

紫叶稠李叶片离体培养再生植株

邢国杰, 高明, 谭化, 李俊波, 崔云志, 王中伟

(吉林省农业科学院 生物技术中心, 吉林 长春 130124)

摘要:以紫叶稠李为试材, 采用组织培养方法, 研究不同激素对其试管苗不定芽诱导、不定芽生根及成苗影响。结果表明: 叶片切块可诱导产生大量的不定芽, MS 附加 0.5 mg/L BA 和 0.01 mg/L NAA 的培养基不定芽诱导率为 50.1%; 利用植物激素 0.5 mg/L BA, 0.5 mg/L NAA, 0.5 mg/L KT 和 0.2 mg/L IBA 的组合, 不定芽可多次继代培养增殖; 不定芽在附加 0.4 mg/L IBA 的 MS 培养基上生根, 生根率为 67%。该试验结果说明, 紫叶稠李试管苗叶片可作为外植体离体培养获得再生植株, BA 是主要的调控植物激素, IBA 对生根有一定促进作用。

关键词:紫叶稠李; 不定芽; 离体再生

中图分类号:S 687 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)03-0166-03

紫叶稠李是一种观叶乔木树种, 也可修剪成灌木。白花, 紫红色果, 紫叶, 叶片大富于变色, 顶叶红色, 落叶晚, 有良好的观赏价值。耐-42℃低温, 抗高温, 抗性极强, 有突出的生长优势, 是目前国内彩化的唯一乔木树种。

紫叶稠李可播种繁殖培育生产用苗, 但种子繁殖后代变异较大, 后代中只有 50%~60% 为紫叶的稠李。目前苗木生产主要采用嫁接和扦插繁殖, 由于生根困难, 存在繁殖系数较低问题。

组培快繁技术可利用植物的茎、叶等组织, 经过培养获得大量的再生植株, 具有时间短, 见效快, 保持原有母株一切遗传性的特点, 将成为多年生园林植物主要繁殖手段。该试验旨在通过植物激素的调控, 建立紫叶稠李的离体再生体系, 进而达到快速繁殖的目的。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2009 年 3 月上旬, 从吉林市北山公园 4~5 a 生的紫叶稠李树上, 采集幼嫩未萌发枝条, 于温室内水培。7 d 后切下饱满的茎芽, 0.1% 氯化汞表面灭菌 10 min, 之后用无菌水冲洗 3~4 次。灭菌之后在无菌条件下去掉外层包叶, 然后接种于装有 25 mL 培养基的 100 mL 三角瓶中, 瓶口用透气性封口膜覆盖。接种培养于 MS (不附加任何激素) 和附加 0.5 mg/L BA, 0.01 mg/L NAA, 蔗糖 3%, 琼脂 0.8%, pH 5.8 的 MS 培养基上, 试管苗 2

周继代 1 次。

1.2 试验方法

茎芽培养获得的试管苗叶片切割成 3~5 mm² 的小块, 培养在 MS 固体培养基上, 附加 0.5 mg/L KT、0.2 mg/L IBA 以及不同浓度的 BA 和 NAA, 蔗糖 3%, 琼脂 0.8%, pH 5.8 培养基上。外植体近轴面向上放置于诱导培养基上, 每个处理 4 皿, 每皿 15 块外植体, 2 次重复。外植体直接置于光下培养, 15 μmol·s⁻¹·m⁻² 光强, 16 h 光照, (25±1)℃。

接种 2 个月统计。不定芽诱导率(%) = 再生不定芽的外植体数/接种外植体×100%; 平均每块外植体再生芽数(个/外植体) = 再生不定芽总数/再生不定芽的外植体数×100%。

诱导产生不定芽的外植体转至附加 0.5 mg/L BA、0.5 mg/L KT、0.5 mg/L NAA、0.2 mg/L IBA 的 MS 培养基上, 在新鲜培养基上不定芽进一步增殖。将生长 1~3 cm 高的不定芽转至 MS 附加不同浓度 GA₃ 和 IBA 的生根培养基中, 2 周左右长出 3~4 条健壮的根。4 周左右不定芽和根分别长至 4~5 cm, 去掉封口膜练苗移栽。

2 结果与分析

2.1 茎芽萌发

从水培枝条上获得的茎芽, 接种于附加 0.5 mg/L BA 和 0.01 mg/L NAA 的 MS 培养基上, 芽萌发频率达 49.5%, 每个茎芽平均可诱导 5.6 个不定芽。而接种于 MS 培养基上, 茎芽萌发只长成一个植株。2 种培养基上新生的不定芽生长状态一致, 健壮、叶片深绿色。结果表明, 对于紫叶稠李试管苗微繁, BA 可能是很有效的。

第一作者简介:邢国杰(1976-), 男, 研究实习员, 研究方向为果树和大豆组织培养及遗传转化。

通讯作者:王中伟(1969-), 男, 本科, 副研究员, 研究方向为园艺植物遗传转化。E-mail: wangzhongwei@cjaas.com。

收稿日期:2010-12-30

2.2 叶片诱导不定芽

以紫叶稠李试管苗的幼嫩叶片为外植体,在不同浓度 BA 和 NAA 的培养基上诱导不定芽。试验观察,约有 16.7%外植体没有任何应答,并在 3 周之后干枯变褐,逐渐死亡。其余的外植体应答很好,接种 2 周后边缘出现紫红色愈伤组织,4 周后在愈伤组织上开始出现不定芽(图 1),随后的 2 周内不定芽大量出现。



图 1 愈伤组织诱导不定芽

不同的培养基诱导形成不定芽能力有明显差异(表 1),其中外植体不定芽诱导率以附加 1 mg/L BA 和 0.5 mg/L NAA 的 MS 培养基最好,诱导率 50.1%。每个外植体形成不定芽数则以附加 2 mg/L BA 的 MS 培养基最好,平均不定芽数 4.76 个。当 BA 为 5 mg/L 时,只诱导出愈伤组织,呈褐色、疏松状态,无不定芽再生。将这些愈伤组织转至 MS 附加 1.0 mg/L BA, 0.5 mg/L NAA ,0.5 mg/L KT 和 0.2 mg/L IBA 培养基,4 周仍然没有诱导出不定芽。结果表明:以紫叶稠李试管苗的幼嫩叶片为外植体,不定芽诱导率高低与 BA 和 NAA 浓度组合有关,BA 在 0.5~2.0 mg/L,NAA 在 0.5~1.0 mg/L 浓度组合均可诱导;而外植体形成的不定芽数则受激素种类和浓度影响,BA 效果最好,在 1.0~2.0 mg/L 浓度范围内可单独诱导不定芽产生,且随 BA 浓度提高而增加,2 mg/L 达到最高,NAA 促进作用不明显,与 BA 组合对外植体形成不定芽产生一定抑制作用。

表 1 不同浓度 BA 和 NAA 组合对叶片诱导不定芽的影响

激素浓度/mg·L ⁻¹		不定芽诱导率	每块外植体
BA	NAA	/%	平均不定芽数
0	0	0	0
0	0.5	0	0
0	1.0	0	0
0.5	0	0	0
0.5	0.5	20.1	2.5
0.5	1.0	39.9	3.0
1.0	0	30.0	3.34
1.0	0.5	50.1	3.30
1.0	1.0	35.1	1.72
2.0	0	29.8	4.76
2.0	0.5	30.0	2.66
2.0	1.0	15.0	2.34
5.0	0	0	0
5.0	0.5	0	0
5.0	1.0	0	0

2.3 不定芽增殖

诱导出不定芽的外植体继代培养增殖,培养基为 MS 附加 0.5 mg/L BA、0.5 mg/L KT、0.5 mg/L NAA、0.2 mg/L IBA。2 周继代 1 次,不定芽不断地增殖,每次继代不定芽平均增殖 4.7 个,与最初接种茎芽的增殖能力接近,继代 20 余次之后不定芽增殖数仍然很多,但是生长势明显下降,表现为细弱,发黄,落叶,不易生根。

2.4 不定芽生根

切离生长健壮的丛生芽转接到 MS 培养基上生长,1 周后分离 1~3 cm 高的单个不定芽,继代到 MS 附加 GA₃ 和 IBA 的培养基中生根(表 2)。

结果表明,IBA 对不定根生成作用显著,GA₃ 效果不明显。不加 IBA 培养基上的不定芽 4 周没有任何应答,而加 IBA 培养基上不定芽 2 周时开始生根(图 2)。不定根的诱导与 IBA 浓度有关,在一定浓度范围内,浓度与生根率呈正相关。0.2 mg/L IBA 培养基平均生根率为 20%,0.4 mg/L IBA 的培养基平均生根率为 67%,所有的重复处理均获得相同的生根率。GA₃ 与 IBA 所有浓度的组合处理,对诱导不定芽生根均无明显影响,仅在 2.0 mg/L 时,生根率较高一些。分析可能刺激不定芽分枝,形成较多叶片,增强光合作用,使得植株生长旺盛的结果。

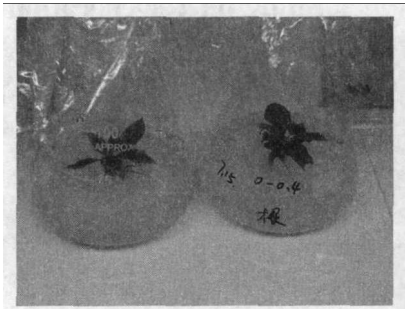


图 2 不定芽生根

表 2 不同浓度 GA₃ 和 IBA 组合对不定芽生根的影响

激素浓度/mg·L ⁻¹		不定芽生根率/%
GA ₃	IBA	
0	0	0
0	0.2	18
0	0.4	66
0.5	0	0
0.5	0.2	20
0.5	0.4	67
1.0	0	0
1.0	0.2	20
1.0	0.4	66
2.0	0	0
2.0	0.2	22
2.0	0.4	69

2.5 再生植株移栽

将 3~4 cm 高,有 3~4 条新生根的植株练苗,期间需经常不断向瓶口(瓶口覆盖 2 层纱布)喷水保湿。3 d 后从瓶中取出小苗轻轻抖掉根上的培养基,移栽到装有花土的盆中,压实花土避免生长霉菌,导致小苗腐烂,通风避强光处生长至完全成活,再移至自然条件下正常生长,成活率 85%。

3 讨论

紫叶稠李试管苗叶片可作为外植体离体培养获得再生植株,BA 是主要的调控植物激素,但是浓度太低没有效果,浓度太高则具有抑制作用,试验结果与很多木本植物组织培养试验结果基本一致,只是浓度有一些差异^[1-2]。BA 浓度为 2 mg/L 时,每块外植体诱导不定芽数最多,BA 浓度为 0.5 mg/L 时不定芽继代增殖能力最强。随着继代次数的增加,不定芽生长势减弱,直至无法生根,无论怎样调整 BA 的浓度都无法恢复。因此,BA 的调控作用在紫叶稠李离体再生过程中的作用是有一定限制的。

木本植物组织培养诱导产生不定芽,但都存在生根

难的问题^[3-4]。该试验利用较高浓度的 IBA 促进不定芽生根,得到较高的生根率。试验只设计 0.2 mg/L 和 0.4 mg/L 浓度处理,不定芽均生根,但生根率差别很大,由此初步确认紫叶稠李生根对 IBA 比较敏感。木本植物离体培养再生的一个重要目的就是应用于快繁,该研究中 67% 的生根率还是比较低,提高生根率还需要对 IBA 的最佳浓度进一步试验确定。GA₃ 对不定芽生根作用不是十分明显,但还有一定的作用,筛选与 IBA 优化组合可能使生根率大幅度提高,这还有待于大量的筛选实验证明。

参考文献

- [1] 常酒滔,于萍,雍一丘,等. 辽东槭木的离体培养及植株再生研究[J]. 沈阳农业大学学报 2005,36(2):185-188.
- [2] Stoltz L P. In Vitro Propagation of *Dianthus Caryophyllus* [J]. Hort-science. 1981,14(6):702-703.
- [3] 李胜,杨德龙,李唯,等. 植物试管苗离体生根的研究进展[J]. 甘肃农业大学学报,2003,38(4):373-384.
- [4] 冯斌,景士西,王关林. 苹果叶片不定芽的高频诱导及植株再生的研究[J]. 辽宁师范大学学报,1998,21(4):310-314.

Study on Regeneration Plant of *Prunus Wilsoni* Leaves *in vitro*

XING Guo-jie, GAO Ming, TAN Hua, LI Jun-bo, CUI Yun-zhi, WANG Zhong-wei

(Bio-technique Research Center, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 130124)

Abstract: Rapid propagation of *Prunus Wilsoni* was preliminary studied using leaves of testtube seedling for *in vitro* culture. The results showed that the a chip of leaf from test-tube plantlet were cultured, a mass of adventitious shoots were induced with MS medium containing BA 0.5 mg/L + NAA 0.01 mg/L, its induction rate was 50.1%; and combination with BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L + KT 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L, adventitious shoots could be used repeatedly to subculture proliferation; rooting was induced with adventitious shoots in MS supplemented of IBA 0.4 mg/L, rooting rate was 67%. Thus the leaf of testtube seedling can be used as explant for rapid propagation of *Prunus Wilsoni*.

Key words: *Prunus Wilsoni*; adventitious shoot; regeneration *in vitro*