

火焰南天竹组织培养的研究

邓玉营¹, 吕秀立²

(1.常州工程职业技术学院 江苏 常州 213164 2.上海园林科学研究所, 上海 200232)

摘要:以火焰南天竹茎尖做为外植体, 研究其组织培养的条件。结果表明: 初代诱导培养基为 1/2WPM+6-BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 增殖培养基为 1/2WPM+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L, 生根培养基为 1/2WPM+IBA 0.1 mg/L, 移栽成活率达 90%。

关键词:火焰南天竹; 组织培养

中图分类号: Q 949.746.8 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)20-0141-03

火焰南天竹(*Nandina domestica* ‘Fire power’) 属小檗科南天竹属常绿灌木。与普通南天竹相比, 株形紧凑饱满, 分枝少, 节间特短, 观赏价值大大提高, 长江以南地区可以露地过冬, 市场需求量大。但是, 生产上通常采用扦插育苗法, 繁殖周期长, 繁殖率极低^[1-2]。关于火焰南天竹组织培养再生植株方面的报道很少, 生根困难和移栽成活率低的问题限制了火焰南天竹的大面积推广^[3-4]。该研究通过建立火焰南天竹组织培养体系, 进行产业化生产, 为市场提供种苗。

1 材料与方法

1.1 试验材料

取株型紧凑, 叶色红亮, 无病虫害火焰南天竹带芽茎段或茎尖做为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌苗建立 切取外植体, 流水冲洗 2 h 后, 75% 的乙醇杀菌 30 s, 0.1% 的升汞溶液杀菌 12 min 左右, 无菌水冲洗 5~6 次后, 无菌滤纸吸干表面水分, 接种于培养基中, 3 次重复, 每重复 10 瓶, 每瓶接种 1 丛生芽, 通过单因子随机区组试验筛选初代诱导培养基。

表 1 筛选初代诱导培养基单因子试验的因素与水平

处理	基本培养基	激素种类与浓度/mg · L ⁻¹
A ₁	改良 1/2WPM	BA 1+NAA 0.2
A ₂	WPM	下同
A ₃	1/2MS	
A ₄	MS	
A ₅	B5	

注: 培养基均为基本培养基+BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 30 mg/L, 琼脂 8 g/L, pH 5.7。

1.2.2 丛生芽的诱导与增殖 2 周后, 腋芽从叶腋处抽出, 无菌苗伸长到 1 cm 以上时, 接种于不同激素配比(NAA, BA, KT)的改良 1/2WPM 培养基(大量和微量元素减半, 蔗糖 30 mg/L, 琼脂 8 g/L, pH 5.7), 为筛选适合丛生芽诱导与增殖的培养基, 进行正交实验; 共设 16 个处理, 每因素设 4 个水平, 3 次重复, 每重复 10 瓶, 每瓶接种 1 丛生芽, 培养条件: 温度为(25 ± 2) °C, 光强度为 2 500 lx, 光周期 16 h/d, 8 周后统计增殖情况。

表 2 火焰南天竹增殖培养基激素水平正交实验

因素 水平	激素种类与水平/ mg · L ⁻¹		
	6-BA	KT	NAA
1	0.2	0	0
2	0.4	0.5	0.01
3	0.5	1.0	0.05
4	0.8	2.0	0.5

1.2.3 壮苗培养 在 1/2WPM+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L 培养基培养 7~10 d。

1.2.4 试管苗的生根试验 2 cm 高火焰南天竹无菌苗做生根培养, 每瓶 8 棵, 每个处理 10 瓶, 采用 IBA 和 ABT 2 种生长素随机试验, 组合具体如表 3。

表 3 筛选火焰南天竹生根最佳生长素及浓度

处理	ABT/mg · L ⁻¹	IBA/mg · L ⁻¹
C ₁	0	0.1
C ₂	0.1	0
C ₃	0.2	0.1
C ₄	0.3	0.2
C ₅	0.2	0.3
C ₆	0.5	0.5

1.2.5 试管苗驯化、移植 试管苗移植前置于自然光照下, 打开瓶盖练苗, 7~10 d 后, 洗净根部培养基, 放置通风、弱光 4~5 h, 移植在熟土、草炭、细沙(2:1:1)的混合基质中, 喷低浓度百菌清液, 2 周后增加尿素作叶面肥进行增殖期营养补充, 成活后移入苗圃。

第一作者简介: 邓玉营(1978-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向为生物工程。E-mail: yydeng@email.czie.net。
基金项目: 2007 年江苏省大学生实践创新训练计划资助项目(CX2008-09)。
收稿日期: 2010-07-02



图 1 丛生芽的发生 图 2 丛生芽的增殖

2 结果与分析

2.1 基本培养基的筛选

初代诱导培养 2 周后统计不同培养基芽的增殖系数,如表 4 所示,增殖系数最大的 A₁ (改良 1/2WPM)是理想的基本培养基。

表 4 不同基本培养基对火焰南天竹分化的影响

处理	1	2	3	和	平均值
A ₁	4.70	4.54	4.32	13.56	4.52
A ₂	3.01	2.45	2.89	8.35	2.78
A ₃	1.40	1.60	1.34	4.34	1.45
A ₄	1.62	1.13	1.66	4.41	1.47
A ₅	1.54	1.20	2.34	5.08	1.69
和	12.27	10.92	12.55	35.74	11.91
平均值	2.45	2.184	2.51	7.15	2.38

2.2 植物激素对芽分化的影响

外植体接种培养 1 周后,腋芽膨大、萌动,茎段基部出现了少量的淡黄色愈伤组织。1 cm 以上时,进行诱导与增殖培养,培养 8 周后,可观察到因激素种类、浓度的不同,不定芽的生长状况表现出明显的不同,外植体接种后 10~15 d 开始恢复生长,20~35 d 为迅速生长期,方差分析表明,植物激素对火焰南天竹增殖影响大小依次为 NAA、KT、BA;根据极差分析结果表明,最优处理为 B₆,最优增殖培养基激素的最优化组合为改良 1/2WPM+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L,火焰南天竹增殖系数为 4.36。

表 5 不同激素组合对火焰南天竹分化的影响

因素	BA	K T	NAA	平均增	幼苗生
处理	/mg · L ⁻¹	/mg · L ⁻¹	/mg · L ⁻¹	殖系数	长情况
B ₁	0.2	0	0	2.20	芽弱、黄化叶
B ₂	0.2	0.5	0.01	2.00	芽弱、黄化叶
B ₃	0.2	1.0	0.05	1.98	愈伤组织多
B ₄	0.2	2.0	0.5	1.85	愈伤组织多、苗矮小
B ₅	0.4	0	0.01	2.89	愈伤组织多
B ₆	0.4	0.5	0	2.60	愈伤组织多
B ₇	0.4	1.0	0.5	2.59	黄化叶、愈伤组织多
B ₈	0.4	2.0	0.05	2.80	苗矮小
B ₉	0.5	0	0.05	4.36	长势较好
B ₁₀	0.5	0.5	0.5	4.00	长势好
B ₁₁	0.5	1.0	0	4.50	长势较好
B ₁₂	0.5	2.0	0.01	3.81	苗矮小
B ₁₃	0.8	0	0.5	3.89	叶片玻璃化
B ₁₄	0.8	0.5	0.05	3.82	芽玻璃化、黄化叶
B ₁₅	0.8	1.0	0.01	3.98	芽玻璃化
B ₁₆	0.8	2.0	0	3.79	芽玻璃化

表 6 不同激素组合对火焰南天竹分化的影响方差分析

差异源	总平方和	自由度	均方	F 值	显著性
校正模型	12.432(a)	9	1.381	48.726	0.000
截距	162.945	1	162.945	5747.627	0.000
植物激素 BA	12.148	3	4.049	142.839	0.000
植物激素 KT	0.199	3	0.066	2.340	0.173
植物激素 NAA	0.085	3	0.028	1.000	0.455
误差	0.170	6	0.028		
总和	175.548	16			
总离差	12.603	15			

注: a R Squared= 0.987 (Adjusted R Squared= 0.966), SPSS 软件分析。

2.3 试管苗的生根

不同的生长素对生根的影响很大,处理 C₁ 没有愈伤组织产生,生根率达到了 95%,生根较快(图 3);处理 C₂、C₃ 生根少,有愈伤组织;C₄、C₅、C₆ 基部有褐色愈伤组织。所以 C₁ (1/2WPM+IBA 0.1 mg/L)为最佳生根培养基,生根率可以达到 95%。

2.4 试管苗移栽、应用

试管苗经过练苗,选择熟土、草炭、细沙按 2:1:1 的混合基质,喷低浓度百菌清液、尿素作叶面肥,成活率可以达到 90%(图 4)。



图 3 试管苗的生根 图 4 试管苗的移栽

3 结论与讨论

3.1 试管苗生根难的问题

不少文献报道降低培养基盐类含量或适当降低蔗糖浓度是诱导离体培养再生植株生根常用的方法^[5]。试验结果表明,培养基无机盐含量的减半的改良 1/2WPM 培养基添加低浓度的 IBA (0.1 mg/L)的生根培养基对火焰南天竹生根有良好的促进作用。培养基的 pH 明显影响根的形成,以微酸偏中性较为适宜,而 pH 7.0 以上或适合大多植物生长 pH 5.8 环境对其生长均不利。同王玉勤等人的研究一致^[1]。

3.2 木本植物组培周期长的问题

由于木本植物自身的生长发育特点,一般木本植物无菌培养周期较草本植物长,也是组培技术应用于木本苗木生产的一大障碍^[6]。用 MS 做为基础培养基,从诱导不定芽到植株发根,长成完整植株到 3 个月以上^[8],该研究从叶腋处抽出腋芽开始到练苗,大概 2 个多月,时间大大缩短,说明 1/2WPM 作为基本培养基比 MS 更适应火焰南天竹组培,在移栽入土时必须洗净培养基,保证环境湿度和根部不失水,提高成活率。

桤叶唐棣初代培养影响因素研究

杜保国¹, 杨锋利², 杨途熙³, 魏安智³

(1. 绵阳师范学院 生命科学与技术学院, 四川 绵阳 621000 2. 绵阳师范学院 城乡建设与规划学院, 四川 绵阳 621000

3. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 为了探索影响桤叶唐棣初代培养无菌苗建立的因素, 现以带芽茎段为外植体, 研究了不同消毒方式的消毒效果以及基本培养基类型和激素组合对初代培养的影响。结果表明: 10%次氯酸钠 10 min 和 0.1%升汞 2 min 混合使用的消毒方式, 取得了较好的消毒效果, 污染率和致死率均较低, 分别为 11.2%和 9.5%; MS 培养基为较适宜的初代培养, 其增殖芽数、茎芽长分别为 2.45 和 1.18 cm; 外植体在 MS+IAA 0.1 mg/L+6-BA 2.0 mg/L 上生长最好。

关键词: 桤叶唐棣; 初代培养; 影响因素

中图分类号: Q 949.751.8 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)20-0143-03

第一作者简介: 杜保国(1978-), 男, 硕士, 讲师, 现主要从事植物生态学和树木生理学研究的教学工作。E-mail: dubaoguol978@yahoo.com.cn.

通讯作者: 魏安智(1961-), 男, 教授, 现主要从事植物抗逆分子生物学, 经济植物遗传育种及植物资源利用等领域的教学和研究工作。E-mail: weianzhi@126.com.

收稿日期: 2010-07-29

桤叶唐棣(*Amelanchier alnifolia* Nutt)为蔷薇科苹果亚科唐棣属, 落叶小乔木或灌木^[1], 原产地为北美中西部, 是北美重要的经济树种, 也是加拿大优良的乡土果树之一。桤叶唐棣为深根性, 主根明显, 根系发达, 多分布在 40 cm 土层内, 有较强的固土能力。其喜光、耐寒、耐旱, 对气候和土壤有较强的适应能力, 可在栗钙土、黑钙土、褐色土和棕壤等多种土壤上生长。果实为梨果状浆果, 含糖量 11%~19%, 蛋白质 1.9%~9.7%。每 100 g 鲜果含钙 88 mg, 为百果之首, 含镁 400 mg、钾

参考文献

- [1] 王玉勤, 杜永芹, 倪林娟. 火焰南天竹的扦插繁殖法[J]. 上海农业科技, 2004(5): 97.
- [2] 杜永芹, 倪林娟, 王玉勤, 等. 观赏林木新品种火焰南天竹的引进与繁育技术研究[J]. 上海农业科技, 2007, 23(3): 38-41.
- [3] 黄一青, 王青华. 火焰南天竹的组织培养[J]. 农业科技通讯, 2002(11): 1.
- [4] 杜永芹, 倪林娟, 王玉勤. 耐寒彩叶树种火焰南天竹的快繁技术研究[J]. 上海农业学报, 2004, 20(4): 1-4.

- [5] 曹致义. 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.
- [6] 吴丽君. 木本植物组织培养技术在林业科研与生产中的应用与局限[J]. 福建林业科技, 2003, 30(1): 67-69.
- [7] 曹昆, 李霞. 木本植物组织培养不定芽诱导研究进展[J]. 江苏林业科技, 2008, 35(5): 43-48.
- [8] 周南踴, 黄一青, 王青华. 火焰南天竹的组织培养[J]. 农业科技通讯, 2002(11): 17.
- [9] 李慧. 彩叶树种火焰南天竹的离体快繁研究[J]. 江苏农业科学, 2010(1): 74-76.

Study on Tissue Culuture of *Nandina domestica* 'Fire power'

DENG Yu-ying¹, LV Xiu-li²

(1. Changzhou Institute of Engineering Technology, Changzhou, Jiangsu 213164; 2. Shanghai Institute of Garden, Shanghai 200232)

Abstract: Taking stem tip of *Nandina domestica* as explants, the condition of tissue culture were studied. The results showed that the optimal medium for inducing first generation was 1/2WPM+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, the optimal medium for proliferation was 1/2WPM+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L, the optimal medium for take root was 1/2WPM+IBA 0.1 mg/L, survival ration was 90%.

Key words: *Nandina domestica* 'Fire power'; tissue culuture