

美国月桂樱的组织培养及植株再生

宿 静, 汤庚国*, 王光萍, 刘雅帅

(南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

摘要:以春季萌发的美国月桂樱嫩枝为外植体诱导丛生芽,在MS+0.5 mg/L BA+0.01 mg/L NAA的培养基上,其丛生芽诱导率达100%,在继代培养基中选择MS+1.0 mg/L BA+0.1 mg/L NAA培养基,不定芽增殖较快,后将增殖苗接入MS+1.0 mg/L KT+0.1 mg/L NAA培养基上壮苗,其生长状态最好。结果发现,赤霉素对芽的伸长没有效果。当芽伸长至3~4 cm时,切下置于1/2MS+1.0 mg/L NAA的生根培养基中,生根率达100%,移栽成活率达40%。

关键词:美国月桂樱;组织培养;植株再生

中图分类号:S722.3

文献标识码:A

文章编号:1000-2006(2008)04-0098-03

Tissue culture and plant regeneration of *Laurocerasus caroliniana* Ait.

SU Jing, TANG Geng-guo*, WANG Guang-ping, LIU Ya-shuai

(College of Forest Resources and Environment Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The fasciculated shoots were induced by the explant achieved from the juvenile branches of *Laurocerasus caroliniana* Ait. in spring. The inducing rate of fasciculated shoots attained 100% when they were cultured on the inducing medium of MS with BA 0.5 mg/L and NAA 0.01 mg/L. The adventitious shoots were propagated most rapidly when subcultured on the medium of MS with BA 1.0 mg/L and NAA 0.1 mg/L. Moreover, the adventitious shoots with best quality were obtained when they were cultured in the medium of MS with KT 1.0 mg/L and NAA 0.1 mg/L. The results of this experiment also indicated that gibberellin had no effects on the elongation of adventitious shoots. When the 3—4 cm adventitious shoots were cut and rooted in the rooting medium of 1/2 MS with NAA 1.0 mg/L, the rooting rate and surviving rate attained 100% and 40% respectively.

Key words: *Laurocerasus caroliniana* Ait.; Tissue culture; Plant regeneration

美国月桂樱(*Laurocerasus caroliniana* Ait.)属于蔷薇科桂樱属,原产美国,3月至4月开花,总状花序,小花白色,常绿,是一种具有较高观赏价值的绿化树种。关于桂樱属植物的繁殖技术仅夏江林等曾对种子繁殖进行过研究^[1],组织培养与快速繁殖尚未见报道。笔者建立组织培养和快速繁殖技术,以期为其扩大种植以及该种的大面积推广提供有效的途径。

1 材料与方法

1.1 供试嫩枝及芽的诱导、分化

于2006年4月底,在南京中山植物园采集1~2 cm长的美国月桂樱嫩枝,用流水冲洗6 h,用75%酒精消毒30 s,无菌水清洗3次,再用0.1%的HgCl₂消毒3 min,无菌水清洗3~7次,备用。

用灭菌滤纸吸干供试材料表面水分,将带有1~2个芽的茎段插入诱导培养基中。鉴于已有进行组织培养的研究^[2-7],笔者采用以下培养条件:诱导丛生芽的培养基以MS为基本培养基,附加不同的细胞分裂素BA 0、0.1、0.5、0.8、1.0、3.0、5.0 mg/L,生长素NAA 0、0.01、0.02、0.03 mg/L;KT 0.5、1.0 mg/L, NAA 0.01 mg/L。pH调至5.8,添加0.6%琼脂,蔗糖浓度3%,光照度1200 lx,光照时间为12 h。每个处理接

收稿日期:2007-05-28

修回日期:2007-09-15

基金项目:镇江市科技计划项目(NY2007044)

作者简介:宿 静(1981—),女,博士生。*通讯作者:汤庚国,男,教授,主要研究方向为树木学,ggtang1950@njfu.edu.cn。

引文格式:宿 静,汤庚国,王光萍,等.美国月桂樱的组织培养及植株再生[J].南京林业大学学报:自然科学版,2008,32(4):98-

种 30 个以上材料,30 d 后统计分化频率。

1.2 增殖培养、生根培养及数据分析

取培养 30 d 的完整无菌苗,从根茎处切开,取无根芽苗接种到以 MS 为基本培养基附加 BA (0.5、1.0 mg/L),NAA(0.01、1.0 mg/L),GA₃ (0.5 mg/L);KT(0.5、1.0 mg/L),NAA (0.1、1.0 mg/L),GA₃ (0.5 mg/L),培养条件与分化培养条件相同。每个处理接种 30 个以上,30 d 后,统计增殖系数。

将 3~4 cm 的无根苗,切下插入生根培养基中,生根培养基采用 1/2MS 附加不同浓度的细胞分裂素和生长素(NAA、IBA)。蔗糖质量分数为 1.5%,其他与分化培养条件相同。

采用 SPSS 软件进行方差分析,用 Duncan 氏法进行差异显著性检验,其中百分数经反正弦转换。

2 结果与分析

2.1 不同激素比对丛生芽诱导和增殖的影响

细胞分裂素 BA 能够使美国月桂樱的不定芽分化(表 1),且分化频率可以达到 100%,但如果 BA 浓度太低或太高,分化频率都会降低,当 BA 浓度为 0.1、3.0 mg/L 时,分化频率均为 42.86%;当 BA 浓度增至 5.0 mg/L 时,分化停止。美国月桂樱的分化培养基应该采用 BA 和 NAA 的激素搭配,而且 BA 0.5 mg/L + NAA 0.01 mg/L 的分化频率最高。

方差分析表明,各处理间差异达极显著水平($P = 0.000 < 0.01$)。外植体接种 19 d 后,芽开始启动分化(图 1A)。试验证明,KT 对美国月桂樱分化无作用。

在增殖过程中,在基本培养基不变的基础上,使用不同的激素配比(表 2)。开始时,苗的生长很慢,但是经过几次继代以后,苗高生长达到 5~6 cm。结果表明 KT 的增殖效果远不如 BA,但是有利于苗的伸长。GA₃ 对苗的伸长没有任何作用,且会导致苗黄化。因此,选择 MS + 1.0 mg/L BA + 0.1 mg/L NAA 的增殖效果最好,在增殖后,将苗接入 MS + KT 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的培养基中进行壮苗,苗的生长状态最好,叶色浓绿且苗最高。

表 1 不同的激素浓度对月桂樱丛生芽诱导的影响
Table 1 The effects of hormones on adventitious bud differentiation of *L. caroliniana*

激素及处理浓度/ (mg · L ⁻¹) Hormone and its concentration	接种芽数/个 Amount of buds	分化数/个 Amount of differentiation	分化频率/% Frequency of differentiation
BA 0 + NAA 0	32	0	0.00lmno
BA 0.1 + NAA 0.01	35	15	42.86hi
BA 0.5 + NAA 0.01	30	30	100.00a
BA 0.5 + NAA 0.02	35	25	71.43def
BA 0.5 + NAA 0.03	42	12	28.57jk
BA 0.8 + NAA 0.01	35	20	57.14g
BA 0.8 + NAA 0.02	49	35	71.43de
BA 0.8 + NAA 0.03	35	25	71.43d
BA 1.0 + NAA 0.01	32	24	75.00c
BA 1.0 + NAA 0.02	35	10	28.57j
BA 1.0 + NAA 0.03	30	25	83.33b
BA 3.0 + NAA 0.01	42	18	42.86h
BA 5.0 + NAA 0.01	30	0	0.00lmn
KT 1.0 + NAA 0.01	31	0	0.00lm
KT 0.5 + NAA 0.01	34	0	0.00l

注:数字后的不同字母表示差异显著($P \leq 0.05$),表 3 中相同。

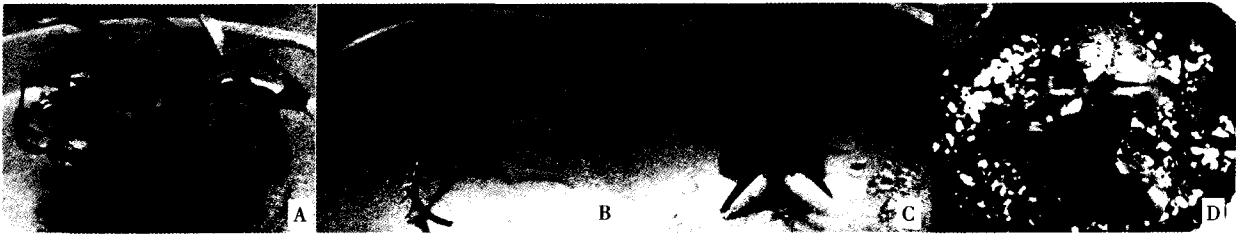


图 1 美国月桂樱的快速繁殖过程

Fig.1 Rapid propagation of *L. caroliniana*

A. 丛生芽;B. 生根小苗 IBA1.0 mg/L;C. 生根小苗 NAA1.0 mg/L;D. 移栽成活的小苗

2.2 不同激素比对生根的影响

与其他木本植物相似,美国月桂樱不定根的诱导也较困难,不同的激素配比对其生根率的影响很大(表 3)。

方差分析表明,各处理间差异达极显著水平($P = 0.0027 < 0.01$)。生根过程从 2007 年 4 月 6 日至

表2 不同激素浓度对不定芽增殖的影响

Table 2 The effects of hormones on adventitious bud proliferation

激素及其浓度/(mg·L ⁻¹) Hormone and its concentration	芽丛接种数/个 Amount of buds	增殖系数 Proliferation coefficient	苗状态 Quantity of seedling
BA 0.5 + NAA 0.01	36	4~5	苗伸长不明显
BA 0.5 + NAA 0.1	42	6~7	苗伸长不明显
BA 1.0 + NAA 0.1	39	7~8	苗伸长不明显
BA 1.0 + NAA 0.01	32	4~5	苗伸长不明显
KT 1.0 + NAA 0.01	34	1~2	叶色浓绿, 苗高 4~5 cm
KT 1.0 + NAA 0.1	34	1~2	叶色浓绿, 苗高 5~6 cm
BA 0.5 + NAA 0.1 + GA ₃ 0.5	32	1~2	严重黄化
KT 0.5 + NAA 0.1 + GA ₃ 0.5	35	1~2	严重黄化

5月12日,共计36d,第13天开始生根,初生根的形态颜色各不相同,1.0 mg/L NAA的初生根为白色粗壮根,愈伤组织少且根数量多(图1C),而1.0 mg/L IBA处理的初生根为红色,根的数量较少且细长(图1B)。将生长健壮的试管苗打开瓶盖,炼苗约1周左右,洗去根部琼脂,移栽于营养土与珍珠岩质量比1:1的混合基质中进行过渡培养,初期避免日光直射,拉好遮阳网,保持90%以上的空气湿度,同时控制好浇水量,避免苗床太湿引起烂苗。10d以后逐渐降低空气湿度,30d后可移栽入营养钵(图1D),成活率可以达到40%。

表3 不同激素浓度对生根的影响

Table 3 The effects of hormones on rooting

激素及其浓度/(mg·L ⁻¹) Hormone and its concentration	生根状况 Quantity of rooting		
	生根率/%	平均根长/cm	平均根数/条
KT 1.0 + NAA 1.0 + IBA 0.5	50c	0.14e	1.75de
KT 1.3 + NAA 1.0 + IBA 0.5	25f	0.01f	1.00f
KT 1.5 + NAA 1.0 + IBA 0.5	0g	-	-
KT 1.0 + NAA 0.5	62.50b	0.39d	2.20b
KT 1.0 + IBA 0.5	50cd	0.66c	1.75d
NAA 1.0	100a	1.32b	2.88a
IBA 1.0	28.57e	3.13a	2.00c

3 讨论

美国月桂樱的组织培养与其他蔷薇科的植物相似,适当的BA和NAA可以使不定芽分化,但不同的浓度配比,分化频率差异很大,BA浓度需控制在0.5~1.0 mg/L才能保持较高的分化频率,原因可能是BA浓度过低时,不能正常的启动分化,而当BA浓度过高时反而会抑制不定芽的分化。KT的增殖效果不如BA,但KT有利于壮苗,在增殖的前期和后期分别使用含有BA和KT的培养基,有利于不定芽的增殖和生长。王光萍等对福建山樱花在进行组织培养,发现使用两种生长素结合一定浓度的细胞分裂素,可明显提高根的诱导率^[8]。但此次试验中,在细胞分裂素和NAA、IBA搭配的配方中,随着KT浓度的升高,生根率逐渐降低。可见,细胞分裂素对于美国月桂樱的生根有一定的抑制作用,这与福建山樱花的组织培养所得结论不同^[4]。单一生长素NAA(1.0 mg/L)处理有利于美国月桂樱的生根,生根率可达100%,但是IBA(1.0 mg/L)的生根率远低于NAA(1.0 mg/L)处理的生根率。平均根长和平均根数的测定结果也显示,单一生长素的生根质量明显优于存在细胞分裂素的组合。

综上所述,最适于美国月桂樱芽诱导培养基为MS + BA(0.5 mg/L) + NAA(0.01 mg/L);增殖培养基为MS + BA(1.0 mg/L) + NAA(0.1 mg/L)和MS + KT(1.0 mg/L) + NAA(0.1 mg/L)配合使用;生根培养基为1/2MS + NAA(1.0 mg/L)。

[参考文献]

- [1] 夏江林,王桂英.柔毛大叶桂樱育苗技术[J].林业实用技术,2003(11):21.
- [2] 黄守印,池井存.雾灵山地区野生樱花的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003,39(3):228.
- [3] 李青,苏雪痕.藤本月季组织培养快繁研究[J].北京林业大学学报,1999,21(6):17-21.
- [4] 黄宇翔,刘金燕.福建山樱花组培快繁研究[J].林业科学,2006,22(8):162-164.
- [5] 于冰沁.微型月季组织培养的研究[J].辽宁农业科学,2005(4):53-54.
- [6] 李海燕,胡国富.月季组培快繁技术的研究[J].东北农业大学学报,2004,35(1):84-88.
- [7] 崔广荣.月季茎段组织培养的研究[J].种子,2003(6):34-37.
- [8] 王光萍,黄敏仁.福建山樱花的组织培养及植株再生[J].南京林业大学学报:自然科学版,2002,26(2):73-75.

(责任编辑 王国栋)