

红叶石楠的组织培养

陆颖伟, 吴伟欣, 周根余

(上海师范大学 生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要: 对红叶石楠芽的增殖和根的分化进行了研究, 实验结果表明: 红叶石楠芽增殖的最佳培养基为 MS + 2.0mg/L BA + 0.5mg/L KT + 0.2mg/L IBA, 最佳增殖区段为基部, 根的分化以 NAA 预处理 2h 和 3% 蔗糖浓度为佳。

关键词: 红叶石楠; 组织培养; 芽增殖; 根分化

中图分类号: Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-5137(2006)02-0062-05

0 引言

红叶石楠“红罗宾”(*Phytoloba fraseri* “Red Robin”) 是 *P. glabra* 和 *serratifolia* 的杂交种, 1998 年从荷兰引进我国。红罗宾的叶色鲜艳夺目, 观赏性强, 春秋两季红叶石楠的新梢和嫩叶火红, 色彩艳丽持久^[1], 在园林绿化上用途广泛。红叶石楠具有很强的生态适应性, 不仅耐低温、耐土壤贫瘠, 还有一定的耐盐碱性和耐干旱能力, 该植物具有较强的抗毒气能力, 可在大气污染较严重地区种植^[2]。

红叶石楠常规采用扦插繁殖, 繁殖速度慢, 限制了其推广应用。国内已有采用离体培养方法快速繁殖红叶石楠的报道^[1-6]。本文对红叶石楠离体培养中影响芽增殖和根分化的因素进行了研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

红叶石楠(*Phytoloba fraseri* “Red Robin”)。

1.2 实验方法

1.2.1 材料消毒和接种培养

取 3 年生红叶石楠当年萌发的 2cm 长的嫩枝条, 按常规消毒方法消毒后, 接种于不加任何植物激素的 MS 培养基上, 萌芽后进行芽增殖试验。培养条件为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光照强度 1500 ~ 2000 lx, 光照 12h/d。

1.2.2 芽增殖试验

1.2.2.1 培养基种类对红叶石楠芽分化的试验

4 种不同培养基种类为 MS, 1/2MS, B5 和 N6, 取 1cm 左右的茎段, 接入文献[1]所述的植物激素

收稿日期: 2004-12-15

基金项目: 上海市教育发展基金项目(03DZ02)

作者简介: 陆颖伟(1984-), 女, 上海师范大学生命与环境科学学院本科生。周根余(1946-), 男, 上海师范大学生命与环境科学学院教授。

成分即 2.0mg/L BA + 0.5mg/L KT + 0.2mg/L IBA 的培养基中,每瓶接种 10 个外殖体,试验重复 3 次,1 个月后统计结果.

1.2.2.2 取材部位对红叶石楠芽分化的试验

将带顶芽的嫩枝分为上、中、下 3 段,每段并带有 2 片叶,分别接种于上述相同激素成分的 MS 培养基上,每瓶接种 10 个外殖体,试验重复 3 次,1 个月后统计结果.

1.2.3 根分化试验

1.2.3.1 NAA 预处理试验

切取高 1.5cm 左右带叶的嫩枝条,在 1/2MS + 1mg/L NAA 的培养基中分别预处理 2, 4, 12, 24, 48 h 后,转接到无植物激素的 1/2MS 培养基中,每瓶接种 10 个外植体,试验重复 3 次,1 个月后统计根分化的情况.

1.2.3.2 糖浓度试验

切取高 1.5cm 左右带有 4 叶的嫩枝条,在蔗糖浓度分别为 0,1,2,3% 的 1/2MS 培养基上进行根分化的试验,每瓶接种 10 个,试验重复 3 次,1 个月后统计根分化的情况.

2 结果与分析

2.1 培养基种类对芽分化的影响

表 1 表明,培养基种类对红叶石楠芽的分化和生长有影响但不明显. MS 培养基对于芽的分化较好; 1/2MS 培养基最差;B 5 培养基虽然芽分化率比 1/2MS 培养基要好,但芽的生长状态很不理想;N 6 培养基上分化的芽出现不同程度的红化且叶的形态也不正常. 这一试验结果同赵小梅等^[2]得到的结果相

表 1 培养基种类对芽分化的影响

培养基 种类	接种数	分化率 (%)	分化芽数 (个)	增殖系数	平均芽高 (cm)	愈伤大小	生长情况
1/2MS	30	96.7	57	1.96	0.366	+	株高一般,叶卷曲
MS	30	93.3	67	2.39	0.435	++	株高较高,生长良好
B 5	30	100	72	2.40	0.449	+++	株高一般
N 6	30	93.3	61	2.18	0.457	++	植株矮小,叶偏红

* 以长出两片叶的芽为统计标准

一致. 由此可见,红叶石楠在组培下芽的增殖和正常生长需要较高的无机盐浓度,B5 培养基虽然无机盐浓度也较高,但其硝态氮的含量很高,铵态氮含量比较低. 因此,红叶石楠芽的分化和正常生长是否与这 2 种氮含量的比例有关值得进一步试验.

2.2 取材部位对芽分化的影响

不同的取材部位对红叶石楠芽分化的影响见表 2. 表 2 的结果表明,不同的取材部位对红叶石楠芽分化具有明显的影响. 顶芽段是 3 个取材部位中芽生长最高的,但从芽分化数来看,顶芽段却是 3 个取材部位中最不理想的,而且叶片有不同程度的卷曲现象;中段和基段相比,基段的株高虽然不如中段,但芽增殖数比中段好. 通过对红叶石楠不同取材部位对于芽分化影响的试验发现,基部是 3 个取材部位中芽分化率和芽生长情况较好的部位,这个试验结果与赵小梅等^[2]做的结果正好相反. 由于植物体各部

位植物内源激素分布是不均匀的^[9],我们使用的芽增殖培养基为 MS 培养基,激素成分 2.0mg/L + 0.5mg/LKT + 0.2mg/LIBA,取材平均为 1cm 长,带有 2 片叶.因此,获得了与赵小梅等相反的结果,这一

表 2 取材部位对芽分化的影响

取材部位	接种数	分化率 (%)	分化芽数 (个)	增殖系数	平均芽高 (cm)	株高 (cm)	生长情况
顶段	30	70	33	1.57	0.967	3.18	植株较高,叶绿但卷曲
中段	30	100	59	1.97	0.884	1.13	植株不高,叶大茎粗
基段	30	100	85	2.83	1.169	1.12	植株不高,叶大且绿

* 以长出两片叶的芽为统计标准

完全不同的的结果是否与激素的顺序性作用有关值得进一步试验.

2.3 NAA 预处理对根分化的影响

NAA 预处理对根分化的影响试验结果见表 3. 表 3 的结果表明,NAA 预处理对红叶石楠根的分化有显著影响.随着 NAA 预处理时间的延长,20d 后,不同预处理时间对根分化的差异明显,以 NAA 预处理 2h 的最好,根分化数多且根最长.

表 3 NAA 预处理对根分化的影响

处理时间(h)	接种数	分化率 (%)	分化根数 (个)	平均根长 (cm)	增殖系数	株高 (cm)	生长情况
2	30	70	45	2.85	2.14	2.34	植株较高,叶绿
4	30	66.7	29	1.57	1.45	2.19	叶大小适中,且绿
12	30	43.3	19	2.79	1.46	2.07	茎较粗
24	30	26.7	10	0.9	1.25	2.54	叶绿、茎粗
48	30	30	12	1.66	1.33	2.28	叶绿且大

蔡国琴等^[5]在青蒿发根培养时发现低浓度 NAA 促进发根的生长,陆小清等^[7]在研究不同激素处理对红叶石楠生根影响时发现,NAA 对红叶石楠生根进程比其他处理明显快.段祖安^[8]也指出生根培养时 NAA 最佳浓度为 1.0mg/L.近年来,为了促进试管苗的生根,改变了以往将植物生长剂预先加入到培养基中,然后再接种材料使其诱导生根的方法,而是将需生根材料先在一定浓度植物生长调节剂中浸泡或培养一定时间,然后转入无植物生长调节物质培养基中培养,从而能显著提高生根率^[4].当生长素处理插枝基部后,那里的薄壁细胞首先脱分化即细胞恢复分裂的机能,产生愈伤组织,然后长出不定根^[9].我们采用 1.0mg/L NAA 对红叶石楠进行预处理.发现 NAA 预处理 2h 就可明显影响根的分化.

陆小清等^[7]在 NAA 浓度对红叶石楠生根的影响研究中得出,随着 NAA 浓度的增加,生根率和每芽生根的条数增加,但 NAA 浓度过高后会产生不良影响,长时间在高的 NAA 环境中生长,会导致愈伤组织的产生,从而抑止根的生长.对于红叶石楠来说,1.0mg/L 的 NAA 浓度 2h 的预处理时间是否仍然太长有待更进一步的试验.

2.4 蔗糖浓度对根分化的影响

蔗糖浓度对红叶石楠生根的试验结果见表 4. 表 4 的结果表明, 培养基中蔗糖的存在与否对根的分化和植株的生长状态有很大的影响, 接种在没有添加蔗糖的培养基上的植株矮小, 没有根的分化, 而且叶色微黄, 蔗糖浓度为 3% 的培养基上虽然根的分化率不高, 但根的平均长度和株高是 4 种浓度中最好的. 我们的结果与李慧^[5]在研究蔗糖对红叶石楠茎尖培养的影响中的结果相一致.

表 4 蔗糖浓度对根分化的影响

蔗糖浓度	接种数	分化率(%)	分化根数(个)	平均根长(cm)	增殖系数	株高(cm)	生长情况
0%	30	0	0	0.000	0	1.597	植株矮小, 叶微黄
1%	30	36.7	15	1.43	1.36	2.020	叶微卷
2%	30	26.7	13	1.40	1.63	1.980	部分叶微卷
3%	30	20	12	2.04	2.00	2.140	叶大且绿, 植株较高

在组织培养中糖是重要的碳源, 还能维持培养基的渗透压^[10]. 糖的含量对植物细胞的生长和次生代谢产物的形成有显著影响. 含量过低时, 不能满足细胞生长和新陈代谢的需要^[11]; 有报道指出, 糖水平对小麦侧根的形成, 胚轴切段不定根的发生有重要影响^[12]. 还有报道认为, 蔗糖可以提高烟草叶柄培养物的内源 IAA 水平^[13], 促进大白菜不定根发生的功效^[14]. 这些事实提示蔗糖是通过影响内源 IAA 而影响不定根发生的.

3 小 结

- (1) 红叶石楠各个部位芽的分化和生长与使用的芽增殖培养基和取材都有关系.
- (2) 采用 NAA 对红叶石楠预处理的方法可有效提高根的分化率.

参考文献:

[1] 黄美娟, 邓小梅, 符树根, 等. 红叶石楠“红罗宾”组织快繁技术研究[J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(4): 604 - 607.

[2] 赵小梅. 几种因子对红叶石楠增殖的影响[J]. 广西农业科学, 2005, 36(3): 202 - 204.

[3] 王红梅, 王然, 董晓颖, 等. 红叶石楠的组织培养与快速繁殖[J]. 莱阳农学院学报, 2004, 21(3): 238 - 240.

[4] 潘颖南, 黄卓忠, 周嘉运, 等. 几种生长调节物质对北美红杉组织培养的影响[J]. 植物生理学通报, 2002, 38(6): 578.

[5] 李慧. 红叶石楠茎尖组织培养与快速繁殖[J]. 植物资源与环境学报, 2004, 13(3): 62 - 63.

[6] 邓小梅, 奚如春, 黄美娟. 红叶石楠“红罗宾”组培再生植株不定根的快速诱导技术研究[J]. 江西园艺, 2004, 6: 110 - 113.

[7] 陆小清, 李云龙, 毛志滨, 等. 红叶石楠扦插试验[J]. 江苏林业科技, 2005, 32(3): 22 - 23.

[8] 张虎, 王润贤, 邱国金, 等. 紫叶石楠的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(1): 34 - 34.

- [9] 段祖安,齐建国,张承庆. 石楠的组培快繁研究[J]. 山东林业科技,2000,129(4):19-21.
- [10] 潘瑞炽,董愚得. 植物生理学(3版)[M]. 北京:高等教育出版社,1995.
- [11] 刘庆昌,吴国良. 植物细胞组织培养[M]. 北京:中国农业大学出版社,2003.
- [12] 郭勇,崔堂兵,谢秀祯. 植物细胞培养技术与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2003. 139-139.
- [13] 胡江琴,王利琳,庞基良,等. 绿豆下胚轴正反插条件下无机盐和蔗糖对下胚轴不定根发生的影响[J]. 植物生理学通讯,2002,38(3):229-230.
- [14] 张萌麟,宋经元,吕桂兰,等. 丹参毛状根培养的建立和丹参酮的产生[J]. 中国中药杂志,1995,20(5):269-271.
- [15] 李小芳,何玉科,汤章诚. 生长素和模拟微重力效应对大白菜不定根发生的影响[J]. 实验生物学报,2000,32(2):179-187.
- [16] 曹致义,刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科学技术出版社,2002. 59-59.
- [17] CASSELLS A C, LONG R D, MONODATE D M A. Endogenous IAA and morphogenesis in tobacco petiole cultures[J]. *Physiol Plant*, 1982, 56(4):507-512.

Tissue culture of *phthinia fraseri* "Red Robin"

LU Ying-hui, WU Wei-qing, ZHOU Gen-yu

(College of Life and Environment Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: *Phthinia fraseri* "Red Robin" is a tree which comes from overseas. In this paper, the method is set up through researching the effects of different culture mediums on *Phthinia fraseri* "Red Robin" in vitro. The results show that the proliferation efficiency of shoots in MS medium additioned 2.0 mg/L BA + 0.5mg/L KT + 0.2MG/L IBA is best. The bottom of segment is much better than the top segmen, it grows healthy through green leaves. Having 2 hours NAA pretreatment make the plant grow best and its rooting efficiency is 70%. The plant longs up to 2.85cm and grows healthy. And the best sucrose concentration is 3%.

Key words: *Phthinia fraseri* "Red Robin"; tissue culture; shoot proliferation; root inducement