

红翅槭的组织培养及快繁技术

唐 丽¹, 钟 秋 平², 刘 显 梅¹, 张 利 智¹

(1. 中南林业科技大学 林学院 湖南 长沙 410004; 2. 中国林科院 亚热带林业实验中心 江西 分宜 336600)

摘 要: 以红翅槭嫩茎和嫩叶为外植体, 研究在培养基中添加不同种类、不同浓度的激素后对红翅槭组培快繁的影响。结果表明: 嫩茎分化率高, 嫩叶分化速率快; 接种于不同培养基上的嫩茎、嫩叶在形成愈伤组织和不定芽的时间上有明显的差异, 且其长出愈伤组织和芽体的数量也有明显的不同; 激素浓度、种类及不同组合对外植体的诱导和分化起着重要的作用, MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是嫩茎和嫩叶颗粒状愈伤组织和不定芽分化培养的理想培养基; 1/2MS+IAA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是不定芽生根培养的理想培养基; 蛭石+珍珠岩(1:1)是红翅槭试管苗移栽的理想基质, 平均成活率为 95.3%, 并且移栽成活苗生长旺盛。

关键词: 红翅槭; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S 792.35 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2010)09-0136-03

红翅槭(*Acer fabri* Hance)为槭树科常绿乔木, 别名罗浮槭, 花红色, 翅果从幼果到成熟果均为红色, 越老越红。其新抽的嫩叶也为红色。另外, 老叶在冬季凋落之前, 转变成鲜红色。红翅槭老树皮淡褐色或暗灰色, 幼枝紫绿色, 老枝绿褐色或绿色, 是优良的园林观赏树种^[1]。

针对目前国内外对于红翅槭的种质资源、生长发育规律及繁殖技术, 特别是利用组织快繁技术研究较少的问题, 该试验以湖南地区红翅槭作为外植体, 对其组织培养过程中枝或叶的诱导技术、增殖、壮苗以及生根技术进行了研究, 建立了红翅槭的快速繁殖体系, 为我国园林植物栽培、育种及应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以红翅槭的嫩枝、嫩叶为外植体^[2], 于 5 月下旬采摘自湖南林业科学研究院实验林场。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒 将外植体切成小块或小块, 分别在流水中冲洗干净, 在 75% 酒精中浸泡 30 s, 然后用 0.1% 升汞溶液灭菌 10~20 min, 灭菌完毕后用无菌水冲洗 3 次, 每次 1 min, 即获得无菌材料^[3]。

1.2.2 愈伤组织的诱导 以 MS 培养基作为基本培养基^[4-5], 附加 6-BA、NAA、KT 不同浓度的植物激素, 每个

处理 30 瓶, 每瓶接种 1 个外植体, 重复 3 次, 放到培养室中进行培养^[6-13]。接种后进行比较, 选出红翅槭外植体愈伤组织诱导率最高的培养基。若无特殊说明, 所有培养条件均为: 日光照明, 培养温度设置在(25±1)℃, 光照时间为 16 h/d。

1.2.3 愈伤组织的分化培养 将愈伤组织接种到附加不同浓度 6-BA (0.5、1.0 mg/L) 和 NAA (0.1、0.5 mg/L) 的 MS 培养基上。接种 10 d 开始观察, 培养 45 d 时观察统计愈伤组织的分化情况。

1.2.4 不定芽的生根培养 剪取生长健壮、高 0.5 cm 以上的基部不定芽, 分别接种于附加不同浓度 NAA (0.0、0.1、0.3、0.6、0.9 mg/L) 和 IAA (0.0、0.3、0.6、0.9 mg/L) 以及 1/2MS 生根培养基中, 进行生根培养, 培养到 30 d 时观察统计, 重复 6 次, 取 6 次观察统计的平均值。

1.2.5 试管生根苗移栽和移植 将根系发达、植株健壮的试管苗移到直射光下练苗 3~4 d 后, 用镊子将试管苗取出, 在清水中洗净根部的培养基, 再分别移栽到蛭石、细沙、蛭石+细沙(1:1)、蛭石+珍珠岩(1:1)、细沙+珍珠岩(1:1)这 5 种基质的温室苗床中。保持空气湿度在 85%~90%, 温度控制在 20~25℃。25 d 后观察统计, 重复 6 次, 取 6 次观察统计的平均值。

2 结果与分析

2.1 生长激素浓度组合对愈伤组织诱导率的影响

由表 1 可以看出, 不同激素的种类和浓度明显影响愈伤组织的诱导率。不同生长素与细胞分裂素组合均有增效作用, 同一激素配比作用于不同外植体, 其效果也有很大差别。从试验结果综合分析, 嫩茎最适合做外植体, 且诱导率最高, 以 6-BA 0.5 mg/L + NAA

第一作者简介: 唐丽(1966-), 女, 湖南祁阳人, 博士, 副教授, 现主要从事森林植物培育及观赏园艺的教学与科研工作。E-mail: lily0286rose@163.com。

基金项目: 中南林业科技大学引进人才资助项目(104-0031)。

收稿日期: 2010-01-13

0.1 mg/L 的组合最好, 诱导的愈伤组织最多, 且结构致密, 呈绿色或浅绿色。

表 1 不同生长调节物质组合对愈伤组织诱导率的影响

组合	外植体类型	诱导率/ %						
		0	0.1	0.3	0.5	1.0	1.5	2.0
6-BA 0.5+NAA _x	嫩茎	12	92	29	78	54	66	24
	叶	6	87	26	69	46	58	19
6-BA 0.5+KT _x	嫩茎	18	20	50	27	50	48	22
	叶	12	18	27	45	46	40	43
NAA 0.1+KT _x	嫩茎	20	34	36	40	43	32	18
	叶	12	26	21	23	18	29	11

注: 表中 x 的浓度范围是 0.0、0.1、0.3、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L。

2.2 不同培养基对外植体诱导分化的影响

接种于不同培养基上的嫩茎、嫩叶在长成愈伤组织和不定芽的时间上有明显的差异, 接种于含 NAA 为 0.5 mg/L 培养基上的外植体在接种后 8~10 d 就有 70% 的茎切块的伤口上长出不定芽, 或诱导出形状不规则的浅绿色突起, 即愈伤组织。这些球状突起继续生长 2 周的时间, 可形成不定芽; 而接种于 NAA 为 0.1 mg/L 培养基上的外植体在 20 d 左右才长出愈伤组织或不定芽, 而且其长出愈伤组织和芽体的数量也有明显的不同, 比较结果如表 2 所示。

表 2 不同培养基对不同外植体诱导分化结果

部位	编号	激素浓度/ mg · L ⁻¹			每瓶接 种数/ 个	每瓶污 染数/ 个	诱导结果
		6-BA	NAA	KT			
嫩茎	1	1.0	0.5	0	4	0	芽体极少, 长势不好
	2	1.0	0.5	1.0	4	0	每瓶 10 个芽体
	3	1.0	0.5	2.0	4	1	每瓶 16 个芽体
	4	0.5	0.1	0.0	4	0	无分化
	5	0.5	0.1	1.0	4	1	芽体数量少
	6	0.5	0.1	2.0	4	0	每瓶 16 个芽体
嫩叶	7	1.0	0.1	1.0	4	1	长芽且长势好
	8	0.5	0.5	2.0	4	2	长芽, 长势差茎

2.3 生长激素浓度组合对分化苗的影响

将以上形成的生长良好的愈伤组织茎块转接到含有不同种类及不同浓度的 MS 培养基上, 培养条件如前所述。3 周后统计其分化情况, 结果见表 3。

表 3 生长激素浓度组合对分化苗的影响

组合	mg · L ⁻¹	接种数/ 个	分化数/ 个	分化率/ %
6-BA 0.5+NAA 0.5		30	12	40
6-BA 1.0+NAA 0.5		30	27	90
6-BA 1.0+NAA 0.1		30	18	60
6-BA 1.0+NAA 0.1		30	9	30

结果表明, 生长素与细胞分裂素对苗的分化都有重要作用, 而细胞分裂素的作用更明显。在红翅槭愈伤组织分化苗过程中, 激素配比以 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 效果最好

2.4 激素浓度对不定芽生根的影响

进行生根培养的不定芽, 有的培养到 10 d 即可形成

可见根原基。由表 4 可以看出, 在不加 IAA 而单独使用不同浓度 NAA 的培养基上红翅槭的不定芽不能生根, 而在单独使用不同浓度的 IAA 或不同浓度的 IAA 与 0.1 mg/L NAA 配合使用的培养基上, 不定芽均能生根。从平均生根率、单株生根数和试管苗长势 3 个方面看, 在 IAA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L 的培养基上, 不仅生根率达到了 100%, 单株生根数为 11.2 条, 而且生根试管苗生长旺盛。重复试验也得到相同的结果。上述结果说明, 1/2 MS+IAA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是红翅槭不定芽生根培养的理想培养基。

表 4 不同浓度植物生长调节剂对生根的影响

处理/ mg · L ⁻¹		接种数	生根数	生根率	平均生	试管苗长势
IAA	NAA	/ 个	/ 个	/ %	根数/ 条	
0.0	0.0	30	0	0	0.0	---
0.3	0.0	30	14	46	5.2	++
0.6	0.0	30	22	72	6.9	++
0.9	0.0	30	16	53	3.2	+
0.0	0.3	30	0	0	0.0	---
0.0	0.6	30	0	0	0.0	---
0.0	0.9	30	0	0	0.0	---
0.3	0.1	30	25	84	9.6	++
0.6	0.1	30	30	100	11.2	+++
0.9	0.1	30	18	60	5.6	+

2.5 不同基质对试管生根苗移栽和成活率的影响

当试管苗长出 3~5 条新根, 就可以出瓶移栽, 将试管苗移栽到 5 种不同基质上进行栽培试验。保持空气相对湿度在 85%~90%, 温度控制在 20~25℃。观察表明, 移栽后 15 d 可见试管苗成活生长, 蛭石+细沙(1:1)、蛭石+珍珠岩(1:1)、细沙+珍珠岩(1:1)这 3 种基质成活率无明显差异, 但小苗生长速率和生长势有差异。25 d 时的统计结果表明, 以蛭石+珍珠岩(1:1)为移栽的基质成活率最高, 平均为 95.3%, 并且移栽成活苗生长旺盛。

表 5 不同基质对小苗移栽的影响

基质	小苗数	成活率/ %	平均苗高/ cm	生长势
蛭石	30	86	5.3	++
细沙	30	88	6.0	++
蛭石+珍珠岩	30	93.2	5.8	++
细沙+珍珠岩	30	95.3	8.7	++++
蛭石+细沙	30	93.0	6.2	+++

3 结论与讨论

目前国内外已有许多植物组织培养的研究报道, 但新优景观树种红翅槭组织培养的研究未见报道。该研究以红翅槭的幼叶、嫩茎为材料, 成功地建立起红翅槭组织培养的技术体系, 满足园林绿化对红翅槭苗木的需求, 也为其快速繁殖提供技术参考。

试验在 5~6 月份进行, 选用嫩茎、嫩叶作为外植体, 研究结果证明: 嫩茎的分化率高, 嫩叶分化速率快。接种于不同培养基上的茎尖、嫩叶在形成愈伤组织和不

定芽的时间上有明显的差异,且长出愈伤组织和芽体的数量也有明显不同。从观赏园艺育苗的要求来说,应尽快出苗,尽快产生愈伤组织,以免在长期的培养过程中细胞分裂不正常,如染色体倍数发生变化,影响无性系的遗传性状,失去观赏价值或失去再生成苗的能力。

激素浓度、种类及不同组合对外植体的诱导和分化起着重要的作用。当浓度过低时,生长缓慢;浓度过高时,生长完全受抑制。试验结果证明,NAA添加剂量为0.5 mg/L培养基能相对较短的时间内诱导出较多的愈伤组织,并且愈伤组织生长相对旺盛一些。

MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L是嫩茎、嫩叶颗粒状愈伤组织和不定芽分化培养的理想培养基;1/2MS+IAA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L是不定芽生根培养的理想培养基。蛭石+珍珠岩(1:1)是试管苗移栽的理想基质。

参考文献

[1] 陈植. 观赏树木学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1984.

[2] 文澄. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 268-278.

[3] 姜长阳. 培养基琼脂用量的商榷[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(2): 53-54.

[4] 姚连芳, 周俊国, 殷桂琴. 百合组织培养试验研究[J]. 贵州农业科学, 1999, 27(3): 47-48.

[5] 顾福根, 孙丙耀, 韵宇飞, 等. 石龙尾的组织培养与快速繁殖技术研究[J]. 武汉植物学研究, 2008, 26(6): 639-643.

[6] 留孜义, 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, 1996.

[7] 郑纯凤, 丁莲, 方晨. 鹅绒委陵菜无性系建立及快速繁殖的研究[J]. 河北农业科学, 2008, 12(12): 35-37.

[8] 张健夫. 龙芽葱木的组织培养及快速繁殖的研究[J]. 福建林业科技, 2008, 35(4): 149-151.

[9] 程云清, 刘剑锋, 陈智文. 平榛组织培养与快速繁殖[J]. 林业科学, 2008, 44(12): 57-61.

[10] 孙月芳, 陆瑞菊, 周润梅, 等. 观赏水草的离体培养[J]. 上海农业学报, 2004, 20(2): 17-19.

[11] 高健, 杨劭. 沉水植物菹草的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(2): 251.

[12] 杨银萍, 史益敏, 陶懿伟. 虎耳兰的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(4): 462.

[13] 尹佳蕾, 赵惠恩. 黄花小山菊的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(5): 907.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Acer fabri* Hance

TANG Li¹, ZHONG Qiu-ping², LIU Xian-mei¹, ZHONG Li-zhi¹

(1. Resource and Environment College, Central South University of Forestry and Technology, Changsha Huan 410004; 2. The Experimental Centre of Subtropical Forestry, Fenyi, Jiangxi 336600)

Abstract: By Faber Maple Stem cut and new Leaves as seeding, carried on the adult plant regeneration and the rapid propagation research. The results indicated the differentiation rate of stem tip was high, the differentiation rate of leaves was quickly; inoculated in different culture medium on the tip, leaves in the formation of callus and adventitious buds on the time there was significant difference, and the grown callus and shoots the number of precursors were quite different; hormone concentrations, types, and different combinations of external explants induction and differentiation played an important role, MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L were stem cut and leaves granular callus and adventitious bud differentiation cultivate an ideal medium; 1/2MS+IAA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L adventitious buds were ideal for rooting culture medium; vermiculite and forest humus soil were red-winged maple transplanting in vitro ideal matrix, the average survival rate was 95.3% and survival of transplanted seedlings grew well.

Key words: *Acer fabri* Hance; tissue culture; rapid propagation