

6-BA 对山楂试管苗移栽成活率的影响

魏 鹏

(宁夏职业技术学院 生物工程系, 宁夏 银川 750002)

摘 要: 在山楂试管苗生根培养基中加入少量 6-BA, 研究其对山楂整体生长质量及移栽驯化的影响。结果表明: 6-BA 虽不利于生根, 但可刺激形成有利于移栽的植株整体表型。使用配方 IBA 0.5 mg/L+6-BA 0.04 mg/L+1/2MS 或 IAA 0.5 mg/L+6-BA 0.1 mg/L+1/2MS, 可刺激山楂试管苗基部分化少量愈伤组织, 栽后 5 d 可再生出一定量的不定根, 茎干中上部长出少量分枝, 分枝个数大于 2.4, 分枝长大于 1.85 cm。选用这 2 种配方试管苗为材料, 采用 1 次性入地移栽技术, 成活率大于 90%。栽活定植后, 结合扦插, 可提高种苗扩繁效率。

关键词: 山楂试管苗; 6-BA; 分枝状况; 驯化移栽

中图分类号: S 661.504⁺.3 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001—0009(2010)07—0133—03

山楂 (*Crateagus pinnatifida*) 是一种重要的经济作物, 楂果富含果胶、红色素与维生素。茎、叶、根均含药用物质黄酮, 将其用于治疗高血压、高血脂及预防心血管疾病效果良好^[1], 因此推广种植优良山楂种苗, 开发山楂食用药用系列产品商业前景广阔。

自然条件下山楂抗逆性及腋芽萌发能力较强, 分枝数较多, 利用组培快繁技术通过芽增殖可得到大量种苗, 但山楂试管苗移栽时因易断根造成叶片保水能力太低, 对温湿度要求严格, 致使整个组培流程中移栽成本偏大^[2]。为解决这一问题现以培育高质量的试管苗提高移栽后快速适应环境的能力开展研究, 为运用组培快繁技术工厂化生产山楂种苗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为山楂早熟优良品种伏里红, 该品种果实小, 果肉含糖量 11%, 含酸量 2.56%, 耐贮藏。

1.2 试管苗移栽前表型改良试验

山楂试管苗容易生根, 但试管内生根多细白、纤弱, 移栽时清洗琼脂、栽入特定基质挤压苗子基部基质时容易断根, 短时间内造成试管苗萎蔫。培养基中加入一定细胞分裂素, 能在茎切段切口部位长出不定根的同时诱导少量愈伤组织产生, 可稳固不定根的生长。经试验生根培养基中加入 6-BA, 山楂试管苗距顶端 1/3 处可分化出少数分枝。

该试验设置 3 种常规的生根培养基 A₁、B₁、C₁, 生长

素浓度均为 0.5 mg/L (见表 1), 在此基础上设置细胞分裂素处理, 所有配方培养基均含蔗糖 20 g/L, 琼脂粉 4.3 g/L, pH 6.8 0.11 Mpa 与 121℃ 下灭菌 15 min, 培养容器均选用 150 mL 三角瓶。选择继代多次生长在配方 MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L 中的试管苗, 剪切带顶芽的茎切段, 要求茎切段长 1.4 cm 左右, 上面至少着生 1 片完全展开的叶片, 接入表 1 试验培养基上, 各配方处理均转接 240 株试管苗, 随机摆在培养架上, 培养温度为 (25±2)℃, 光照周期 16 h/d, 光照强度 40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

1 个生长周期后统计试管苗的生长状况, 包括生根率、生根数、根长、愈伤组织颜色、愈伤组织块大小、主茎长、功能叶片个数 (叶片展叶良好, 呈墨绿色)、试管苗地上生物量 (主茎、分枝及所有叶片三者鲜重之和, 精确至 0.001 g)、分枝数、分枝长。同一指标重复测量 4~6 次, 取平均值。各配方处理之间指标相互比较, 综合考察试管苗移栽前的生长质量。

表 1 不同培养基处理编号及组成

编号	配方
A ₁	IAA 0.5+1/2MS
A ₂	IAA 0.5+6-BA 0.04+1/2MS
A ₃	IAA 0.5+6-BA 0.1+1/2MS
B ₁	IBA 0.5+1/2MS
B ₂	IBA 0.5+6-BA 0.04+1/2MS
B ₃	IBA 0.5+6-BA 0.1+1/2MS
C ₁	NAA 0.5+1/2MS
C ₂	NAA 0.5+6-BA 0.04+1/2MS
C ₃	NAA 0.5+6-BA 0.1+1/2MS

1.3 一次性入地驯化移栽

移栽基质按果园土与河底细沙 2.5:1 配制^[3], 该基质保水保温及肥力水平相对较好。温室内按 1.2 m×0.6 m 挖土作畦, 将要移栽的试管苗连瓶放在畦内基质上, 3 d 后揭去透气膜, 培养基表面滴加少量无菌水, 用阳光照射练苗, 要求照在三角瓶瓶壁上光照强度最大不

作者简介: 魏鹏 (1981-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向为植物组织培养与植物生理生态。

基金项目: 宁夏职业技术学院科研资助项目 (GZ0952)。

收稿日期: 2009-12-14

超过 $60\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 练苗 15 d 后试管苗入地移栽。选用生根率较高的、茎干具有一定分枝的试管苗直接入地一次性移栽, 各畦移栽苗子 130 株, 不同配方试管苗重复 4 次, 移栽 20 d 后统计试管苗生长状况。

2 结果与分析

2.1 不同配方间试管苗整体生长质量比较

表 2 表明, 山楂试管苗容易生根, 生根率均大于 79%, 培养基中随着 6-BA 浓度的升高, 生根率降低, 反映根系分化与生长质量的生根数及根长也随着降低。

6-BA 有利于试管苗切口愈伤组织的形成, 6-BA 浓度较低时, 形成的愈伤组织呈白色, 较脆易碎, 6-BA 为 0.1 mg/L 时, 形成的愈伤组织多为灰褐色, 坚硬呈老化状。

试管苗功能叶片的个数影响移栽后个体植株异养向自养转变。B₂ 配方中试管苗功能叶片最多, A₃ 次之, 为 7.49。分枝数、分枝长、功能叶片个数这 3 个指标影响试管苗地上生物量。

图 1 可知, 培养基中加入 6-BA 有利于主茎干产生分枝, 但分枝数与分枝长各配方处理间差异较大。当 6-BA 为 0.1 mg/L 使用 IAA, 试管苗分枝数最多, 为 3.02; 当 6-BA 为 0.04 mg/L 使用 IBA、NAA, 试管苗单分枝长度较高, 分别为 2.02 与 1.97。分枝情况, A₃、B₂、C₂ 3 配方排前 3 位。

综合考虑试管苗生根率、分枝状况及地上生物量将 A₃、B₂、C₂ 3 个配方试管苗初步列为移栽对象。

特征值	A ₁	A ₂	A ₃	B ₁	B ₂	B ₃	C ₁	C ₂	C ₃
生根率/%	88.2 ^b	83.1 ^b	82.7 ^b	96.7 ^a	91.6 ^a	76.8 ^c	97.1 ^a	95.4 ^a	83.7 ^b
生根数/个	2.67 ^d	1.78 ^e	1.83 ^e	3.34 ^b	2.87 ^d	2.23 ^e	4.27 ^a	3.82 ^b	3.05 ^c
根长/cm·株 ⁻¹	1.84 ^b	0.97 ^{cd}	0.28 ^e	2.62 ^a	2.51 ^a	1.19 ^c	0.76 ^d	0.68 ^d	0.22 ^e
愈伤组织颜色	—	浅灰	浅灰	—	白色	浅灰	白色	浅灰	深灰
愈伤组织块大小	—	+	++	—	++	+++	+	++	+++
主茎长/cm·株 ⁻¹	3.65 ^a	3.49 ^a	3.17 ^b	3.47 ^{ab}	3.46 ^{ab}	3.29 ^b	3.58 ^a	3.55 ^a	2.98 ^c
功能叶片数/个	6.78 ^c	7.42 ^b	7.49 ^b	5.99 ^e	8.31 ^a	6.78 ^c	6.43 ^{cd}	6.93 ^c	6.28 ^d
地上生物量/g·株 ⁻¹	1.665 ^c	1.889 ^{cd}	2.382 ^b	1.675 ^c	2.542 ^a	2.049 ^c	1.776 ^d	1.984 ^c	1.832 ^{cd}

注“—”表示不存在愈伤组织; “+”表示愈伤组织块小 “++”表示愈伤组织块居中 “+++”表示愈伤组织块大; 不同字母表示显著性差异, 显著性水平为 $P\leq 0.05$ 。

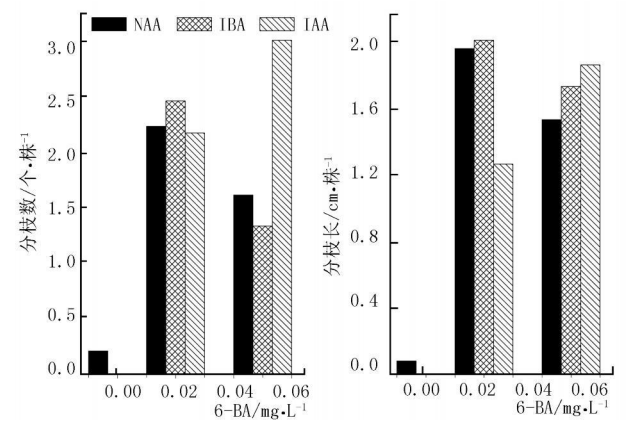


图 1 6-BA 对各配方处理试管苗分枝情况的影响

2.2 一次性移栽试验

培养基 A₃ 中的试管苗移栽成活率最高, 显著高于 C₂, 两者相差近 12%, 15 d 后新生根个数 2 个处理间也达到显著差异; A₃ 与 B₂ 相比 2 个指标均差异大。结合表 1 可以看出, A₃ 试管苗试管内生根率最低, C₂ 试管内生根率最高, 二者相差 15% 左右, 而移栽 20 d 后, A₃ 试管苗新生根个数最多, 表明 A₃ 试管苗愈伤组织具有较强的不定根再生能力。移栽前试管苗地上生物量 B₂>A₃>C₂, 试管苗地上生物量与移栽成活率形成对应。综合考虑各类因素, 实际生产中配方 A₃ 与 B₂ 试管苗应列为主要移栽对象。

试管苗来源	20 d 后成活株数/株	成活率/%	20 d 后新生根数/条·株 ⁻¹
A ₃	469	90.19 ^a	11.74 ^a
B ₂	484	93.07 ^a	10.82 ^a
C ₂	408	78.46 ^b	6.79 ^b

注: 新生根长度大于 0.2 cm; 不同字母表示显著性差异, 显著性水平为 $P\leq 0.05$ 。

3 讨论

改善移栽前试管苗的生长发育质量, 使得移栽后具备旺盛的生长潜能, 是附带顺势解决移栽工序繁琐、环境因子控制费事等的关键所在^[4]。该试验在山楂试管苗生根培养阶段非常规地加入一定量 6-BA, 从植株茎中上部诱导出分枝, 增强生长潜势, 产生多种实惠, 筛选出优良配方 IBA 0.5 mg/L+6-BA 0.04 mg/L+1/2MS 与 IAA 0.5 mg/L+6-BA 0.1 mg/L+1/2MS。

植株在试管内生长增加分枝无疑增加了栽后试管苗地上生物量, 这与单纯地通过增大叶片面积、增加主茎干高度来增加地上生物量性质不同, 后者只会增加对环境的风险选择, 如蒸腾作用加强、叶面失水、茎干被风刮断等^[5]。对陆地植物而言, 地上生物量越高, 植株的整体抗逆境能力越强。移栽山楂 A₃、B₂、C₂ 试管苗容易成活符合这一生物学特性, 这也促成了一次性入地移栽成功的可能。另外增加分枝数直接增加了试管苗腋芽的个数, 栽活后可剪取分枝进行扦插, 可促进无性繁殖的效率提高^[6-7], 组培快繁的成本明显降低。

实践中多数研究惯性认为, 试管苗基部切口愈伤组

织越少、生根数越多、根系越长越是用作移栽的最佳材料^[4]。该研究摒弃这一思路,在试管苗切段部位诱导出少量细嫩的、具再分化能力的愈伤组织,移栽后可稳固植株生长,又可短期再生出新的不定根,解决了山楂试管苗易断根现象,对于其它试管苗易生根、易断根植物具有一定参考意义。

参考文献

[1] 许瑞波,赵跃强,鲁升丽等.山楂叶黄酮的超声提取、精制及抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2007(4):64-69.
[2] 曹汝义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2001:177-179.
[3] 刘彤,赵虎基,陈芳,等.啤酒花茎培养及快速繁殖技术研究[J].西

北植物学报,2000,20(5):778-783.
[4] Goncalves S, Conrria P J, Martins M A, et al. A new medium formulation for in vitro rooting of carob tree based on leaf macronutrients concentrations[J]. Biological plant anum, 2005(2):277-280.
[5] 杜保国,杨途熙,魏安智等.桉叶唐棣组织培养研究[J].西北植物学报,2005,25(2):400-404.
[6] 郭艳茹,詹亚光,纪丽丽.花椒腋芽增殖途径快繁技术研究[J].植物研究,2007,27(2):224-229.
[7] 崔刚.植物开放式组织培养与工厂化育苗新模式的研究[D].济南:山东农业大学,2005.
[8] 王天慧,王文杰,董凤丽.影响喜树组织培养苗离体生根的因素[J].植物学通报,2004(6):673-681.

The Influence of Adding 6-BA on the Survival Rate of Transplanting *Crateagus Pinnatifida* Test-tube Plantlet

WEI Peng

(The Bio-engineing Department of Ningxia Professional and Technical College, Yinchuan, Ningxia 750002)

Abstract: On the process of *Crateagus pinnetifida* test-tube plantlet, adding little cytokinin 6-BA into medium, while shape a reasonable plant phenotype to transplant totally. Apply the medium composed IBA 0.5 mg/L+6-BA 0.04 mg/L+1/2MS or IAA 0.5 mg/L+6-BA 0.1 mg/L+1/2MS, the cutting part of test-tube plantlet will differentiate a little callus, which will regenerate adventitious root five days later after transplanted; the middle-upper part of plantlets cultured into above two mediums grow out several branches, the number of branch was above 2.4, the length of branch was above 1.85 cm. Taking these two series plantlet as transplanting materials, transplant plantlet into field onetime without domestication, the survival rate was above 90%. If use the cutting technology ex vitro will improve the propagating efficiency after survive and pullulate onto the environment.

Key words: *Crateagus pinnatifida* test-tube plantlet; 6-BA; branches status; transplant

特菜紫苏栽培技术

1 选地、整地

选阳光充足、排灌方便、疏松肥沃的壤土种植为好。每667 m²需2 000~3 000 kg农家肥作基肥,翻耕、耙细整平,做成80~100 cm宽的畦。

2 繁殖方法

用种子繁殖、直播或育苗移栽。①直播3月下旬至4月上、中旬,在整好的畦上按行距50~60 cm开0.5~1 cm的浅沟。穴播按穴距30 cm×50 cm开穴。播时将种子拌上细沙,均匀地撒入沟(穴)内,覆薄土,稍加镇压,每667 m²用种子1 000 g,播后5~7 d即可出苗。②育苗移植:方法同上。在幼苗出土后,苗高5~6 cm间苗,苗高15~20 cm时,选阴雨天或午后,按株行距50 cm×60 cm移栽于大田,栽后及时浇水1~2次,即可成活。

3 田间管理

间苗、补苗:条播者,苗高10 cm时,按株距30 cm

定苗;穴播者,每穴留1~2株。如有缺苗应予补苗。中耕除草:封行前必须经常中耕除草,浇水或雨后如土壤板结,也应及时松土。追肥:苗高60 cm时,每667 m²追施1 500 kg的人畜粪,配施15 kg的尿素,施后培土浇水。排灌:幼苗和花期需要水较多,干旱时应及时浇水。雨季应注意排水。

4 病虫害防治

斑枯病6月始发,为害叶片。防治方法:发病初期用70%代森锌胶悬剂干粉喷粉;或用1:1:200倍的波尔多液喷雾防治。

5 采收与利用

紫苏的幼苗和嫩茎叶可供食用。在春季采收幼苗,开花结果前采收嫩茎叶和嫩芽。采收的紫苏用清水洗净,可做烹调食用,可凉拌、做汤;紫苏还可以提取香精油,做食品加工的佐料;紫苏的果实、叶子、宿萼、茎均可入药。