京市昌平区园林绿化局,北京 102202)

**摘要:**为了促进山桃稠李的园林绿化规模的生产,以黑龙江地区野生山桃稠李为试材,对其组织培养技术进行了研究。结果表明:最合适的外植体消毒方法是75%的乙醇浸泡30 s,0.1%升汞消毒8 min;带顶芽的侧芽有很高的萌发率高达82.8%;最合适的增殖培养基为MS+6-BA1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.5 mg·L<sup>-1</sup>;最合适的生根培养基为1/4MS+NAA0.5 mg·L<sup>-1</sup>。

**关键词:**野生山桃稠李;组织培养;生根培养

**中图分类号:**S685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)01-0026-03 **DOI:**10.11942/j.issn1002-2767.2016.01.0026

山桃稠李正名为斑叶稠李(*Padus maackii* (Rupr.) Kom)小乔木,高4~10 m。叶椭圆形,菱状卵形、稀有矩圆状倒卵形,长4~8 cm,叶缘具不规则带腺锐锯齿,背面沿中脉被短柔毛,被紫褐色腺体。总状花序,基部无叶。花白色,多花密集;花柱和雄蕊近等长。果近球形,径5~7 mm,紫褐色。花期4-5月,果期6-10月<sup>[1]</sup>。喜光也耐阴,抗寒力较强,怕积水涝注,不耐干旱瘠薄,在湿润肥沃的砂质壤土上生长良好,萌蘖力强,病虫害少。随着对园林绿化树种种类以及质量的需求与日俱增,山桃稠李的发展前景十分广阔<sup>[2-4]</sup>。

黑龙江省林区分布了很多野生的山桃稠李,树干笔直,枝叶茂盛,花果较大,本文以黑龙江省野生的山桃稠李为研究对象,对其组织培养技术进行研究,以期对野生山桃稠李的园林绿化的规模化生产提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料于2014年7月中旬采自黑龙江省哈尔滨市帽儿山的山桃稠李当年生带芽茎段。

### 1.2 方法

1.2.1 外植体消毒 将采集的小枝条去掉不用的部分,剪成4~5 cm的带芽茎段,置于放有洗衣粉水的烧杯里,用纱布网将烧杯口套住,用手不断

晃动烧杯5 min,将烧杯用流水冲洗1~2 h。之后,在超净工作台上用75%的乙醇浸泡30 s,用无菌水冲洗3次,放在无菌滤纸上风干,分别用0.1%的升汞消毒4、6、8、10、12 min,用无菌水冲洗5次,12 d后统计污染率。

1.2.2 芽的诱导与增殖 分别取顶芽、侧芽和带顶芽的侧芽,经消毒后接种于MS+6-BA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.5 mg·L<sup>-1</sup>的培养基中,每瓶接种一个茎段,每种组合接种60瓶,重复3次。16 d后统计萌发率,萌发率(%)=萌发数/未污染个数。

选取生长情况良好的组培苗开展增殖培养的试验,采用2因素3水平的随机试验,基本培养基选用MS,6-BA分别用0.5、1.0、1.5 mg·L<sup>-1</sup>,NAA选用0.25、0.50、0.75 mg·L<sup>-1</sup>,共9种组合,每种组合接种10瓶,每瓶3个组培苗,重复3次。60 d后统计增殖情况和生长状况。

增殖系数=增殖苗数/接种苗数。

1.2.3 生根培养 以生长健壮的2 cm以上的增殖苗为材料,采用2因素3水平完全随机设计,研究基本培养基与激素水平对生根的影响。

基本培养基选择MS、1/2MS、1/4MS、1/6MS、1/8MS;激素选择NAA,分为0.5、1.0、1.5 mg·L<sup>-1</sup>三个水平。每个处理接种10瓶,每瓶3个增殖苗,重复3次。30 d后统计生根率及生长情况。培养温度(22±2)℃,光照强度2 000 lx,光照时间每天12 h。

培养基均附加蔗糖20 g·L<sup>-1</sup>、琼脂6.5 g·L<sup>-1</sup>,pH6.0。

收稿日期:2015-10-08

基金项目:黑龙江省森林工业总局科技计划资助项目(sgzjY2015002)

第一作者简介:舒钰(1982-),女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,助理研究员,从事园林育种工作。E-mail: shuyu919@163.com。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同消毒方法对无菌体系的影响

不同的消毒方法对外植体污染率影响很大。由表 1 可知,野生山桃稠李无菌体系建立的限制因子是高污染率和低萌发率。随着 HgCl<sub>2</sub> 消毒时

间的增加,死亡率持续升高,污染率先降低又升高再降低,HgCl<sub>2</sub>处理的时间过长,会伤害外植体本身的细胞核组织,所以死亡率很高。综合结果表明 75% 的酒精消毒 30 s,0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 8 min,是最安全的消毒方法。

表 1 不同的消毒方法对无菌体系的影响

Table 1 Effect of different disinfection methods on aseptic system					
编号 No.	升汞消毒时间/min HgCl <sub>2</sub> disinfection time	接种个数 Inoculation number	污染率/% Pollution rate	死亡率/% Death rate	萌发率/% Germination rate
1	4	30	80.5	1.2	11.7
2	6	30	76.5	2.8	6.9
3	8	30	79.3	6.9	15.8
4	10	30	73.2	7.2	12.9
5	12	30	55.2	35.4	3.7

### 2.2 不同类型的外植体对诱导萌发的影响

由表 2 可知,芽在接种 10 d 后开始膨大开展,16 d 后有新芽展开,不同部位的外植体萌发率有明显差异,35 个带有顶芽的外植体只萌发了 1 个,侧芽的萌发率是 25.7%,而带顶芽的侧芽萌发率高达 82.8%。

表 2 不同类型的芽对于诱导萌发的影响

Table 2 Effects of different types of explants on the induction germination				
编号 No.	外植体部位 Explant site	外植体个数 Explant number	萌发个数 Germination number	萌发率/% Germination rate
1	顶芽	35	1	2.8
2	侧芽	35	9	25.7
3	带顶芽的侧芽	35	29	82.8

### 2.3 不同激素组合对于组培苗增殖的影响

接种 12 d 后,组培苗开始出现分化的小芽点。培养 60 d 后统计数据的结果表明,在 6-BA 浓度不变的时候,随着 NAA 浓度的升高,增殖系数先增高又降低。在 NAA 浓度不变的时候,增殖系数随着 6-BA 浓度的升高而升高。不同浓度的 6-BA 和 NAA 配比对外植体增殖系数影响较大,6-BA0.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.75 mg·L<sup>-1</sup> 的培养基上,获得较多的愈伤组织,在 6-BA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.75 mg·L<sup>-1</sup> 的培养基上,外植体增殖系数较差,但是生长很健壮,且有部分生根。

表 3 不同激素组合对于组培苗增殖的影响

Table 3 Effects of different hormones on the growth of tissue culture seedlings				
编号 No.	6-BA 浓度/ (mg·L <sup>-1</sup> ) 6-BA concentration	NAA 浓度/ (mg·L <sup>-1</sup> ) NAA concentration	增殖系数 Multiplication coefficient	健康指数 Health index
1	0.5	0.25	1.97	叶片小
2	0.5	0.50	2.04	叶片小
3	0.5	0.75	0.91	基部产生愈伤组织较多
4	1.0	0.25	3.06	长势良好
5	1.0	0.50	3.54	长势良好
6	1.0	0.75	0.04	长势良好,有部分生根
7	1.5	0.25	3.37	长势良好
8	1.5	0.50	4.89	长势良好
9	1.5	0.75	2.56	长势较弱

综上分析,较为适合的增殖培养基是 6-BA 1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.5 mg·L<sup>-1</sup> 增殖系数达到 4.89。

### 2.4 不同基础培养基及激素组合对组培苗生根的影响

生根培养 15 d 左右,外植体产生小根,培养 30 d 后在 1/4MS+NAA0.5 mg·L<sup>-1</sup> 的培养基上获得 91.2% 的生根率,生根数为 3.69 条,根长 3.56 cm。随着无机盐浓度的降低,生根率呈现先升高又降低的趋势。

表 4 不同基础培养基及激素组合对组培苗生根的影响

Table 3 Effects of different basic medium and hormone combination on rooting of tissue culture seedlings

编号 No.	基本培养基 Basic culture medium	NAA 浓度/(mg·L <sup>-1</sup> ) NAA concentration	生根率/% Rooting rate	平均生根数/条 Average rooting number	根长/cm Root length
1	MS	0.5	28.5	0.56	1.25
2	MS	1.0	6.5	0.04	1.68
3	MS	1.5	7.2	0.19	1.58
4	1/2MS	0.5	52.8	1.15	2.03
5	1/2MS	1.0	36.8	1.65	3.12
6	1/2MS	1.5	4.7	0.76	2.57
7	1/4MS	0.5	91.2	3.69	3.56
8	1/4MS	1.0	67.8	2.48	2.98
9	1/4MS	1.5	73.9	3.45	3.32
10	1/6MS	0.5	64.5	3.12	3.08
11	1/6MS	1.0	56.7	2.45	2.39
12	1/6MS	1.5	41.5	2.21	2.05
13	1/8MS	0.5	60.8	2.76	2.95
14	1/8MS	1.0	48.6	2.01	2.18
15	1/8MS	1.5	41.3	1.24	1.97

3 结论与讨论

消毒方法对外植体的萌发率和污染率影响很大。消毒时间短,污染率增加;消毒时间过长死亡率又升高了,最适合的消毒方法是 75% 的酒精消毒 30 s,0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 8 min。

不同部位的外植体对诱导萌发的影响较大。试验发现,单独的顶芽萌发率极低,且外植体在培养一段时间以后死亡。侧芽萌发率相对较低只有 25.7%。然而,带顶芽的侧芽有较高的萌发率,萌发率高达 82.8%。其原因可能是由于顶芽的衰老及其细胞程序性的死亡使得植株的顶端优势受到抑制,生长激素随之分配给侧芽,从而促进了侧芽的萌发与生长<sup>[5-7]</sup>。

不同浓度的 NAA 和 6-BA 的配比对野生山桃稠李组培苗的增殖率影响较大,NAA 浓度的增加,外植体的增殖率先增高又降低。6-BA 浓度的升高外植体的增值率持续升高。在 6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.75 mg·L<sup>-1</sup> 培养基中,外植体出现了较多的愈伤组织,但是,增殖率较低。在 6-BA1.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.75 mg·L<sup>-1</sup> 培养基中,外植体健康指数良好,增殖率却很低。

生根培养基中,随着无机盐浓度的升高,生根率出现了先升高又降低的趋势,最后结果表明 1/4 MS 培养基上获得较好的生根效果。可能是因

为,植物体在无法获得足够养分的情况下,为了能获得更多的养分从而产生了更多的根系,继而,使生根率升高。随着大量元素浓度的持续降低,培养基中的营养物质下降,外植体出现生长不良的趋势,生根率也大大降低<sup>[8-9]</sup>。

参考文献:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 36 卷[M]. 北京: 科学出版社,1974:403.

[2] 龙韬. 我国观赏植物资源研究现状及发展趋势[J]. 北京农业,2011(6):53-55.

[3] 张佳平,丁彦芬. 中国野生观赏植物资源调查、评价及园林应用研究进展[J]. 中国野生植物资源,2012,31(6):18-23.

[4] 郑万钧. 中国树木志: 第 2 卷[M]. 北京: 中国林业出版社,1985: 1057.

[5] 林宝山. 尼尔森唐棣的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2002,38(6):589.

[6] Beck E,Scheibe R. Senescence and ageing in plants and cyanobacteria[J]. Physiologia Plantarum,2003,119(1):1-4.

[7] Xu Wenjie,Kalima N K M,Cui Kerning. Programmed cell death during terminal bud senescence in a sympodial branching tree,Eucommia ulmoides[J]. Progress In Natural Science,2004,14(8):694-699.

[8] Wang Dayong,Hu Shuang,Li Qing,et al. Photoperiod control of apical bud and leaf senescence in pumpkin (*Cucurbita pepo*) strain 185[J]. Acta Bot Sin,2002,44(1):55-62.

[9] Druart P. Optimization of culture media for *in vitro* rooting of *Malus domestica* Borkh. cv. Compact Spartan[J]. Biologia Plantarum,1997,39(1): 67-77.

# 水肥耦合对寒地粳稻产量及穗部结构的影响

卞景阳<sup>1</sup>,王 麒<sup>1</sup>,赵践韬<sup>2</sup>,宋秋来<sup>1</sup>,孙 羽<sup>1</sup>,曾宪楠<sup>1</sup>,冯延江<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 耕作栽培研究所,黑龙江 哈尔滨 150086;2. 黑龙江省农业科学院 大庆分院,黑龙江 大庆 163316)

**摘要:**试验以水稻为研究对象,设定水、肥两种处理因素,2个水分处理(节水灌溉、CK)和5个氮肥处理(N0、N1、N2、N3、N4),分析水肥耦合对水稻产量及穗部形态的影响。结果表明:节水灌溉较CK促进水稻产量的形成,在N1、N2、N3时增产均超过10%,在N0、N4时产量差异不显著;随着施氮量的增加,节水灌溉与CK处理产量均呈现先增加后减少的变化趋势,节水灌溉N3施肥模式产量最高,其次是节水灌溉N2和对照灌溉N3。N2、N3条件下,节水灌溉较CK增产的主要是二次枝梗产量的增加,其中N2、N3处理分别增产30.69%、30.70%;节水灌溉N3较N2产量增加,主要是穗粒数和千粒重显著增加,N3条件下节水灌溉与CK比较,产量性状差异不显著,但节水灌溉促进了水稻各项产量性状均值的增加;对穗部结构分析,节水灌溉较CK二次枝梗数显著增加是产量增加的主要因素。

**关键词:**节水灌溉;N肥;产量;穗部结构

中图分类号:S511 文献标识码:A 文章编号:1002-2767(2016)01-0029-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.01.0029

水分和肥料是影响作物生长发育的主要限制因子<sup>[1]</sup>,水稻是耗水量最多的农作物<sup>[2]</sup>。黑龙江省水稻面积已达到400多万hm<sup>2</sup>,在传统稻作生产中的水肥管理模式,不仅造成了水资源的严重

浪费,而且引起了一系列的环境污染<sup>[3-4]</sup>,专家学者对水肥施用技术的研究日益受到重视<sup>[5-7]</sup>。相关研究表明,适宜的水肥条件可以促进作物生长,提高产量。在土壤水分很少的情况下,通过协调土壤中水分和养分的关系,可获得较为理想的产量<sup>[8]</sup>,在一定范围内,氮素和水分有明显的协同作用<sup>[9]</sup>。不同灌溉条件下,氮肥施用量对水稻产量的影响及其生理机制研究表明,节水灌溉中,适当增加氮肥量可促进水稻产量的增加<sup>[10]</sup>。以往的研究多集中于水肥耦合效应对产量的影响,对于水稻穗部形态变化并未进行深入系统的研究。本试验对不同水肥耦合条件下,在水稻产量及穗部

收稿日期:2015-10-21  
基金项目:公益性行业(农业)科研专项经费资助项目(2015 03136-4);哈尔滨市科技创新人才资助项目(2014 RFQYJ092);黑龙江省农业科技创新工程资助项目  
第一作者简介:卞景阳(1980-),男,黑龙江省青冈县人,博士,助理研究员,从事生态环境与水稻栽培研究。E-mail:bjy19800926@163.com。  
通讯作者:冯延江(1972-),男,在读博士,副研究员,从事生态环境及全球气候变化研究。E-mail:bjy19800926@163.com。

## Study on Tissue Culture Technology of Wild *Prunus maackii* in Heilongjiang Province Forestry Region

SHU Yu<sup>1</sup>,WANG Dan<sup>1</sup>,ZHOU Ye<sup>2</sup>,CUI Yan<sup>3</sup>,FENG Chun-qing<sup>3</sup>

(1. Heilongjiang Institute of Forestry Science, Harbin, Heilongjiang 150081;2. Food Processing Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086;3. Garden Afforestation Bureau, Beijing 102202)

**Abstract:** The tissue culture technology of Heilongjiang wild *Prunus maackii* was researched. The results showed that: the most suitable explant was soaked in ethanol for 75% 30 s, 0.1% mercuric chloride for 8 min; with the apical buds have high bud germination rate is up to 82.8%; the most suitable proliferation medium was MS + 6-BA 1.5 mg · L<sup>-1</sup> + NAA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>; the most suitable rooting medium was 1/4MS + NAA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>.

**Keywords:** *Padus maackii* (Rupr.) Kom; tissue culture; rooting culture