

红王子锦带离体快繁研究

袁秀平¹, 贺刚智²

(1. 杨凌职业技术学院林学系, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西神农园林绿化工程公司, 陕西 西安 710082)

摘要:以红王子锦带的当年生幼嫩茎段为外植体,研究了基本培养基、植物生长调节剂种类和浓度对茎芽增殖、生长以及对生根诱导的影响。结果表明:适合红王子锦带增殖和生长的基本培养基为MS;继代增殖培养时,MS培养基中附加6-BA 2.5 mg/l时,平均有效芽数达到3个以上,高生长和强壮度都好于附加KT;附加6-BA 2.5 mg/l的MS培养基中添加0.05 mg/l NAA对芽数和芽长均有促进作用;在WPM培养基上附加NAA 0.1 mg/l、IBA 0.05 mg/l和蔗糖20 g/l,生根率高,根系发育良好。

关键词:红王子锦带;离体快繁;组织培养

中图分类号:S688

文献标识码:A

文章编号:1671-9131(2006)02-0001-03

In Vitro Rapid Propagation of *Weigela florida* cv. 'Red-prince'

YUAN Xiu-ping¹, HE Gang-zhi²

(1. College of Forestry, Yangling Vocational and Technical College, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Company of Shennong Garden Afforesting Engineering of Shaanxi, Xi'an 710082, China)

Abstract: Using newly spouted shoots nodal segments as a source of initial explants, the effects of basal medium, plant growth regulators types and concentration on shoot proliferation, growth and rooting of *Weigela florida* cv. 'red-prince' were studied. The results showed that the rich salt medium MS is more suitable for initial and multiplication culture. Shoots number and elongation were better on MS medium supplemented with 6-BA 2.5 mg/l than with KT. Adding NAA 0.05 mg/l to medium can further shoot proliferation and elongation. The excellent root system and high rooting rate were obtained on WPM medium with NAA 0.1 mg/l, IBA 0.05 mg/l and sucrose 20 g/l.

Key words: *Weigela florida* cv. 'red-prince'; in vitro rapid propagation; tissue culture

红王子锦带 (*Weigela florida* cv. 'Red-prince')为忍冬科锦带花属落叶开张型灌木,花冠胭脂红色,花期长达一月之久,园林中可孤植于庭院草坪之中,也可丛植于路边,对氯化氢气体抗性强,是一种极具潜力的抗污染园林绿化树种^[1-3]。红王子锦带是我国近年来从美国引进的栽培品种,其花粉退化,栽培不易结籽,目前主要通过扦插、分株方法繁殖^[4],但用常规方法繁殖受季节限制,繁殖速度慢、育苗效率低,不能满足生产需要,严重阻碍这一优良品种的推广应用。关于红王子锦带组织培养的研究有少量报道^[5-7],但研究都不够系统,本试验主要研究基本培养基、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,组培工厂化育苗奠定科学基础。

1 材料与方法

采集红王子锦带当年生幼嫩枝条,用毛刷将枝条刷洗后剪成2.0~2.5 cm长的带芽茎段,流水冲洗1~2 h后,无菌条件下75%酒精表面消毒30 s,再用0.1% HgCl₂浸泡消毒7 min,无菌水冲洗4~5次后切成1.5 cm带芽小茎段接种到附加6-BA 0.5 mg/L的MS培养基上。待茎段腋芽或不定芽萌发长叶后,切取0.5 cm小段,接入MS、WPM、B5和1/2MS四种基本培养基中,培养基中均添加6-BA 1.5 mg/L和NAA 0.05 mg/L,进行基本培养基的筛选。

增殖培养基包括:MS+6-BA(KT)0.5、1.5、2.5、3.5 mg/L;MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA

* 收稿日期:2006-01-09

基金项目:陕西省科技攻关项目(2001 K01-G7-01)

作者简介:袁秀平(1976-),女,甘肃武威人,助教,主要从事植物遗传育种与生物技术研究。

(IBA)0、0.01、0.05、0.1、0.5 mg/L。

当无根试管苗长至 2.0 cm 时,以 MS、1/2MS、1/4MS 和 WPM 为基本培养基、附加蔗糖 10、15、20、30 g/L、NAA0、0.05、0.1、0.5 mg/L 和 IBA0、0.05、0.1、0.5 mg/L,采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验进行生根诱导试验。

培养基中琼脂 6 g/L,蔗糖 30 g/L,pH5.6~5.8。培养室温度 25℃~28℃。光照时间 14 h/d,光照强度 2 000 lx~3 000 lx。采用 SAS 软件对数据进行统计处理,其中包括方差分析,最小显著差数(LSD)测验等。

2 结果与分析

2.1 基本培养基筛选

由表 1 可知:不同培养基在芽数和芽长方面均存在显著差异,MS 和 B_5 培养基上的侧芽萌发数和伸长生长均大于 WPM 和 1/2MS 培养基,但在 B_5 培养基上,苗茎和叶片颜色为不健康的黄绿色;WPM 上整个苗茎和叶片是深绿色,生长缓慢,接种 40 d 时芽长只有 0.5 cm,但其 50% 有生根现象;试材在 1/2MS 培养基上整体表现出弱化现象,叶片小,苗茎细弱,苗茎中段的气生根发达,有的伸长到 7 cm 以上,严重影响了不定芽分化和继代培养。因此高盐培养基 MS 较适合红王子锦带芽苗的生长和增殖。

表 1 基本培养基对茎芽增殖与生长的影响 (LSD 0.05)

基本培养基	增殖芽数(个/株)	茎芽长(cm)	叶片颜色
MS	2.1±0.15 a	1.53±0.115 a	绿色
WPM	1.4±0.20 b	0.50±0.200 c	浓绿
B_5	1.8±0.26 ab	1.23±0.153 a	淡绿
1/2MS	1.6±0.40 b	0.90±0.200 b	黄绿

(注:a,b,c 为多重比较结果,相同字母表示无显著差异)

2.2 细胞分裂素对茎芽增殖和生长的影响

在一定的浓度范围内,茎芽数随细胞分裂素浓度的增大而逐渐增多,芽长却随浓度的增大而逐渐变小,其中 6-BA 比 KT 效果明显。当 6-BA 浓度为 2.5 mg/L 时,平均有效芽数达 3 个以上,高生长和强壮度有所下降;6-BA 浓度为 3.5 mg/L 时不定芽多而弱小,这种不定芽在进一步的壮苗培养基上不易伸长,从而影响有效芽数;在添加 KT 的培养基上,芽苗叶片数较少,腋芽萌发少,几乎没有不定芽分化,生长后期只见叶片长大,不见芽的伸长生长,其茎上有不同程度的不定根和气生根生长,更加阻碍了腋芽和不定芽的萌发。

2.3 生长素对茎芽增殖和生长的影响

NAA 和 IBA 对茎芽增殖和生长的影响趋势相似,附加 0~0.05 mg/L 时,芽数和芽长随浓度的增大而升高,浓度高于 0.05 时,芽数和芽长随浓度的增大而呈降低的趋势。附加 0.05 mg/L 的 NAA 可明显促进其腋芽萌发和不定芽分化,而且高生长明显,80% 的新生芽可以单独切分,增殖芽数超过对照 15%,芽长超过对照的 59.3%;附加 0.05 mg/L

IBA 的培养基上,茎下端愈伤块小,增殖芽数低于对照的 3%,芽长仅超过对照 25%,其叶片较小,略有卷曲。当 NAA 或 IBA 浓度大于 0.1 mg/L 时,茎下端愈伤块较大,茎中部和下端有不定根发生,芽数减少,整体生长势变弱。

表 2 细胞分裂素对茎芽增殖和生长的影响 (LSD 0.05)

分裂素(mg/L)	增殖芽数	芽长(cm)
6-BA 0.5	1.0±0.26 d	1.13±0.153 ab
6-BA 1.5	2.2±0.36 b	1.33±0.153 a
6-BA 2.5	3.4±0.26 a	0.73±0.153 b
6-BA 3.5	1.8±0.17 bc	0.50±0.100 c
KT 0.5	1.0±0.17 d	0.53±0.070 c
KT 1.5	1.2±0.17 cd	1.20±0.100 a
KT 2.5	1.4±0.23 cd	0.57±0.153 c
KT 3.5	1.2±0.26 cd	0.37±0.115 c

表 3 生长素对茎芽增殖和生长的影响 (LSD 0.05)

激素组合(mg/L)	增殖芽数	芽长(cm)
6-BA2.5+ NAA 0.01	3.0±0.66 abc	1.33±0.153 bcd
6-BA2.5+NAA 0.05	3.8±0.98 a	1.87±0.153 a
6-BA2.5+NAA 0.1	3.4±0.79 ab	1.57±0.058 b
6-BA2.5+NAA 0.5	1.8±0.20 dc	1.23±0.153 bcd
6-BA2.5+ 0	3.3±0.72 ab	1.17±0.208 de
6-BA2.5+IBA 0.01	3.0±0.66 abc	1.33±0.153 bcd
6-BA2.5+IBA 0.05	3.2±0.98 ab	1.47±0.252 bc
6-BA2.5+IBA 0.1	2.5±0.79 bcd	1.47±0.153 bc
6-BA2.5+IBA 0.5	1.7±0.20 d	1.03±0.153 e

2.4 生根培养

红王子锦带无根苗在四种培养基上均能生根,WPM 和 1/2MS 培养基上诱导生根所需要的时间较短,WPM 上生根率达 92% 以上,底部愈伤较小,不定根色深而短粗,侧根多而短,1/2MS 培养基诱导的乳白色的根较长,侧根少,其它培养基上生根率低于 50%,且根数少而纤细,通过练苗移栽试验发现,WPM 培养基上培养的生根苗成活率达到 85% 以上,高于 1/2MS 培养基的;蔗糖浓度对生根率的影响较小但对生根天数的影响较大,以浓度为 20 g/L 时生根时间最短;生长素浓度的不同对生根率和根的质量有较大的影响,不加任何激素的培养基诱导的根细弱,没有侧根,且个别有侧芽萌发的现象,单独附加 NAA 或 IBA 时诱导生根需要的时间较长,当 NAA 或 IBA 浓度大于 0.1 mg/L 时,容易形成愈伤组织,诱导茎段气根发生,严重影响生根苗的生长和移栽,而同时附加 NAA0.1 mg/L 和 IBA0.05 mg/L 时易诱导茎底端生根,且根系生长良好。红王子锦带生根诱导比较容易,所涉及的四因素影响对生根率和生根天数都有不同程度的影响。对生根率的影响依次为:培养基>NAA>IBA>蔗糖;对生根天数的影响为:培养基>蔗糖>NAA>IBA。

表4 培养基、蔗糖及生长素对生根诱导的影响

编号	培养基	蔗糖 (g/l)	NAA (mg/l)	IBA (mg/l)	生根天数	生根率(%)		根的形态特征
						15 d	30 d	
1	WPM	10	0	0	11	22.4	78.3	愈伤小,细长根约10条,有腋芽萌发
2	WPM	15	0.05	0.05	9	46.3	84.2	根系发达,圆锥形根数>10,侧根较多
3	WPM	20	0.1	0.1	12	16.5	92.3	锥形根短小7条左右,侧根少,有气根
4	WPM	30	0.5	0.5	15	13.6	75.5	气根发达有分枝,愈伤块大,底端根短
5	1/2MS	10	0.05	0.1	15	11.4	82.6	与培养基接触处有细小根,根长<0.5 cm
6	1/2MS	15	0	0.5	13	20.3	75.7	50%根由愈伤发出,根数>10,无侧根
7	1/2MS	20	0.5	0	14	14.6	72.3	气根较多,底端根呈锥形,约0.5 cm
8	1/2MS	30	0.1	0.05	12	25.7	87.6	根多而密,长0.3~1.2 cm,30%有侧根
9	1/4MS	10	0.1	0.5	16	0	45.5	下部愈伤变黑,根长<0.2 cm,有气根
10	1/4MS	15	0.5	0.1	17	0	40.1	100%有气根,茎中段生根较多,底端黑
11	1/4MS	20	0	0.05	20	0	49.8	根多而长有侧根,气根旺盛个别有分枝
12	1/4MS	30	0.05	0	19	0	45.6	由愈伤发出的根较粗,其上有气根向上
13	MS	10	0.5	0.05	20	0	15.2	与培养基接触处有短小根,底端发黑
14	MS	15	0.1	0	18	0	32.4	底端发黑,生根极少,茎上生白毛根
15	MS	20	0.05	0.5	16	0	8.2	底端生根极少,茎上有细长的气根
16	MS	30	0	0.1	22	0	21.5	基部生根小,根长<0.3 cm,个别有腋芽

表5 培养基、蔗糖及生长素对生根诱导影响的极值

极 值	生根率(%)				生根天数			
	培养基	蔗糖	NAA	IBA	培养基	蔗糖	NAA	IBA
k ₁	82.58	55.40	56.28	57.15	11.75	15.50	16.50	15.50
k ₂	79.55	58.10	55.15	59.20	13.50	14.25	14.75	15.00
K ₃	45.25	55.65	64.45	59.13	18.00	15.50	14.50	16.50
k ₄	19.33	55.05	50.78	51.23	19.00	17.00	15.75	15.75
r	63.25	3.15	13.67	7.97	7.25	2.75	2.00	1.50

3 结论与讨论

组织培养中,常根据培养基配方中含盐量的不同将培养基分为4大类^[9]:即高盐培养基、中盐培养基、低盐培养基和高硝酸钾培养基。本试验结果表明,红王子锦带的腋芽在高盐MS培养基上萌发和生长状况良好,这与姜凤英,罗凤霞等^[7]研究结果一致。

基本培养基保证培养物的生存与最低的生理活动,但只有配合使用适当的植物激素才能诱导细胞分裂的启动、芽和根的分化与发育。6-BA和NAA配合试验结果表明,一定范围内,随着激素浓度增大,总体趋势是繁殖系数的增加,但两者的比例必须适当,否则不利于芽增殖,会出现繁殖系数的减小现象,本试验显示6-BA和NAA比例在50:1左右比较适合红王子锦带芽的增殖和生长,这和人研究结果有所不同^[7,8],这可能是不同基因型对激素的要求有所不同。

红王子锦带试管苗很容易生根,极低浓度生长素就能使之生根,甚至在无激素的培养基中也能诱导生根,而影响生根的主导因素是基本培养基,这种现象目前尚未见报道。盐浓度过高(MS)和过低(1/4MS)的培养基都不适合红王子锦带生根,WPM和1/2MS培养基上诱导生根时间较短,根多而健壮,但WPM培养基上培养的小苗移栽成活率高于

1/2MS。虽说无激素也能诱导红王子锦带生根,但不定根质量和数量都次于附加生长素后的效果,由于IBA所诱导的根多而细长,而NAA诱导的根数少而粗壮,因此本试验采用IBA和NAA配合使用诱导的不定根数量和质量都达到了最佳。建议在以后的研究中可以进行瓶外生根、无激素生根和液体生根等多种方式来减少试验步骤和降低试验成本,为以后的工厂化育苗奠定坚实的理论基础。

参考文献:

- [1] 利民.红王子锦带花[J].植物杂志,1995,(6):25.
- [2] 马勋.红王子锦带花[J].中国花卉盆景,1995,(11):30~31.
- [3] 崔纪如,黄亦工,等.37种(含品种)新优植物简介[J].北京园林,1996,(1):20~23.
- [4] 孙可群,等.花卉及观赏树木栽培手册[M].北京:中国林业出版社,1998.
- [5] 王立娟,衣俊鹏,纪玉和,等.红王子锦带花组培快繁技术[J].吉林林业科技,2002,(2):54~55.
- [6] 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,(8):44.
- [7] 姜凤英,罗凤霞,等.红王子锦带茎段离体培养基的筛选[J].沈阳农业大学学报,2003,(3):202~204.
- [8] 王进茂,张法勇,张涛,等.红王子锦带花组培微繁的研究[J].河北林果研究,2000,(9):236~239.
- [9] 黄学林,李筱菊.高等植物组织离体培养形态建及其调控[M].北京:科学出版社,1995.