

红叶石楠‘红罗宾’离体再生技术研究

陈泽雄, 刘奕清, 黄登艳

(重庆文理学院 花卉研究所, 重庆高校园林花卉工程研究中心 重庆 永川 402160)

摘要:以红叶石楠‘红罗宾’的茎段为外植体建立再生体系。结果表明:适宜的诱导培养基为 MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L; 增殖培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 增殖系数可达 3.0; 红叶石楠瓶外生根适宜的方案为:以草炭土为基质, 插条在 500 mg/L 的生长素中浸泡 10 s, 生根率可达 94.2%。

关键词: 红叶石楠 离体培养; 植株再生

中图分类号: S 687.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)11-0160-03

红叶石楠‘红罗宾’是蔷薇科石楠属杂交种, 为常绿小乔木, 因其具鲜红色的新梢和嫩叶而得名^[1]。‘红罗宾’是近年来大力开发的绿化新树种, 其生态适应性强, 耐低温、耐盐碱和干旱, 被认为具有广泛的应用前景, 市场需求量较大^[2]。利用组织培养技术可以在短期内获

得大量性状一致的商品化苗木, 近年来有关红叶石楠的组培快繁研究已取得一定进展, 但规模化生产尚未见报道, 其主要原因是生根数少, 生根率低, 导致移栽成活率不高。该研究在红叶石楠增殖体系建立的基础上, 应用了瓶外生根的方法, 简化了生产环节且实现了工厂化育苗, 为解决目前红叶石楠种苗的需要提供了一条十分有效的途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以红叶石楠‘红罗宾’的当年生半木质化嫩茎为外植体, 由重庆文理学院花卉研究所温室大棚提供。

第一作者简介: 陈泽雄(1979-), 男, 硕士, 讲师, 现主要从事植物组织培养及细胞工程研究工作。E-mail: chenzexiong1979@163.com.

基金项目: 重庆市教委能力创新建设资助项目(GCZX0713)。

收稿日期: 2010-03-11

[12] 陈子文, 张凤舞, 田旭东, 等. 枣疯病传播途径的研究[J]. 植物病理学报, 1984, 14(3): 142-148.

[13] 田国忠, 张志善, 李志清, 等. 我国不同地区枣疯病发生动态和主导因子分析[J]. 林业科学, 2002, 38(2): 83-91.

[14] 洪淳祐, 金钟镇. 枣疯病的研究(1)—患病植物的内外形态学特征及其命名[J]. 韩国植物学会志, 1960, 3(1): 32-38.

[15] 王焯. 枣疯病几个有关问题[J]. 落叶果树, 1995(4): 8-10.

[16] 魏天军. 枣树优质高效生产技术[M]. 银川: 黄河出版传媒集团, 2009: 15-20.

[17] [曲泽洲]. 王永惠. 中国果树志·枣卷[M]. 北京: 中国林业出版社, 1993: 279, 421, 458, 368, 281.

Molecular Detection of Phytoplasma of Jujube Witches Broom in Ningxia Autonomous Region

WEI Tian-jun¹, WU Yun-feng², LI Bai-yun¹

(1. Institute of Gemplasm Resource, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan, Ningxia 750002; 2. College of plant protection, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shanxi 712100)

Abstract: Use of international common phytoplasma 16S rRNA gene molecule detection technology, the origin of Ningxia Lingwu city of Lingwuchangzao jujube varieties Lingwuchangzao No 1, Lingwuchangzao No 2, Lingwuchangzao No 3, Lingwuchangzao No 4, Lingwuchangzao No 5; origin Zhongwei in Ningxia Zhongwei City jujube varieties ‘Tongxinyuanzao’, ‘Zhongweidazao’ and introduced varieties ‘Jinchang No 1’, ‘Dunhuangdazao’ (Jujube Hami) in 10 samples of species, the total DNA was amplified by nested PCR. The results showed that these materials do not carry phytoplasma of jujube witches broom, the rapid development of Ningxia Jujube seedlings nursery non-toxic varieties provide a scientific and technological support.

Key words: Jujube; jujube witchesbroom; phytoplasma; molecular detection; Ningxia Autonomous Region

1.2 试验方法

1.2.1 无菌体系的建立 将外植体先用含洗衣粉的水溶液浸泡 10~15 min^[3], 自来水下缓慢冲 20~30 min, 剪成带有腋芽或顶芽的小段, 再在无菌条件下, 用 70% 酒精浸泡 15 s, 无菌水洗涤 3 次, 0.1% 升汞溶液消毒 5~8 min, 最后用无菌水冲洗 4~5 次, 切成带 1 个芽的小段^[4], 接种到以 MS 为基本培养基, 添加不同激素组合水平的诱导培养基上(见表 1), 筛选外植体诱导的最佳激素组合。

1.2.2 丛生芽增殖 将初代培养获得的健壮无菌丛生芽切割成带单芽的茎段, 接种到以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度不同类别激素的培养基中(见表 2), 接种 30 d 后进行统计, 筛选出适合丛生芽增殖的最佳配方。

1.2.3 生根培养 选用红叶石楠在增殖培养基上经多次继代的继代丛生芽苗, 在培养室培养 40 d 后, 将高约 2~2.5 cm 的单芽切下作为瓶外生根试验的微型扦插穗, 首先将微型扦插穗在浓度为 500 mg/L 的生长素中浸泡, 设 10、30、60 s 时间处理, 扦插基质选用不同比例的珍珠岩和泥炭土(见表 3), 芽条基部插入基质深度约为 0.8~1.0 cm。30 d 后统计其生根率、成活率及苗的长势, 筛选出红叶石楠瓶外生根的最佳条件。

1.3 培养条件

基本培养基为 MS, 所有的培养基均加白糖 30 g/L、琼脂 6 g/L, pH 6.0。初代培养先暗培养 5~7 d 后在光照条件下培养, 增殖培养光照时间 12 h/d, 光照强度 1 500~2 000 lx, 温度控制在 (25±1)℃^[5]。

芽苗移栽后, 加强水分、光照、温度、湿度、通风透气等培养条件的控制, 保障红叶石楠瓶外生根的环境。大棚内温度控制在 15~30℃, 适当的温差有利于根的诱导。选用透光率 50% 的遮阳网以覆盖薄膜上部, 如遇阴天及时揭去遮阳网, 以保持棚内的光照。大棚内可通过喷雾保持 80% 以上的空气湿度。直至芽苗根萌发后, 可逐渐揭去遮阳网, 加强通风^[6]。

2 结果与分析

2.1 不同激素的浓度组合对红叶石楠腋芽诱导的影响

消毒好的材料接入准备好的诱导培养基中, 7 d 后接入的材料叶柄开始脱落, 腋芽萌动伸长, 开始光照培养, 10 d 后逐渐有叶片展开。20 d 后观察统计, 诱导率可达 62.4%~81.2%。由表 1 可知, 随 BA 浓度的增加, 诱导率上升, 但诱导出来的芽逐渐变弱, 当 BA 浓度达到 2.0 mg/L 时长出的新芽还有水浸状。综合诱导率及芽生长情况, 最佳诱导红叶石楠腋芽的激素组合为 MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L。在此条件下诱导的芽叶色嫩绿且生长健壮(见图 1)。

2.2 不同激素浓度组合对红叶石楠丛生芽增殖的影响

从表 2 中可看出, 随着 BA 浓度的逐渐减低, 增殖系

数也随之降低, 芽苗生长逐渐健壮; 从激素组合来看, BA 单独与 NAA 组合或只与 IBA 组合时芽的综合情况都不理想, 而当 BA 与 NAA 和 IBA 同时使用时整体增殖倍数则较高, 但试验中发现, 若 BA 浓度使用达到或超过 1.5 mg/L 时, 多代培养后部分芽丛会出现玻璃化现象。综合来看, 红叶石楠丛生芽增殖的最佳培养基配方为 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.1 mg/L。此条件下生长情况见图 2。

表 1 不同激素浓度对茎段诱导的影响

编号	BA	NAA	诱导率	生长情况
	/ mg · L ⁻¹	/ mg · L ⁻¹	/ %	
1	1.0	0.1	63.1	芽黄绿色, 较壮
2	1.5	0.1	76.8	芽色绿 较健壮
3	2.0	0.1	79.6	芽弱, 少数芽稍有水浸状
4	1.0	0.2	62.4	芽绿且壮
5	1.5	0.2	81.2	芽绿且壮
6	2.0	0.2	76.2	芽色绿 新叶有玻璃化

表 2 不同激素浓度和组合对红叶石楠增殖的影响

编号	BA/	NAA	IBA	增殖系数	生长情况
	mg · L ⁻¹	/ mg · L ⁻¹	/ mg · L ⁻¹		
1	1.5	0.2	0	2.8	芽色绿 较壮
2	1.0	0.2	0	2.1	芽色绿 健壮
3	0.5	0.2	0	1.7	芽深绿 健壮
4	1.5	0	0.2	2.6	芽色黄绿 叶片有水浸状
5	1.0	0	0.2	1.9	芽黄绿 健壮
6	0.5	0	0.2	1.7	芽色绿 健壮
7	1.5	0.1	0.1	3.4	芽色绿 部分玻璃化
8	1.0	0.1	0.1	3.0	芽色绿 健壮
9	0.5	0.1	0.1	1.8	芽色深绿 健壮

2.3 不同基质和浸泡时间对红叶石楠瓶外生根的影响

选用红叶石楠继代 40 d 的丛生芽苗, 将高约 2~2.5 cm 的单芽切下作为瓶外生根试验的微型扦插穗(见图 3)。材料分别在 500 mg/L 生长素中浸泡 10、30、60 s 后, 扦插到不同基质中, 芽条基部插入基质深度为 0.8~1.0 cm, 30 d 后统计结果见表 3。综合基质、浸泡时间、生根率和芽苗的生长情况, 适合红叶石楠瓶外生根的条件为: 以草炭土为基质, 浸泡 10 s, 在此条件下生根率达到最高为 94.2%, 其芽苗的长势正常, 植株颜色绿, 根乳白色, 根系发达, 活力高(见图 4)。以珍珠岩为基质处理, 整体生根率低于以草炭土为基质的处理, 植株长势正常, 但根微红且部分老化, 活力较差(见图 5)。

表 3 不同基质和浸泡时间对生根的影响

编号	珍珠岩 泥炭土		浸泡时 生根率		生长情况
			间/s	/%	
1	1	0	10	79.1	植株较黄, 根微红, 根数较少
2	0	1	10	94.2	植株颜色绿, 根乳白, 根多且壮
3	1	0	30	71.3	植株颜色黄, 根微红, 根数较少
4	0	1	30	88.2	植株颜色绿, 根乳白, 根较多
5	1	0	60	63.1	植株颜色黄, 根微红, 根少, 基部有愈伤
6	0	1	60	87.5	植株颜色绿, 根乳白, 根较多但部分有愈伤



图1 启动培养



图2 增殖阶段



图3 培养瓶内切割的无根苗



图4 以泥炭土为基质的瓶外生根苗



图5 以珍珠岩为基质的瓶外生根苗



图6 移栽成活的红叶石楠组培苗

3 小结

试验以红叶石楠‘红罗宾’半木质化嫩茎为外植体进行诱导及增殖培养研究,并在此基础上形成了瓶外生根体系,成功解决红叶石楠生根率不高,移栽成活率低的问题,为红叶石楠的组培规模化繁育提供可靠的技术支撑。

试验表明,适宜的诱导培养基为 MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L;增殖培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L;适宜红叶石楠瓶外生根方案为:以草炭土为基质,微型插穗在 500 mg/L 的生长素中浸泡 10 s,生根率可达 94.2%。

试验过程中发现,红叶石楠增殖阶段光照比较重要,当光照时间不足或光强不够时,芽苗很容易玻璃化。

光照时间最好控制在 12 h/d,光照强度 1 500~2 000 lx。

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(50.1)[M].北京:林业科技出版社,1998:176-178.
- [2] 李际红,韩小娇,卢胜西,等.红叶石楠生根培养与根系活力的研究[J].园艺学报,2006,33(5):1129-1132.
- [3] 梅忠,方勇.红叶石楠组织培养技术的研究[J].江西农业学报,2009,21(6):43-45.
- [4] 王蓉,杨彬,李秀霞.“红宝石”萱草的组织培养快繁技术研究[J].北方园艺,2009(9):173-175.
- [5] 李慧,吴松,浦学文,等.红叶石楠的组织培养与快速繁殖研究[J].湖北农业科学,2009,48(7):1546-1547.
- [6] 吴丽君,江淑萍,卓年福,等.红叶石楠组培苗瓶外生根技术研究[J].福建林业科技,2007,34(4):4-7.

Study on *in vitro* Culture and Plant Regeneration of *Photinia fraseri* ‘Red Robin’

CHEN Ze-xiong, LIU Yi-qing, HUANG Deng-yan

(Flower Research Institute, Chongqing University of Arts and Science, Garden and Flower Engineering Research Center of Chongqing Colleges, Yongchuan, Chongqing 402160)

Abstract: Using stem-segments of *Photinia fraseri* ‘Red Robin’ as explants, *in vitro* culture and rapid propagation were studied. The results showed that the suitable medium for bud induction was MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L, the optimum subculture medium was MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L, on which each explant produced up to 3.0 plantlets on the average. The cuttings were immersed with 500 mg/L IBA for 10 s and used peat as medium, the frequency of rooting reached 94.2%.

Key words: *Photinia fraseri*; *in vitro* culture; plant regeneration