

金叶榆组培快速繁殖技术研究

唐晓杰, 孟范例, 程广有

(北华大学 林学院 吉林 吉林 132013)

摘要: 在 MS 培养基中分别加入不同质量浓度 6-苄基氨基腺嘌呤(6-BA)和吲哚酸(IBA)进行金叶榆组织培养, 探讨快速繁殖技术。结果表明: 随着培养基中激素含量增高, 形成愈伤组织的量也增多; 在 MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 培养基中的不定芽增殖数量最多(18.8), 无根苗在 1/2MS+IBA 1.0 mg/L 培养基上生根率最高(96%); 金叶榆试管苗移栽到腐殖土中成活率最高(97%), 河沙中成活率次之(76%), 旱田土上成活率最低(58%)。

关键词: 金叶榆; 组织培养; 繁殖

中图分类号: S 792.19 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)21-0156-03

金叶榆(*Ulmus pumila* cv. Jinye)榆科榆属, 系白榆变种, 又名中华金叶榆, 落叶乔木, 在干旱贫瘠条件下呈灌木状。叶片金黄色, 色泽艳丽; 树冠近圆形或卵圆形, 树冠丰满, 造型多样。3~4月开花, 4~6月果熟。金叶榆是寒冷、干旱及盐碱地区乔灌皆宜的优良彩叶植物新品种^[1]。金叶榆具有生长迅速、枝条密集、耐修剪的优点, 既可培育为黄色乔木, 作为园林风景树, 又可培育成黄色灌木, 广泛应用于绿篱色带造型^[2]。金叶榆还具有很强的适应性, 耐寒、抗旱、耐盐碱性较强, 应用金叶榆可以作为景观方面色彩的补充, 完善绿色生态建设, 在很多地区实现红、黄、绿交相辉映的园林景色^[3-6]。利用植物组织培养技术可以实现快速繁殖珍稀植物的目的。该试验探讨金叶榆组培繁殖关键技术, 为实现工厂化育苗提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2008年5月采集金叶榆的当年生枝条, 枝条先在流水中冲洗20~30 min, 将外部泥土、菌类等冲洗掉, 用刀片切除芽鳞外部多余的部分, 然后用洗洁精水溶液浸泡20 min, 流水冲洗30 min, 切成2 cm茎段, 在超净工作台上先用75%酒精消毒30 s, 再用0.1%氯化汞(HgCl₂)表面灭菌, 灭菌时间分别为7、8、9、10 min, 从氯化汞溶液中取出后用无菌蒸馏水冲洗4~5次, 每次约1 min, 最后用经过灭菌后的无菌滤纸吸去外植体表面的水分, 备用。

1.2 试验方法

第一作者简介: 唐晓杰(1965-), 女, 本科, 实验师, 研究方向为植物组织培养技术。

通讯作者: 程广有(1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向为林木遗传育种与生物技术。E-mail: cgy6868@sina.com

收稿日期: 2010-07-10

1.2.1 培养基 初级培养的培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L, 获得金叶榆的无菌苗后, 把无菌苗接种到增殖培养基中, 筛选出合适的增殖培养基。增殖培养基是在 MS 培养基中分别加入不同质量分数的 6-苄基腺嘌呤(6-BA), 吲哚丁酸(IBA), 每种培养基接种 50 瓶。pH 5.8, 配好的培养基经过常规灭菌后备用。

序号	增殖培养基中的激素组合	
	6-BA	IBA
1	0.0	0.1
2	0.5	0.1
3	1.0	0.1
4	1.5	0.1
5	2.0	0.1
6	3.0	0.1

1.2.2 试管苗生根及移栽 壮苗培养基: MS 培养基。生根培养基采用 3 种: 1/2MS 培养基; 1/2MS+IBA 0.5 mg/L; 1/2MS+IBA 1.0 mg/L。移栽基质: 河沙、旱田土和腐殖土。

1.2.3 培养条件 外植体接种到培养基中以后, 将培养瓶摆放在培养室内培养架上培养, 培养温度控制在 23~26℃, 光照时间是 12~14 h/d, 光照强度是 1 800~2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 无菌苗的筛选

用 0.1% HgCl₂ 溶液对外植体进行消毒时, 采用不同的消毒时间分别为 7、8、9、10 min 接种在初代培养基上。经过 2 周培养, 发现表面灭菌 8 min 的处理污染率最低。灭菌时间较长的 10 min 处理, 茎段两端坏死细胞较多, 生长缓慢(表 2)。

表 2 外植体表面灭菌时间与染菌率的关系

灭菌时间/min	数量/ 瓶	成活率/ 瓶	染菌率/ %
7	50	43	14
8	50	46	8
9	50	41	18
10	50	38	24

2.2 愈伤组织形成

把获得的无菌苗转接到增殖培养基上进行培养。发现培养基中激素含量高时, 出愈率高, 愈伤组织形成所需要的时间短(表 3)。由于加入的激素量不同, 形成的愈伤组织也不同, 质地有疏松、致密, 颜色有乳白色、淡黄色、淡绿色。表明激素含量对愈伤组织形成的时间和效果不同。其中 3 号培养基中的愈伤组织结构致密、表面光滑, 产量较多, 表明细胞分裂旺盛; 2 号培养基中的愈伤组织生长缓慢; 6 号培养基中的愈伤组织逐渐褐化。

表 3 激素对愈伤组织形成的影响

序号	出愈率 / %	可见愈伤组织时间/d	愈伤组织状况	愈伤组织多少
1	0	—	—	—
2	97.3	18	乳白, 疏松	较多
3	96.2	16	乳白, 致密	多
4	98.4	15	淡黄, 疏松	较多
5	98.1	14	淡绿, 疏松	较多
6	98.6	14	浅褐, 疏松	少

2.3 激素与不定芽增殖

由于培养基中激素含量不同, 不定芽发生的时间和数量也不同(表 4), 培养基中 6-BA 含量较高时, 不定芽发生较早; 在培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L(3 号)中不定芽数量较多, 并且不定芽生长旺盛, 在 MS 培养基中加入 6-BA 2.0 或 3.0 mg/L 时, 不定芽数量没有显著增加, 并且苗体细弱, 叶片数量也少。说明培养基中适当的 6-BA 含量有利于不定芽发生和生长, 3 号培养基不定芽增殖数量最多(18.8), 芽苗生长健壮, 表明 3 号培养基可以用作增殖培养基, 继代周期为 4 周。

表 4 激素含量与不定芽增殖效果

序号	芽体形成时间/d	数量/ 个	状况
1	—	0	—
2	26	12.4	旺盛
3	28	18.8	旺盛
4	24	13.6	较好
5	24	17.4	叶片少
6	21	15.9	叶片少

注: 不定芽个数是指每块愈伤组织形成的不定芽平均值。

2.4 壮苗与不定根诱导

从生的不定芽长到 3 ~ 4 cm 时, 开始壮苗培养, 将细弱的不定芽进行分割, 去掉愈伤组织后接种到壮苗培养基上, 经过 12 d 的培养, 芽苗变得粗壮。21 d 后, 将生长健壮的无根芽苗从培养瓶中取出, 接种到各种生根培养基上, 培养 2 周后部分芽苗开始发生不定根。培养 3 周时后, 不定芽在 1/2MS+IBA 1.0 mg/L 培养基上生根率最高(96%), 并且根系较发达, 在 1/2MS+IBA 1.5

mg/L 培养基上次之(75%), 在 1/2MS 培养基上生根率最低(54%)。

2.5 练苗与移栽

当试管苗长出 3 ~ 5 条不定根, 根长 1.5 cm 左右时, 在培养室内先将培养瓶盖去掉进行练苗, 练苗 24 h 后用镊子将试管苗从培养瓶中取出, 洗去试管苗粘附的培养基, 浸入到 1.0 g/L 的多菌灵水溶液中 30 min 进行药浴, 预防杂菌侵染。药浴后的试管苗移栽到各种基质中, 浇透水, 控制适宜的温湿度。第 1 周温度 23 ~ 25 ℃, 空气相对湿度为 80% ~ 90%; 第 2 周温度 19 ~ 22 ℃, 空气相对湿度为 70% ~ 80%; 第 3 周温度 18 ~ 21 ℃, 空气相对湿度为 60% ~ 70%。在移栽初期结合浇水每周喷 1 次 1.0 g/L 多菌灵水溶液。移栽 3 周后, 试管苗长出新叶, 发出新根。这时便可以转入自然条件下正常管理。在 3 种基质中, 试管苗在腐殖土中成活率最高(97%), 河沙中成活率次之(76%), 旱田土上成活率最低(58%)。

3 结论

3.1 最佳消毒时间

以金叶榆茎段为外植体进行组织培养时, 适宜的表面灭菌时间为 8 min。

3.2 愈伤组织

随着培养基中激素含量增高, 金叶榆茎段形成愈伤组织的量增加, 在 MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 时, 产生的愈伤组织有利于不定芽诱导。

3.3 增殖培养

愈伤组织在 MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 发生不定芽增殖数量最多(18.8), 芽苗生长健壮, 因此, 以该培养基为增殖培养基为最佳, 继代周期为 4 周。

3.4 不定根诱导

无根苗在 1/2MS+IBA 1.0mg/L 培养基上生根率最高(96%), 并且根系较发达, 1/2MS+IBA 1.5 mg/L 培养基上次之(75%), 1/2MS 培养基生根率最低(54%)。

3.5 移栽

金叶榆试管苗在在腐殖土中成活率最高(97%), 河沙中成活率次之(76%), 旱田土上成活率最低(58%)。

参考文献

[1] 徐振华. “新型彩叶植物—中华金叶榆的选育研究及应用”通过成果鉴定[J]. 林业科技开发, 2005(1): 19.

[2] 黄印冉, 张均营. 中华金叶榆在园林绿化中的应用[J]. 技术与市场(园林工程), 2004(12): 42-43.

[3] 杨广乐, 张红, 杨齐红. 寒地彩叶树种中华金叶榆[J]. 北方园艺, 2007(2): 118-119.

[4] 杨广乐, 王明明, 郭莹. 中华金叶榆寒地高接试验[J]. 东北林业大学学报, 2008(7): 12-13.

[5] 王玉林, 张克艰, 徐连峰. 黑龙江省西部半干旱地区引种中华金叶榆初报[J]. 防护林科技, 2008(3): 54.

[6] 张均营, 黄印冉, 任建新, 等. 中华金叶榆的繁育及在园林绿化中的应用[J]. 河北林业科技, 2006(2): 48-49.

不同培养基配方对 L-402 番茄愈伤组织的诱导研究

周金梅, 宫敬利

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

摘要: 在番茄的组织培养过程中, 愈伤组织生成的难易程度和数量直接影响到番茄组培苗培育的成功与否, 试验选用 L-402 番茄品种的叶片作为外植体, 通过 4 个水平浓度的 IAA 和 5 个水平浓度的 6-BA 进行比较试验, 寻求诱导愈伤组织途径。结果表明: MS 为基本培养基, 采用 0.2 mg/L IAA 水平、1.5 mg/L 6-BA 水平进行 L-402 番茄愈伤组织诱导效果最好。

关键词: L-402 番茄; 愈伤组织; 6-BA; IAA

中图分类号: S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)21-0158-03

番茄, 别名臭柿、西番柿、西红柿等。原产秘鲁, 20 世纪 50 年代后在我国开始大量栽培, 现在已经成为一种常见的蔬菜和水果。L-402 番茄是由辽宁省农业科学院园艺研究所选育的番茄一代杂交种, 目前在东北地区得到了广泛的推广。该品种果实扁圆形, 粉红色, 稍有绿果肩, 果面光滑, 果脐小, 平均单果重 250 g 左右, 一般 667 m² 产量 6 500 kg, 对病毒病和青枯病抗性较强, 适宜露地及保护地栽培。但目前生产上用播种法进行繁殖, 种子价格高、幼苗期的养护管理要求非常严格, 这些都影响到繁殖系数和生产成本。随着生物技术的发展, 其大量、快速、高效的特点使人们开始尝试采用离体繁殖的方法繁殖番茄, 已有成功的组培育苗报道。番茄的组培途径一般为: 幼叶—愈伤组织—不定芽—继代—生根—成苗^[1], 但在这个过程中, 幼叶转化为愈伤组织最为关键, 愈伤组织生成的数量和难易程度直接影响到番

茄组培苗培育的成功与否。因此针对 L-402 番茄品种, 该试验尝试选用多个配方对其幼叶进行诱导, 寻求出诱导愈伤组织的途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以 L-402 番茄的幼叶作为外植体, 从播种繁殖的植株上取材。播种的种子购于辽宁奇山种业有限责任公司。选用 MS 基本培养基、6-BA、IAA 2 种激素配比, 加入蔗糖的琼脂固体培养基, 用 100 mL 三角瓶及 500 mL 玻璃瓶培养^[2]。

1.2 试验方法

1.2.1 基本培养基及添加成分 基本培养基为 MS 培养基, 激素选用 6-BA 和 IAA, 琼脂为 7 g/L, 蔗糖 30 g/L, 培养基 pH 5.6~5.7^[3,4]。在 IAA 为 0.1 mg/L 水平条件下, 变动 6-BA 的用量, 分别记作: A₁: MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.1 mg/L; A₂: MS+6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.1 mg/L; A₃: MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.1 mg/L; A₄: MS+6-BA 2.5 mg/L+IAA 0.1 mg/L。在 IAA 为

第一作者简介: 周金梅(1976-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为园艺植物的育种与栽培。

收稿日期: 2010-07-22

Study on the Technology of Tissue Culture and Rapid Propagation of *Ulmus pumila* cv. Jinye

TANG Xiao-jie, MENG Fan-li, CHENG Guang-you

(College of Beihua University, Jilin, Jilin 132013)

Abstract: The technology of tissue culture and rapidly propagation of *Ulmus pumila* cv. Jinye was studied in MS medium plus 6-benzyladenine (6-BA) and indolebutyric acid (IBA). The results showed that the more hormone content in medium, the more callus will be. The number of adventitious buds in MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L were more than other medium. The good medium to induce root was 1/2MS+IBA 1.5 mg/L (96% rooted ratio). There was higher proportion of viability planted test-tube seedlings in the humus soil.

Key words: *Ulmus pumila* cv. Jinye; tissue culture; propagation