

红王子锦带茎段组培快繁体系的建立

李 芳, 任雪芹, 孙扬吾, 朱元娣, 张 文

(中国农业大学 农学与生物技术学院, 果树逆境生理与分子生物学北京市重点实验室, 北京 100193)

摘 要:以当年生红王子锦(*Weigela florida* cv. Red Prince)幼嫩带有腋芽的茎段为外植体, MS 为基本培养基, 通过不同的外植体消毒方式筛选出消毒的最佳方式和最佳时间, 通过对植物生长激素的种类和浓度的调整, 筛选出红王子锦带的最佳扩繁培养基和最佳生根培养基。结果表明:使用 0.1% 的 HgCl_2 消毒 7 min 效果优于其它时间和 NaClO 的消毒效果, 最佳的继代增值培养基为 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 2.0 mg/L, 其丛芽诱导率为 4.2。对扩繁苗进行生根培养, 最佳生根培养基为 1/2MS+IBA 0.6 mg/L, 移栽至营养土中栽培, 成活率为 100%。

关键词:红王子锦带; 组织培养; 植物生长调节剂

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)08-0115-03

红王子锦带(*Weigela florida* cv. Red Prince)为忍冬科锦带花属落叶开张性灌木, 叶椭圆形, 嫩枝淡红色(杭州地区为绿色), 老枝灰褐色。夏初开花, 花朵密集, 花冠胭脂红色, 艳丽悦目, 开花盛期从 5~7 月, 花序到 10 月份仍陆续不断。王子锦带的花为腋生聚伞花序和顶生圆锥花序, 花筒状漏斗形, 花色鲜红, 观赏价值较高, 并且具有抗旱、抗高温、抗盐碱、抗病等诸多抗性, 非

常适宜作为绿化植物。其繁殖方式可采用播种、扦插、分株或压条等。但常规的繁殖方法受到季节限制、成活率较低^[1-4]。应用组织培养可以加速优良种苗的繁殖。该试验的目的是研究基本培养基、植物生长调节剂种类和浓度对红王子锦带芽苗增殖和生长的影响, 并进行了生根培养基的筛选, 为建立高效离体再生配套技术体系奠定科学基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用植物材料为红王子锦带当年生幼嫩且带有腋芽的新生枝条, 采自中国农业大学科技园。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 将采回的枝条上的叶片剪掉, 将枝

第一作者简介:李芳(1983-), 女, 博士, 研究方向为果树生理与分子生物学。E-mail: a2006055001@163.com。

责任作者:张文(1955-), 男, 本科, 副教授, 现主要从事果树生长发育系统调控与高效栽培研究工作。

基金项目:北京市教育委员会科技成果转化与产业项目。

收稿日期:2012-02-01

[3] 王向荣, 林菁. 西方现代景观设计的理论与实践[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2002.

[4] 郭晶华, 沈中伟. 美德日景观设计浅析及其对我国的启示[J]. 四川建筑, 2006, 26(6): 14-17.

[5] 贾彩霞. 德国景观规划之印象[J]. 山西建筑, 2007, 33(17): 51-53.

[6] 王旭东, 潘波. 德国居住区景观浅谈[J]. 科技信息(科学教研), 2007(6): 364, 367.

Discussion of Ecological and Economical Design Application in Gardens in Germany

WU Li-wei

(Ningbo City College of Vocational Technology, Ningbo, Zhejiang 315000)

Abstract: Ecological economical design is pursued by the people more and more, with the actual of garden in Germany, the concept of ecological economical design about recycling of energy and natural resources was explained; the maximum conservation of water resources; the biggest playing of ecological benefit and environment benefit of landscape, and its application in gardens in Germany, in order to put these ideas into the home garden.

Key words: ecological and economical; gardens in Germany; recycling; ecological landscape

条截成大约 1 cm 的小段,每个茎段上带 1 个腋芽。在 10% 的消毒剂中浸泡 20 min,并用流动的清水冲洗 30 min。在超净工作台中,用 70% 的酒精浸泡外植体 30 s。然后采用不同的消毒方式进行处理。分别用 10% NaClO 消毒 10、15、20 min;0.1% HgCl₂ 浸泡 5、7、10 min,接下来使用无菌水冲洗 6 次,最后用无菌滤纸吸去红王子锦带茎段上的残留水分。

1.2.2 初代培养 将消毒后的外植体材料正插于培养基中,每瓶插入 5 株。分别接种在 MS 基本培养基^[5],加入 3% 的蔗糖,0.7% 的琼脂,pH 5.6。MS+BA 2.0 mg/L,25℃,每种培养基中接种 50 个外植体。接种后,首先置于 24℃、暗培养 3 d。然后置于光照处。光下的培养条件:培养室温度保持在 24℃,光暗周期为 16 h/8 h,光照强度为 3 000 lx。15 d 后,当腋芽生出后,将腋芽转移至增殖培养基上进行筛选。

1.2.3 外植体增殖培养基的筛选 培养 30 d 后,将健壮的幼梢转到增殖培养基上。根据加入的植物生长激素的种类和浓度的不同,设计了 7 种增殖培养基:MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 1.0 mg/L;MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 1.5 mg/L;MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 2.0 mg/L;MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 2.0 mg/L;MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 2.0 mg/L。每个处理分别接种 20 株。每隔 30 d 继代培养 1 次。统计继代 2 次后每株外植体所萌发的丛芽数量、增殖倍数和生长情况。培养条件:光照培养箱内温度设定 24℃,光照强度 3 000 lx,光暗周期为 16 h/8 h。

1.2.4 生根培养基的筛选 MS 培养基作为生根试验的基本培养基,统计进行生根培养 20 d 后幼苗的生根数量及根的生长状况。培养基中分别附加不同浓度的 IBA 和 NAA,共 6 种培养基:MS;1/2MS;1/2MS+IBA 0.4 mg/L;1/2MS+IBA 0.6 mg/L;1/2MS+NAA 0.4 mg/L;1/2MS+NAA 0.6 mg/L。每个处理分别接种 20 株。培养条件:光照培养箱内温度设定 25℃,光照强度 3 000 lx,光暗周期为 16 h/8 h。

1.2.5 生根苗的移栽 组培苗生的根系生长至 4~6 cm 左右(进行生根培养后大约 20 d 左右),苗高约 4 cm。将组培瓶的封口膜打开,并往瓶中注入少量清水,防止培养基干裂。置于组培室中进行练苗 3~5 d,将组培苗取出洗净。将植株定植于营养土中(营养土:蛭石=1:1),培养条件为温度 25℃,相对湿度 80%,光照强度为 3 000 lx。

2 结果与分析

2.1 外植体消毒方式对成活率的影响

由表 1 可知,将用不同消毒方式处理过的红王子锦带的茎端在 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培

养基上培养 20 d,对试验结果进行分析统计,结果表明,HgCl₂ 的消毒效果明显优于 NaClO,但并非时间越长越好,使用 HgCl₂ 消毒 5 min,成活率为 68%,但未成活的主要原因是污染产生,有霉菌或细菌生长。7 min 的消毒效果最好,成活率达到 92%,未成活的主要是外植体腋芽处发生了褐化死亡。外植体消毒 10 min 时,死亡情况非常严重,成活率仅为 43%。外植体死亡的主要原因是整个茎段和腋芽都严重褐化。因此,用 0.1% 升汞消毒外植体 7 min 效果最好。

表 1 不同消毒时间对红王子锦带茎段组织培养存活率的影响

消毒方式	消毒时间 /min	接种数 /个	成活数 /株	成活率 /%	外植体生长情况
10% NaClO	10	50	27	54	出现了霉菌和细菌生长
10% NaClO	15	50	42	84	没有细菌或霉菌生长,个别与培养基接触的位置发生轻微褐化
10% NaClO	20	50	31	62	部分外植体褐化,有细菌生长
0.1% HgCl ₂	5	50	34	68	出现了霉菌和细菌生长
0.1% HgCl ₂	7	50	46	92	没有霉菌或细菌生长,叶片展开,深绿
0.1% HgCl ₂	10	50	22	44	多数严重褐化死亡

2.2 初代培养

将王子锦带含有腋芽的茎段接种在 MS+BA 2.0 mg/L 培养基上,经 15 d 培养,腋芽长高,并且颜色鲜绿,生长茁壮。

2.3 不同浓度和种类生长调节物质对红王子锦带增殖的影响

选用不同的生长调节物质组合,对初代培养后的植株进行扩繁,扩繁 20 d 后对数据进行统计分析。由表 2 可看出,培养基组合 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 2.0 mg/L+蔗糖 40 g+琼脂 7 g,pH 5.8 的平均丛芽数为 4.2,丛芽诱导率为 96%,同样高于其它培养基组合。培养基 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 和 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 的丛芽诱导率虽然也比较高,但植株节间短,且叶片呈现轻微的玻璃化现象。同反含 BA 和 NAA 培养基比较,随着 BA 和 KT 浓度的同时提高,分蘖明显增加,平均丛芽数和丛芽诱导率有所提高,同时叶片也由嫩绿变为深绿,植株更为健壮。

2.4 不同浓度的生长调节物质对红王子锦带生根的影响

生根试验结果表明,对扩繁后的红王子锦带进行生根培养后,20 d 后对生根结果进行统计。表 3 所使用的培养基均能够诱导生根,试验所用培养基中,不附加任何激素的 MS 培养基诱导效果最差,生根率仅为 32%。尽管 1/2MS 的诱导生根率较高,为 65%,但仍远远低于添加了激素的培养基,而且根的生长速度较为缓慢。IBA 诱导生根效果显著高于 NAA。其中 1/2MS+IBA 0.6 mg/L 的效果最好,生根率达到 93%,平均生根数量

表 2 不同的培养基配方对红王子锦带增殖培养的影响

培养基	接种数/个	平均丛芽数/个	丛芽诱导率/%	生长情况
MS+BA 2.0 mg/L +NAA 0.1 mg/L	20	2.0	93	叶片嫩绿,卷缩,成丛生,节间短
MS+BA 2.0 mg/L +NAA 0.2 mg/L	20	1.8	92	叶片嫩绿,展开,成丛生,矮小
MS+BA 1.0 mg/L +NAA 0.2 mg/L +KT 1.0 mg/L	20	2.3	67	生长壮,分蘖少,叶片深绿,节间长
MS+BA 1.0 mg/L +NAA 0.2 mg/L +KT 1.5 mg/L	20	2.9	72	生长壮,分蘖少,叶片深绿,节间长
MS+BA 1.0 mg/L +NAA 0.2 mg/L +KT 2.0 mg/L	20	3.3	76	生长壮,分蘖少,叶片深绿,节间长
MS+BA 1.5 mg/L +NAA 0.1 mg/L +KT 2.0 mg/L	20	3.7	87	生长壮,分蘖较多,叶片深绿,节间长
MS+BA 2.0 mg/L +NAA 0.1 mg/L +KT 2.0 mg/L	20	4.2	96	分化大量丛生芽,叶片深绿,茎粗壮,节间长

为 8.3,整个组培瓶几乎被繁密的根系所覆盖。植株的生长也极为旺盛,叶片深绿,茎粗壮,叶片展开。

表 3 IBA 和 NAA 对红王子锦带诱导生根效果的影响

培养基	接种数/个	平均丛芽数/个	丛芽诱导率/%	生长情况
MS	20	3.2	32	根细且短
1/2MS	20	4.6	65	根粗壮,须根较少,生长缓慢,根老化快
1/2MS+IBA 0.4 mg/L	20	6.1	84	根粗壮,基本主根较少
1/2MS+IBA 0.6 mg/L	20	8.3	93	根粗壮,侧根多,新生根乳白色,无老化现象
1/2MS+NAA 0.4 mg/L	20	5.4	74	根粗壮,末端呈粉红色,须根较多
1/2MS+NAA 0.6 mg/L	20	7.2	87	根粗壮,侧根多,新生根更细长

2.5 组培苗的移栽与成活率统计

将在 1/2MS+NAA 0.6 mg/L 和 1/2MS+IBA 0.6 mg/L 培养基上进行生根培养后的王子锦带组培苗进行移栽,统计成活率。结果表明,移栽 10 d 后成活率分别达到 94% 和 100%,因此,1/2MS+IBA 0.6 mg/L 可作为最优生根培养基。

3 结论

该研究结果表明,王子锦带组织培养以茎段为外植

体,0.1%的 HgCl₂ 消毒 7 min 效果较好。10%NaClO 消毒 15 min 效果比较好,但在培养时间长了之后仍然会有霉菌生长。红王子锦带的扩繁培养基中同时含有 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 2.0 mg/L 时的扩增效果最好,诱导生长的芽颜色鲜绿,生长茁壮而且扩繁倍数高。同仅含有 BA 和 NAA 的培养基比较,激动素 KT 的使用能够显著提高红王子锦带的扩繁能力。生根培养基使用 1/2MS+IBA 0.6 mg/L 较为适宜,根的生长条数和生长状态都优于其它培养基。同 NAA 相比,使用 IBA 其生根效果更好。而且随着 IBA 浓度的提高,生根效果显著提高。不但生根时间快,而且根系较粗,侧根发达,没有发生主根老化的现象,因此更有利于移栽成活。

参考文献

[1] 李瑜明,那宁馨,齐秀兰,等.红王子锦带的芽诱导及快速繁殖[J].中国林副特产,2002(3):44.
[2] 王进茂,张法勇,张涛.红王子锦带花组培微繁的研究[J].河北林果研,2000(9):236-239.
[3] 张永红,许晓波.红王子锦带花的离体快速繁殖[J].植物生理学通讯,1995(5):357-358.
[4] 王圣芹.一簇柔条缀彩霞—花叶矮锦带[J].园林,2000,97(6):39.
[5] 李浚明,韩碧文.植物组织培养教程[M].北京:北京农业大学出版社,1991.

In vitro Rapid Propagation of *Weigela florida* cv. Red Prince Stem-segment

LI Fang,REN Xue-qin,SUN Yang-wu,ZHU Yuan-di,ZHANG Wen

(College of Agriculture and Biotechnology,China Agricultural University,Key Laboratory of Beijing Municipality's Stress Physiology and Molecular Biology for Fruit Trees,Beijing 100193)

Abstract: The stem-segments with axillary buds of *Weigela florida* cv. Red Prince were used as the explant. MS was used as basic medium to carry out *in vitro* culture to select optimal medium,also the best sterilization method and time were selected. The results indicated that 0.1% HgCl₂ for 7 min was the best way. Its effects were better than 10% NaClO. The appropriate cultured medium for regeneration was MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 2.0 mg/L and the best root-induced cultured medium was 1/2MS+IBA 0.6 mg/L. All of the complete plants with roots were grown in the soil were survived.

Key words: *Weigela florida* cv. Red Prince;propagation;plant growth regulator