

“罗宾戈登”银桦组培苗不定根的诱导

李湘阳, 曾炳山, 裘珍飞, 刘 英

(中国林业科学研究院 热带林业研究所, 广东 广州 510520)

摘 要:对“罗宾戈登”银桦组织培养中影响不定根诱导的因素进行研究。结果表明:培养基中的大量元素、蔗糖及活性炭的浓度变化对“罗宾戈登”银桦的生根有显著影响;IBA 对“罗宾戈登”银桦的生根有促进作用;最适生根培养基为 1/4MS 大量元素+1/2MS 微量元素+IBA 0.75 mg/L+糖 35 g/L+活性炭 0.05 g/L。

关键词:“罗宾戈登”银桦;组织培养;生根

中图分类号:Q 949.751.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)19-0145-04

“罗宾戈登”银桦(*Grevellia* ‘Robyn Gordon’)属山龙眼科银桦属观赏灌木,原产澳大利亚,高可达 2 m,冠幅达 3 m,叶片二回分裂,花红色,于 21 世纪初由种植户引入中国广东。“罗宾戈登”银桦由于叶形美丽,花色美艳,且在气候适宜的地方几乎可全年开花,在澳大利亚极受欢迎并被广泛种植。引入中国后其独特的叶形及超大的花序(长 15 cm,宽 9 cm)也引起人们的喜爱,在园林绿化中的需求量逐年增加。但“罗宾戈登”银桦是红色 *Grevellia banksii* 和 *Grevellia bipinnatifida* 的杂交品种,超过 99% 的花粉败育,所以几乎不产生种子,只能通

过无性繁殖的方式获得苗木。因此,“罗宾戈登”银桦苗木的来源稀少而紧张,满足不了日益增长市场的需求。由于“罗宾戈登”银桦被引入中国市场的时间比较短,目前相关的无性繁殖方面的报道较少。在开展“罗宾戈登”银桦组织培养研究的过程中发现组培苗生根存在一定难度。因此通过对培养基各成分进行研究,探讨了大量元素、微量元素、植物生长调节剂、蔗糖的质量浓度及活性炭对“罗宾戈登”银桦组培苗生根的影响,以期筛选出“罗宾戈登”银桦组培苗生根培养的最佳条件,为工厂化育苗提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

用于生根的“罗宾戈登”银桦组培苗来源于中国林业科学研究院热带林业研究所林木生物技术组培与基因工程实验室,是由腋芽诱导的在继代增殖培养基上培

第一作者简介:李湘阳(1970-),女,博士,副研究员,现主要从事林木生物技术组培与基因工程研究工作。E-mail: lisunny126@126.com.

基金项目:国家林业局“948”计划资助项目(2012-4-63)。

收稿日期:2012-06-13

[4] 杨广乐,宋兆,王军.北方园林露地草本花卉新品种—“大花滨菊”的栽培及应用[J].北方园艺,1994(2):43.

[5] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.

[6] 崔继梅,梁艳丽,谢世清.魔芋组培快繁中常见的几个问题及对策[J].云南农业大学学报,2008,23(1):96-98.

[7] 孙庆春,郑成淑,丰震.菊花玻璃化苗与正常苗的生理特性比较[J].山东农业科学,2009(5):45-47.

Study on Rapid Propagation *in vitro* of *Leucanthemum maximum*

WANG Hua-yu, ZHANG Shu-ming, HE Gui-zheng

(Qinzhou Forestry Science Research Institute, Qinzhou, Guangxi 535000)

Abstract: The stems of *Leucanthemum maximum* were used as explants, the aseptic shoots induction, propagation of the plants *in vitro*, rooting and transplanting were studied. The results showed that the best media for inducing new butts was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L; the best media for propagation was MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.03 mg/L; the best media for rooting was 1/2MS+IBA 0.5 mg/L. The proper subculture cycle was about 25 days and the rooting stage took about 15 days. The rooting rate was as much as 95% and the survival rate of transplanting was 100%.

Key words: *Leucanthemum maximum*; aseptic shoots; tissue culture

养的“罗宾戈登”银桦再生苗。挑选生长健壮的再生苗用于生根培养。

1.2 试验方法

1.2.1 大量元素对组培苗生根的影响 将无根“罗宾戈登”银桦组培苗分别接种于含 1/4MS、1/2MS、3/4MS、MS 4 种不同浓度大量元素的培养基中。每个处理组合重复 15 瓶,每瓶接 7 个外植体。

1.2.2 微量元素对组培苗生根的影响 将无根“罗宾戈登”银桦组培苗分别接种于含 1/2MS、3/4MS、MS 微量元素生根培养基中,其中大量元素均为 1/4MS。每个处理组合重复 15 瓶,每瓶接 7 个外植体。

1.2.3 IBA 的质量浓度对组培苗生根的影响 将无根“罗宾戈登”银桦组培苗接种于含不同浓度(0.125、0.250、0.500、0.750、1.000 mg/L) IBA 且大量元素为 1/4MS 的培养基中。每个处理组合重复 12 瓶,每瓶接 8 个外植体。

1.2.4 蔗糖的质量浓度对组培苗生根的影响 将无根“罗宾戈登”银桦组培苗分别接种于含不同浓度蔗糖(20、25、30、35、40 g/L)且大量元素为 1/4MS 的培养基中。每个处理组合重复 12 瓶,每瓶接 13 个外植体。

1.2.5 活性炭对组培苗生根的影响 将无根“罗宾戈登”银桦组培苗分别接种于含不同浓度(0、0.05、0.10、0.15 g/L)活性炭培养基中,培养基中大量元素均为 1/4MS。每个处理组合重复 12 瓶,每瓶接 13 个外植体。以上培养基中均添加琼脂 7 g/L,培养基 pH 为 5.8,培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照时间 12 h/d,光照强度 2 000 lx。所有处理培养 3 周后,统计生根百分率(生根苗数/接种苗数)。受污染影响,试验结束时可测定的重复数不等。

1.3 数据分析

所得数据用 SAS 软件进行单因素不等重复试验方差分析。

2 结果与分析

2.1 大量元素对组培苗生根的影响

由图 1 可知,培养基中较高的离子浓度对“罗宾戈登”银桦组培苗的生根表现出明显的抑制作用。在含

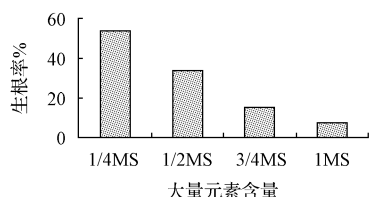


图 1 不同大量元素对“罗宾戈登”银桦组培苗生根率的影响

Fig. 1 Effects of macroelement on rooting of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

MS 大量元素培养基中,生根率只有 7.55%。当逐渐降低 MS 培养基中大量元素离子浓度时,生根率开始提高。在含 1/4MS 大量元素培养基中,生根率最高,达到 53.92%。方差分析显示,不同离子浓度的 MS 培养基对生根率的影响达到极显著水平(表 1)。可见培养基中大量元素的浓度是决定“罗宾戈登”银桦组培苗生根的主导因素。因此,应选择低离子浓度的含 1/4MS 大量元素培养基用于生根诱导,既可获得较高的生根率,又可以降低成本。

表 1 “罗宾戈登”银桦大量元素试验结果方差分析

Table 1 Variance analysis for macroelement test of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

| 变异来源 | 自由度 | 平方和 | 均方 | F 值 | Pr>F |
|------|-----|--------|--------|-------|--------|
| 模型 | 3 | 1.8589 | 0.6196 | 28.54 | <.0001 |
| 大量元素 | 3 | 1.8589 | 0.6196 | 28.54 | <.0001 |
| 误差 | 54 | 1.1723 | 0.0217 | | |
| 总计 | 57 | 3.0312 | | | |

2.2 微量元素对组培苗生根的影响

由图 2 可知,培养基中微量元素含量的变动对“罗宾戈登”银桦组培苗的生根影响不大。方差分析也显示培养基中不同含量的微量元素对生根没有显著的影响(表 2)。不过出于成本的考虑,依然可采用较低含量微量元素培养基进行生根诱导。

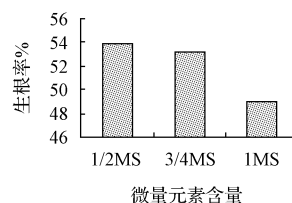


图 2 不同微量元素对“罗宾戈登”银桦组培苗生根率的影响

Fig. 2 Effects of microelement on rooting of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

表 2 “罗宾戈登”银桦微量元素试验结果方差分析

Table 2 Variance analysis for microelement test of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

| 变异来源 | 自由度 | 平方和 | 均方 | F 值 | Pr>F |
|------|-----|--------|--------|------|--------|
| 模型 | 2 | 0.0199 | 0.0100 | 0.28 | 0.7595 |
| 微量元素 | 2 | 0.0199 | 0.0100 | 0.28 | 0.7595 |
| 误差 | 38 | 1.3876 | 0.0360 | | |
| 总计 | 40 | 3.0312 | | | |

2.3 IBA 的质量浓度对组培苗生根的影响

由图 3 可知,IBA 的质量浓度的变化导致“罗宾戈登”银桦组培苗的生根率出现 10%~20%的波动,在 IBA 浓度为 0.125~0.750 mg/L 范围内,随着 IBA 浓度的增加,生根率明显上升,在 IBA 浓度为 0.750 mg/L,生根率最大达到 72.73%。但当 IBA 的质量浓度达到 1 mg/L 时,生根率开始下降。然而 IBA 各处理间差异未达显著性水平(表 3),这表明 IBA 对“罗宾戈登”银桦组

育苗的生根有一定的促进作用,但没有显著的影响。可见,最适宜诱导生根的 IBA 浓度是 0.750 mg/L。

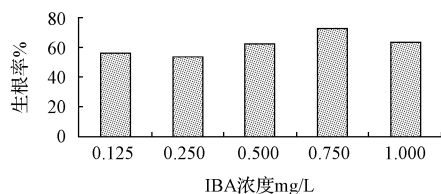


图 3 不同浓度的 IBA 对“罗宾戈登”银桦组培苗生根的影响

Fig. 3 Effects of IBA on rooting of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

表 3 “罗宾戈登”银桦 IBA 浓度试验结果方差分析

Table 3 Variance analysis for IBA test of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

| 变异来源 | 自由度 | 平方和 | 均方 | F 值 | Pr>F |
|------|-----|--------|--------|------|--------|
| 模型 | 4 | 0.3231 | 0.0808 | 1.74 | 0.1513 |
| IBA | 4 | 0.3231 | 0.0808 | 1.74 | 0.1513 |
| 误差 | 63 | 2.9165 | 0.0463 | | |
| 总计 | 67 | 3.2396 | | | |

2.4 蔗糖对组培苗生根的影响

由表 4 可知,“罗宾戈登”银桦组培苗生根率在不同蔗糖浓度水平间存在极显著差异。说明合适的蔗糖浓度对根的诱导起重要作用。随着蔗糖浓度升高,生根率也提高(图 4),当蔗糖浓度达到 35 g/L 时,生根率最高,为 54.44%。再提高蔗糖浓度,生根率开始呈现下降趋势,因此合适的蔗糖浓度应采用 35 g/L。

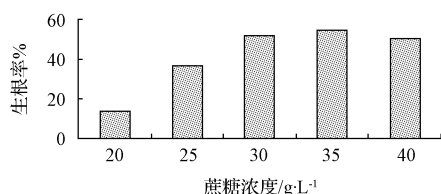


图 4 不同浓度的蔗糖对“罗宾戈登”银桦组培苗生根的影响

Fig. 4 Effects of sucrose on rooting of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

表 4 “罗宾戈登”银桦蔗糖浓度试验结果方差分析

Table 4 Variance analysis for sucrose test of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

| 变异来源 | 自由度 | 平方和 | 均方 | F 值 | Pr>F |
|------|-----|--------|--------|-------|--------|
| 模型 | 4 | 1.4417 | 0.3604 | 20.48 | <.0001 |
| 蔗糖 | 4 | 1.4417 | 0.3604 | 20.48 | <.0001 |
| 误差 | 54 | 0.9503 | 0.0176 | | |
| 总计 | 58 | 2.3921 | | | |

2.5 活性炭对组培苗生根的影响

由图 5 可知,随着活性炭浓度的增高,“罗宾戈登”银桦生根率呈现先升高后下降的趋势,当浓度为 0.05 mg/L 时,生根率最高,可见少量活性炭的加入对生

根率的提高有明显的促进作用。方差分析显示不同浓度活性炭处理,生根率差异显著(表 5)。所以活性炭的运用必须适当,过高有害无益。诱导“罗宾戈登”银桦组培苗生根的最适活性炭浓度是 0.05 g/L。

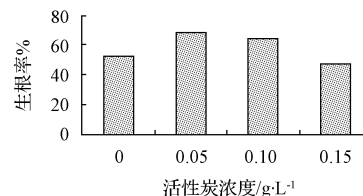


图 5 活性炭对“罗宾戈登”银桦组培苗生根的影响

Fig. 5 Effects of AC on rooting of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

表 5 “罗宾戈登”银桦活性炭试验结果方差分析

Table 5 Variance analysis for AC test of tube plantlets of *Grevellia* 'Robyn Gordon'

| 变异来源 | 自由度 | 平方和 | 均方 | F 值 | Pr>F |
|------|-----|--------|--------|------|--------|
| 模型 | 3 | 0.3168 | 0.1056 | 3.73 | 0.0192 |
| 活性炭 | 3 | 0.3168 | 0.1056 | 3.73 | 0.0192 |
| 误差 | 38 | 1.0771 | 0.0283 | | |
| 总计 | 41 | 1.3939 | | | |

3 结论与讨论

该试验结果表明,培养基中的大量元素含量、蔗糖浓度、活性炭含量对“罗宾戈登”银桦组培苗的生根都有显著甚至极显著的影响。在一定范围内,IBA 能明显促进“罗宾戈登”银桦组培苗的生根。适宜的“罗宾戈登”银桦组培苗的生根培养基是:1/4MS 大量元素+1/2MS 微量元素+IBA 0.750 mg/L+糖 35 g/L+活性炭 0.05 g/L。

大量元素的含量和蔗糖浓度对“罗宾戈登”银桦组培苗的生根率都有极显著影响,说明这 2 个因素是决定生根率的主导因子。大量的研究报道证明降低培养基中大量元素的浓度,可以提高生根率^[1-6],其原因可能是培养基中的盐浓度影响了渗透压,从而影响试管苗对营养的吸收和向培养基中释放物质^[7]。不过很多植物适合诱导生根的大量元素浓度是 1/2MS,当进一步降低大量元素浓度时,生根率开始下降^[1,3,5-6]。然而“罗宾戈登”银桦组培苗生根却需要更低的大量元素浓度(1/4MS),这说明培养基中的高离子强度强烈抑制了“罗宾戈登”银桦组培苗的生根。

众多的研究表明,组培苗不定根形成过程中最佳蔗糖浓度因植物种类而异。一些植物在进行组培苗生根诱导时都需要采用相对于继代增殖较低的蔗糖浓度^[8-10]。而另一些植物则需要保持与继代增殖一样的蔗糖浓度才有利于生根,过低或过高都会抑制生根,如喜树^[11]、草珊瑚^[12]。也有植物生根诱导时对蔗糖不敏感,如诱导红叶石楠生根时无论培养基中的蔗糖浓度是

30 g/L 还是 15 g/L 对生根率都没有显著影响^[5]。而“罗宾戈登”银桦组培苗的生根则需要高于增殖培养时的蔗糖浓度,这种情况比较少见,不过,在洋桔梗的生根培养中也有类似的情况^[13]。生根培养基中的蔗糖一方面是植物生根诱导能量供应的碳源,另一方面也起调节培养基渗透势作用,蔗糖浓度过低可能导致无根苗处于饥饿状态,浓度过高则有可能导致渗透压过高而引起植物细胞脱水^[14]。所以对大多数植物的生根诱导而言,找到最适合的蔗糖浓度是很关键的。

活性炭在生根培养中的作用是提供生根的暗环境,防止褐变,提高培养体内可溶性蛋白和总糖的含量,吸附植物生长调节剂与其它有利生根的物质^[15]。可见活性炭一方面可能会促进生根^[16-17],另一方面也可能抑制生根^[18-20]。所以活性炭在不同植物生根培养中的作用相差甚远。当促进作用大于抑制作用的时候,培养基中加活性炭是有利于生根的,超过一定量就会表现抑制生根^[16-17]。“罗宾戈登”银桦组培苗接入生根培养基后,在基部有轻微褐变现象,可能是植物内源酚类物质析出导致,而加入少量活性炭则能吸附酚类物质从而促进生根,不过当活性炭浓度增加时,可能是活性炭对生长调节剂及其它有利生根的物质的吸附太多,导致对生根的抑制作用超过了促进作用,所以生根率开始下降。因此,活性炭在植物组织培养生根诱导中的作用是一分为二的,必须要慎重考虑。

参考文献

- [1] 王莉,李春燕.无机盐质量浓度及激素配比对四倍体刺槐组织培养苗生根的影响[J].江苏林业科技,2003,30(6):23-25.
- [2] 王慧梅,王文杰,董凤丽,等.影响喜树组织培养苗离体生根的因素[J].植物学通报,2004,21(6):673-458.
- [3] 周瑞金,刘孟军.枣叶片再生试管苗生根研究[J].河北农业大学学报,2006,29(2):19-22.
- [4] 孙伟.野生柳穿鱼试管苗生根与移栽的试验研究[J].北方园艺,2010(13):169-170.
- [5] 陈建中,孙庆俊,张海洋,等.培养基成分对红叶石楠增殖和生根的影响[J].北方园艺,2010(21):180-182.
- [6] 张敏,黄利斌,蒋泽平.蝴蝶兰组织培养生根影响因子的筛选[J].江苏林业科技,2011,38(1):20-22.
- [7] 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.
- [8] 孙清荣,刘庆忠,赵红军,等.培养基及培养条件对西洋梨试管苗生根的影响[J].落叶果树,2004(1):1-3.
- [9] 罗天宽,张小玲,唐征,等.糖及 pH 值对生姜脱毒试管苗继代增殖和生根的影响[J].江西农业学报,2006,18(6):81-82.
- [10] 彭丽萍,董丽.樟子松组织培养不定根的诱导[J].中南林业科技大学学报,2008,28(1):93-97.
- [11] 王慧梅,王文杰,董凤丽,等.影响喜树组织培养苗离体生根的因素[J].植物学通报,2004,21(6):673-458.
- [12] 朱淑颖,张海洋,杨志红,等.草珊瑚试管苗生根培养研究[J].安徽农业科学,2010,38(28):15545-15547,15563.
- [13] 毛元荣,汤敏,路群.洋桔梗组织培养生根的初步研究[J].广西农业科学,2004,35(2):94-96.
- [14] Beruto M, Lanteri L, Portogalic C. Micropropagation of Tree Peony (*Paeonia suffruticosa*) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2004, 79: 249-255.
- [15] 荆占育,别志强,曹斌.活性炭在促进组培苗植物生根中的作用[J].湖南农业科学,2010(7):3-5.
- [16] 王平红.活性炭对蓝莓组培苗生根的影响[J].安徽农业科学,2010,38(22):11762-11763.
- [17] 王俊,朱端卫,杨特武,等.林荫银莲花组培苗生根培养基的优化[J].华中农业大学学报,2010,29(4):508-512.
- [18] 杨振德,朱麟,谢立群,等.百部组织培养中不定根的诱导[J].江西农业大学学报,2003,25(4):566-570.
- [19] 朱丽华,吴小芹.湿地松组培苗生根的影响因子[J].东北林业大学学报,2005,33(5):15-18.
- [20] 邹娜,徐楠,曹光球,等.福建山樱花试管苗生根条件的优化[J].江西农业学报,2008,20(4):26-29.

Induction of Adventitious Roots During Tissue Culture of *Grevillia* ‘Robyn Gordon’

LI Xiang-yang, ZENG Bing-shan, QIU Zhen-fei, LIU Ying

(Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou, Guangdong 510520)

Abstract: Factors influencing root induction in rapid propagation of *Grevillia* ‘Robyn Gordon’ were studied. The results showed that macroelement, sucrose and AC (Activated Charcoal) had significant effect on root induction. IBA promoted rooting. The optimal rooting medium was 1/4 MS macroelement + 1/2 MS microelement + IBA 0.75 mg/L + sucrose 35 g/L + AC 0.05 g/L.

Key words: *Grevillia* ‘Robyn Gordon’; tissue culture; rooting