

文章编号:1000-2340(2006)02-0152-04

不同植物生长调节物质配比及有机添加物对泰山红石榴外植体生长分化的影响

陈延惠¹, 陈海燕¹, 李东伟², 李洪涛³, 胡青霞¹, 和月霞⁴

(1. 河南农业大学林学院园艺学院, 河南 郑州 450002; 2. 新郑市林业局, 河南 新郑 451100; 3. 郑州市园林科研所, 河南 郑州 450003; 4. 焦作市园林局, 河南 焦作 454150)

摘要:以泰山红石榴茎段为材料, 比较了不同植物生长调节物质配比以及有机添加物(椰汁、香蕉汁、水解乳蛋白)对外植体增殖和生根的影响。结果表明, 泰山红石榴的最适增殖培养基为 $MS + 6-BA 1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其增殖系数达到 3.1; 最适生根培养基为 $1/2 MS + NAA 1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其生根率达到 73%; 椰汁对石榴外植体的存活率作用显著。

关键词:石榴; 组织培养; 增殖培养; 生根培养; 有机添加物

中图分类号: S 665.4

文献标识码: A

Effects of Different Plant Growth Regulator Rations and Organic Compounds on Growth and Differentiation of the Explant of Taishanhong *Punica granatum* L.

CHEN Yan-hui¹, CHEN Hai-yan¹, LI Dong-wei², LI Hong-tao³, HU Qing-xia¹, HE Yue-xia⁴

(1. College of Forestry and Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Xinzheng Forestry Bureau, Xinzheng 451100, China; 3. Zhengzhou Institute of Urban Landscape and Architecture, Zhengzhou 450003, China; 4. Jiaozuo Gardens Bureau, Jiaozuo 454150, China)

Abstract: The effects of different plant growth regulator rations and different organic additives (coconut juice, banana juice, lactalbumin hgdrolysate) on the multiplication and rooting of explants from Taishanhong *Punica granatum* L. were compared. The results show that the most suitable multiplication medium were optimum with $MS + 6-BA 1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the multiplication index of shoot was 3.1; the best rooting media was optimum with half-strength $MS + NAA 1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the growing rate of root was 73%. Coconut juice had the most significant effect on the survival ratio of the explant.

Key words: *Punica granatum* L.; tissue culture; multiplication culture; rooting culture; organic additives

石榴(*Punica granatum* L.)为石榴科石榴属多年生落叶果树, 又名安石榴, 在我国已有 2 000 多年的栽培历史, 主要分布在我国的陕西、河南、山东、安徽等 20 多个省区^[1]。石榴绝大多数良种是采用无性繁殖, 以保持其优良性状的遗传稳定性和一

致性。但传统的无性繁殖方法繁殖的数量少、速度慢, 不能适应现代化生产要求。通过组织培养, 可以快速大量进行繁殖和推广, 在短期内提供大量的无性苗木。作者拟对泰山红石榴品种组织培养的几个关键技术进行研究, 探索其快繁方法, 为进一步开

收稿日期: 2006-01-11

基金项目: 河南省科技攻关项目(0324070050); 河南省科技攻关项目(0424050013)

作者简介: 陈延惠(1963-), 女, 河南南阳人, 副教授, 硕士, 主要从事果树遗传育种学科科研和教学工作; 通讯作者: 胡青霞。

展生物技术育种奠定基础.

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为泰山红石榴,取自河南农业大学石榴资源圃.于 2004 年 11 月从成年泰山红石榴树上,剪取一年生休眠(落叶)枝条,在清水中浸泡 24 h 后,扦插在灭菌后的蛭石中,25 d 后休眠芽陆续萌发成幼嫩的枝条.

1.2 试验方法

1.2.1 石榴组织培养苗增殖的培养 将泰山红石榴幼嫩枝条用自来水冲洗 5~10 min.在超净工作台上切取带芽茎段 1.0 cm 左右,分别用体积分数为 75% 的乙醇^[6]浸泡 30 s 和质量分数为 0.1% 氯化汞浸泡 8~10 min^[2],再用无菌水漂洗 3~5 次,然后分别接种在含有不同质量浓度 IBA 和 6-BA 组成的 MS 培养基^[4]上(表 1),其中蔗糖 30 g·L⁻¹,琼脂粉 6 g·L⁻¹,椰汁 200 mL·L⁻¹,pH 调至 5.8.每个处理 10 瓶,每瓶 6 个外植体.接种完成后放入光照培养箱中培养,温度(25±2)℃^[5],光照时间 16 h·d⁻¹,光照强度为 1 500~2 000 lx(培养条件下同).40 d 后统计茎段外植体增殖结果.分化芽以 1cm 以上为标准.

增殖系数 = 分化芽数/接种芽数

表 1 不同植物生长调节物质增殖培养基处理组合

Table 1 Media of multiplication culture with different plant growth regulators

处理编号 No. of treatment	处理组合/(mg·L ⁻¹) Media treatment of multiplication
I	MS + 6-BA 0.5 + IBA 0.1
II	MS + 6-BA 1.0 + IBA 0.1
III	MS + 6-BA 1.2 + IBA 0.1
IV	MS + 6-BA 1.5 + IBA 0.3
V	MS + 6-BA 1.5 + IBA 0.5

1.2.2 根的诱导 当增殖芽长到 3~5 cm 时,从茎基部切下,分别放入附加 NAA 和 IBA 的 1/2 MS (大量元素减半)的生根培养基上,其中蔗糖 30 g·L⁻¹,琼脂粉 6 g·L⁻¹,椰汁 200 mL·L⁻¹.每个处理 6 瓶,每瓶 5 个外植体,先暗培养 7 d,然后放入光照培养箱中培养,培养条件同上.20 d 后开始观察其根原基萌发情况,30 d 时统计生根数.

1.2.3 不同有机添加物处理 在附加 6-BA 1 mg·L⁻¹和 IBA 0.1 mg·L⁻¹的 MS 培养基中,分别添加椰汁、香蕉汁、不同浓度的水解乳蛋白作为不同处理(表 2),每个处理 10 瓶.其中蔗糖 30 g·L⁻¹,琼脂粉 6 g·L⁻¹,pH 调至 5.8.上述处理每瓶培养基量均

为 30 mL.20 d 时统计存活率.

表 2 不同有机添加物处理

Table 2 Different organic additive treatments

处理编号 No. of treatment	有机物种类 Organic compounds	添加量/(mg·L ⁻¹) Weight of organic compounds
I	椰汁	200
II	香蕉汁	100
III	水解乳蛋白	500
IV	水解乳蛋白	100
CK	0	0

1.2.4 炼苗和移栽 将生根天数不同的试管苗进行炼苗移栽.将试管苗在强光下闭瓶炼苗 15 d,移栽时除去留在根上的琼脂后,迅速植入经过高温灭菌的以蛭石与草炭土配质量比为 1:2 的基质中.一次性浇透无菌的 1/2MS 营养液,炼苗期间在穴盘苗上覆盖塑料薄膜以防水分散失.保持室内湿度 80%~85%,室温为 25~28℃,每天光照 12~14 h,隔 7 d 用 1/2MS 营养液喷洒 1 次.

1.2.5 数据处理 实验数据采用邓肯氏新复级差测验法进行比较,显著水平 $P \leq 0.05$.

2 结果与分析

2.1 不同生长调节物质组合对石榴芽外植体增殖的影响

在含有不同质量浓度 IBA 和 6-BA 组合的培养基上泰山红石榴茎段外植体的增殖结果见表 3.由表 3 可以看出,当 6-BA 质量浓度为 1.2~1.5 mg·L⁻¹时,试管苗增殖系数较高,分别为 3.1,3.3,3.6.随着 6-BA 浓度逐渐增加,增殖系数增加.但当浓度等于或超过 1.5 mg·L⁻¹时,外植体培养后长势逐渐变弱、节间细长、叶面积减小、有玻璃化现象.故泰山红石榴芽外植体增殖的最佳培养基组合为 MS + 6-BA 1.2 mg·L⁻¹ + IBA 0.1 mg·L⁻¹(图 1).



图 1 不同生长调节物质组合对泰山红石榴芽增殖情况

Fig.1 Effects of different plant growth regulator rations on the multiplication of shoots of the Taishanhong Punica granatum L.

表3 不同生长调节物质配比对泰山红石榴芽外植体增殖的影响

Table 3 Effects of different plant growth regulator ration on the multiplication of shoots from Taishanhong *Punica granatum* L.

处理编号 No. of treatment	增殖系数 Multiplication coefficient	40 d 后生长状况 Growth status after 40 days
I	1.9 e	生长旺盛,但增值率低
II	2.7 d	苗壮,增值率一般
III	3.1 c	苗壮,增值率高且继代后无玻璃化现象
IV	3.3 b	增值率高,但继代培养后有玻璃化现象
V	3.6 a	增值率增高,但继代培养后有玻璃化现象

2.2 不同质量浓度 IBA 和 NAA 处理对泰山红石榴根诱导率的影响

不同种类的生长素及浓度对泰山红石榴幼芽根诱导的影响见表4.由表4可以看出,不同质量浓度 IBA 及 NAA 对泰山红石榴生根株数、生根条

数、生根率、根生长情况均有不同程度的影响.添加 NAA 的植株的根长势较好且粗壮,而添加 IBA 的植株的根多且细长.添加 NAA 的比添加 IBA 的植株生根情况好其中 1/2 MS + NAA 1.2 mg·L⁻¹ 培养基生根率达 73%,根粗壮且发育整齐(图2),为泰山红石榴的最佳生根培养基.

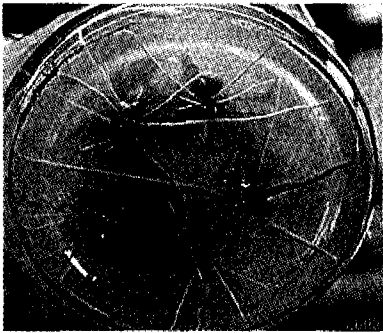


图2 不同生长调节物质组合对泰山红石榴幼芽根诱导情况

Fig.2 Effects of different concentration of IBA and NAA on the rooting of Taishanhong *Punica granatum* L.

表4 不同质量浓度 IBA 和 NAA 处理对石榴幼芽生根率的影响

Table 4 Effects of different concentration of IBA and NAA on the rooting ratio of Taishanhong *Punica granatum* L.

处理/(mg·L ⁻¹) Treatment	接种数 Number of inoculation	生根株数 Number of shoot rooted	平均根数 Average number of roots per shoot	生根率/% Rooting ratio	根生长情况 Growth of roots
IBA 0.5	24	8	4.25 c	33.3 e	根细长
IBA 1.0	28	16	3.56 d	57.1 e	细长且毛根多
NAA 0.1	26	13	2.77 e	50.0 d	根较细弱
NAA 0.5	28	20	2.20 f	71.4 ab	根较粗壮
NAA 1.0	30	21	4.52 b	70.0 b	根较粗壮
NAA 1.2	30	22	6.63 a	73.0 a	粗壮且发育整齐
NAA 1.5	30	17	4.59 b	56.7 c	根较粗壮

2.3 不同有机添加物对泰山红石榴芽外植体存活率的影响

在附加 6-BA 1 mg·L⁻¹ 及 IBA 0.1 mg·L⁻¹ 的 MS 培养基中,添加不同的外源添加物(表5).由表4可以看出,处理 I 的芽外植体生长旺盛,伸长生长明显,无落叶现象,存活率达 100%,因此,添加 200 mL·L⁻¹ 椰汁可以成功地抑制石榴组培苗的落叶(图3).处理 II 的芽外植体生长较旺盛,伸长生长不明显,部分叶片黄化脱落死亡,存活率 79%.如果不添加任何外源物,芽外植体易黄化落叶死亡,存活率仅 5%.

2.4 泰山红石榴组织培养苗的炼苗和移栽

25 d 后石榴组培苗开始萌发根原基.试验结果

表明:生长 35 d 的组培苗的根白色幼嫩,易折,移栽成活率较低.而生长 45 d 的组织培养苗组培苗



图3 添加 200 mL·L⁻¹椰汁泰山红石榴芽存活情况
Fig.3 Survival of shoots of Taishanhong *Punica granatum* L. adding 200 mL·L⁻¹ coconut juice

的根系褐色、粗壮,木质化,移栽成活率较高,存活

率可达 80%(图 4).

表 5 不同有机添加物对泰山红石榴芽外植体存活率的影响

Table 5 Effects of different organic additives on the survival of shoots of Taishanhong <i>Punica granatum</i> L.		
处理编号 No. of treatment	存活率/% Survival ratio	外植体生长状况 Growth status of explants
I	100.0 a	生长旺盛,伸长生长明显,无落叶现象
II	79.0 b	生长较旺盛,伸长生长不明显,部分叶片黄化脱落
III	31.0 c	生长不旺盛,叶片均出现黄化脱落
IV	28.6 d	伸长生长缓慢,叶片均出现黄化脱落
CK	5.0 e	叶片脱落,茎秆褐化端梢枯死,外植体几乎全部死亡



图 4 移栽成活的泰山红石榴组织培养苗
Fig.4 Vigor plant produced by tissue culture

3 小结与讨论

1)以不同质量浓度 6-BA 和 IBA 组合诱导石榴芽外植体增殖,MS + 6-BA 1.2 mg·L⁻¹ + IBA 0.1 mg·L⁻¹为最佳增殖培养基,增殖系数为 3.1.随着 6-BA 浓度的提高,增殖系数也相应的提高;但是当 6-BA 浓度等于或超过 1.5 mg·L⁻¹继代培养时,后代出现玻璃化苗;同时随着继代次数的增加,组培苗活力也下降.对于石榴组培苗的更新复壮,作者认为选择相对壮苗的茎尖继代培养,效果较好.

2)不同质量浓度 IBA 和 NAA 对生根培养的结果表明,添加 NAA 的植株主根明显且粗壮,而添加 IBA 的植株根细长且毛根多.泰山红石榴的最佳生根培养基为 1/2 MS + NAA 1.2 mg·L⁻¹,生根率达 73%,其根粗壮且发育整齐.

3)植物组织培养中常用的有机添加物如椰汁、番茄汁、苹果汁和马铃薯等,它们对细胞和组织的增殖和分化有明显的促进作用^[6].在本实验中,分别以椰汁、香蕉汁、水解乳蛋白为有机添加物对泰山红石榴进行组织培养,结果表明,200 mL·L⁻¹椰汁可以成功地抑制泰山红石榴组织培养苗的落叶,香蕉汁次之.

4)石榴组织培养苗移栽时,苗的生长状况、根的木质化程度、强光下炼苗的时间、基质的灭菌以及移栽的时期对移栽成活率都有一定的影响,有待进一步的研究.

参考文献:

[1] 冯玉增,宋梅亭.我国石榴生产现状与发展建议[J].林业科技开发,2000,14(5):12.
[2] 阎志佩.濒危品种软籽石榴的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2004(3):331.
[3] 黄剑华,王亦菲,周润梅,等.软籽石榴组培原种苗的诱导及快繁[J].上海农业科技,2002(6):16.
[4] 范国强,翟晓巧,秦河锦,等.泡桐丛枝病株体外植株再生系统研究[J].河南农业大学学报,2005,39(3):254 - 258.
[5] 阎志佩.软籽石榴茎尖组培快繁技术研究[J].枣庄师范专科学校学报,2003,20(2):72 - 73.
[6] 何松林,孔德政,杨秋生,等.碳源和有机添加物对文心兰圆球茎增殖的影响[J].河南农业大学学报,2003,37(2):154 - 157.