

耐盐果树滨梅微繁殖体系的建立*

方 逵, 龚津平, 闫道良, 钦 佩**

(南京大学盐生植物实验室, 南京, 210093)

摘 要: 首先通过组织培养的方法, 建立了耐盐果树滨梅(*Prunus maritima*)的微繁殖体系. 研究发现, 对于滨梅的种子萌发, 以改良 MS(硝酸铵减半)培养基加入 0.02% 活性炭、6-BA 10 mg/L 最为合适, 此时种子萌发率可以达到 100%, 正常苗率达到 90%. 对于不定芽的诱导, 结果表明, 当选用子叶作为外植体时, 以 MS 培养基加入 TDZ 1.0 mg/L、BA 0.5 mg/L 效果最好, 不定芽萌发率能达到 80%, 每个子叶上的发芽数能达到 (4.6 ± 0.35) 个. 当外植体选用一年生的叶片和嫩茎时, 在添加了表面活性剂的吐温组, 叶片的不定芽诱导率达到 53%, 嫩茎高达 56%, 显著高于没有使用表面活性剂的对照组, 且嫩茎的萌发率要高于叶片, 而叶片诱导不定芽的合适宽度为 3~5 mm. 对于通过愈伤组织诱导不定芽, 实验发现最合适的激素配比是: MS 培养加入 2,4-D 0.25 mg/L + BA 0.5 mg/L + NAA 0.25 mg/L + ZT 0.5 mg/L, 分化率达 94%, 平均每个愈伤组织可以产生从芽 8.4 个. 实验亦发现 GA 对不定芽的萌发有抑制效果, 而对于再生芽的萌发, GA 有显著的促进作用. 对于愈伤的诱导, 实验发现子叶诱导愈伤组织的能力要高于嫩茎和叶片, 在 MS 培养基 + 2,4-D 1.0 mg/L + BA 0.5 mg/L 中, 子叶诱导愈伤的频率达 83%, 其次是嫩茎, 达 76%, 叶片诱导愈伤效果最差, 只有 23%. 对于从愈伤快速再生分化苗, 发现在 MS 培养基 + ZT 2.0 mg/L 和 BA 2.0 mg/L 时, 对不定芽有最大再生效果, 长度可达 3.1 cm/20 d. 生根实验发现, 单独使用 NAA, 对分化苗生根率、生根数和根长度都有最大效果, 分别达 93%, 3.1/棵, (4.3 ± 0.53) cm. 实验还发现, 炼苗的适宜温度在 23 °C, 试管苗的茎长和根长都大于 3 cm 时使用蛭石作为基质, 成活率能够达到 56%.

关键词: 滨 梅, 组织培养, 微繁殖, 愈伤组织诱导, 植物激素

中图分类号: Q 813.1+2

The Micropropagation Establishment of *Prunus maritima*

Fang Kui, Gong Jin-Ping, Yan Dao-Liang, Qin Pei

(Halophyte Research Lab of Nanjing University, Nanjing, 210093, China)

Abstract: In this experiment, we used the beach plum (*Prunus maritima*) as material, which is a sand dune plant on the North Atlantic Coast of the U. S. and has the potential as an important tool of the ecological restoration and utilization in saline soils. This paper presents a protocol for micropropagation of beach plum. The results showed that the halved concentration of NH_4NO_3 in the MS medium supplemented with 0.02% active carbon and 10 mg/L

* 基金项目: 国家林业局“948”项目优质“耐盐经济植物的引种与栽培技术引进”(2005-4-43)

收稿日期: 2006-03-23

** 通讯联系人, E-mail: qinpei@nju.edu.cn

BA was optimum for the bourgeon of the seeds. The budding result was up to 100%, and the percentage of healthy plantlets was up to 90%.

Adventitious shoots were regenerated from immature cotyledons, shoots, leaves and shoot tips. We found that MS medium supplemented with different plant growth regulators benefited different explants. MS medium, supplemented with 1.0 mg/L TDZ and 0.5 mg/L BA, significantly increased the number of successfully established cultures in immature cotyledons. And the best match for leaves and shoot were 4.4 mg/L BA+0.5 mg/L IBA+10 g/L Tween-20 in MS medium. For induced adventitious shoots from callus, 0.25 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L BA+0.25 mg/L NAA+0.5 mg/L ZT with MS medium gave optimal shoot proliferation(94%). The experiment also found that GA significantly reduced the number of successfully established cultures in shoots and leaves, but it gave a contrary result of inducing the shoot tips.

Callus was induced from immature cotyledons, shoots, leaves. The results showed that cotyledons had the best effect(83%), and the next were shoots (76%), the last one were the leaves (23%)

To get the best shooting rate, MS medium supplemented with 2.0 mg/L ZT and 2.0 mg/L BA was proper. The length of the shoot reached 3.1 cm after being transferred in that culture for 20 days. For in vitro rooting, the best treatment was 1/2 MS medium supplemented with 0.2 mg/L NAA. We found the proper culture temperature for transplanting plantlets was 23 °C, which resulted in the survival percentage for 56%.

Key words: beach plum, tissue culture, micropropagation in vitro, callus induction, phytohormone

滨梅 (*Prunus maritima*) 是蔷薇科 (Rosaceae) 樱桃属 (*Prunus*) 的一种沙生灌木果树, 原产于美国大西洋沿岸, 从纽芬兰到北卡罗来那州都有分布。滨梅能在干旱(包括很低的土壤含水量)、瘠薄、大风、扬沙、不稳定基质和含盐分的环境中适应生存。它是一种多枝灌木, 树形及花朵美, 适应海滨的恶劣条件, 可用以美化海滨。果实秋熟, 直径约 1.5 cm, 甜美可口, 易采集加工。滨梅作为耐逆性很强的木本植物, 对海滨盐土, 特别是沙土的生态修复有着很重要的意义, 可以作为工具种, 发挥修复海滨生态系统的积极作用。

本实验室自 2001 年始, 从美国引进滨梅种子, 历时 5 年时间, 初步建立了完整的滨梅扩繁体系, 使用组织培养苗成功地繁育出一片近 400 株的两年生滨梅林, 并已经过花期果期各一次。最近, 又采取扦插的方法来进行大规模扩繁, 数千株的滨梅扦插苗开始生根, 其大规模利用已经成为可能。本文主要介绍滨梅的组织培养, 愈伤组织的诱导、再分化和再生植株生根的技术路线与相关研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料 滨梅种子 (*Prunus maritima*), 滨梅愈伤组织。

培养环境: MS 培养基; 光照: 3 000 lux; 培养室温度: (25±1) °C。

1.2 实验方法

1.2.1 种子萌发 将经过低温层积处理 (4 °C, 60 d) 的种子用洗涤剂冲洗干净, 在超净台上用 70% 酒精浸泡 45 s, 在 0.1% 升汞溶液中浸泡 8 min, 无菌水反复冲洗 6 次。将种子接种到含有 BA 0、1、5、10 mg/L 的改良 MS 培养基(硝酸铵减半)中, 每处理接种 4 瓶, 每瓶接种 5 粒, 每处理另设添加 0.02% 活性炭 8 瓶做对照, 并每处理重复 3 次, 接种后直接进行培养。培养 2 周后检查胚颜色变化和膨胀情况, 3 周后检查萌发情况。

1.2.2 愈伤组织的诱导 分别取子叶(切除胚轴), 一年生嫩茎和叶片消毒后, 分别接种于处理 1: 0.5 mg/L 2,4-D, 1 mg/L BA; 处理 2: 1.0 mg/L 2,4-D, 0.5 mg/L BA; 处理 3: 1.0 mg/L 2,4-D, 0.0 mg/L BA 的 MS 培养基上。

每瓶接 5 个外植体,每个处理 6 瓶,重复 3 次. 3 周后记录每处理所有外植体产生愈伤的百分率,及每个外植体产生愈伤的个数.

1.2.3 植株再生 从愈伤组织中诱导出不定芽以后,为了快速获得工程苗植株,将具不定芽的愈伤转至分化培养基. 本实验采用 BA 和 ZT 作为分化培养基的激素成分,将已经诱导出不定芽的愈伤组织接入 BA 和 ZT 各 0.3 mg/L、1.0 mg/L 和 2.0 mg/L 3 个不同浓度梯度下的培养基,每瓶接 5 块,每处理接 20 瓶. 培养 20 d 后,测量不同处理不定芽的生长长度.

1.2.4 试管苗的生根 待诱导出来的从芽植株长至一定长度后,转接到生根培养基上生长,生根培养基用 1/2 MS 添加 IBA 0 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.3 mg/L 3 个浓度的交叉,每瓶生根培养基接 8 棵分化株,每个处理 10 瓶. 20 d 后统计生根情况.

1.2.5 试管苗移栽与练苗 将试管苗从培养瓶中取出,洗去根系上面附着的琼脂,记录茎长与最长主根根长,分别移栽到装有蛭石,珍珠岩和泥炭土(已灭菌)的塑料小杯里. 每种基质移植 100 棵,重复 3 次. 置于人工气候箱,湿度 95%,温度 23 °C,20 d 后记录成活数.

确定最佳培养基质为蛭石后,继续取试管苗,洗干净后移到盛蛭石的塑料小杯里,转至人工气候箱,实验在 15、23、26、30 °C 下试管苗的成活率. 每个处理用 50 棵苗,重复 4 次.

1.2.6 初步耐盐试验 将盆栽一年生滨梅 40 棵分为 4 组,其中 3 组分别以氯化钠浓度为 100、200、300 mmol/L 的 Hoagland 营养液处理,1 组以未提高 NaCl 浓度的 Hoagland 营养液培养,作为空白对照. 23 °C 下培养 10 d 后观察滨梅苗生长情况.

2 结果与分析

2.1 种子萌发情况统计 种子在第 5 d 开始膨胀,两周后种皮破裂露出胚轴,3 周后子叶颜色变绿,到 4 周左右子叶张开. 整个萌发过程需要 30 d. 试验结果表明,在含有 0.02% 活性炭

和不同浓度 BA(1~10 mg/L)的培养基中,萌发率很高,且正常苗率亦较高,其中以 0.02% 活性炭加 10 mg/L 6-BA 的效果最佳,萌发率为 100%,正常苗率为 90.7%(表 1).

实验结果表明,当培养基中含 10 mg/L 6-BA+0.02%AC 时,萌发率达 100%,正常苗率也最高. 而当培养基中仅含 6-BA 时,虽然萌发率较高,但正常苗率很低(0~10%). 当培养基中仅含 0.02%活性炭时,此时胚的萌发率为 88.9%,但幼苗细弱,这与文献[1]在中国李胚上的试验结果略有不同,中国李胚在仅含 0.02%活性炭的培养基上不能萌发.

表 1 种子萌发实验

Table 1 The result of the seeds bourgcon experiment

BA	AC%	萌发率%	正常苗率%
0	—	5.4±0.5	—
1	—	43.6±1.2	8.4±0.4
5	—	55.0±3.5	12.1±0.9
10	—	70.1±6.4 ^a	10.9±0.8 ^c
0	0.02	88.9±2.3	10.3±1.5
1	0.02	90.0±2.0	28.5±2.2
5	0.02	95.3±1.9	75.2±3.4
10	0.02	98.0±2.0 ^b	90.7±49.3 ^d

不同字母表示差异性显著, $n=120$, 使用 t 检验, $P<0.01$

2.2 愈伤组织的诱导 将子叶、嫩茎和叶片转入诱导愈伤培养基,2 周后观察,发现 2,4-D 1.0 mg/L BA 0.5 mg/L 的激素配比效果最好,子叶诱导愈伤的频率最高 83%,其次是嫩茎 76%(图 1). 2,4-D 是诱导多种植物离体培养的体细胞转变为胚性细胞的重要激素. 在对滨梅的愈伤组织诱导中,添加部分 BA 配合 2,4-D 的效果更为明显^[2]. 激素种类及浓度对愈伤组织的诱导有较大影响,适量的水解酸蛋白能促进愈伤组织生长并防止愈伤组织褐化^[3].

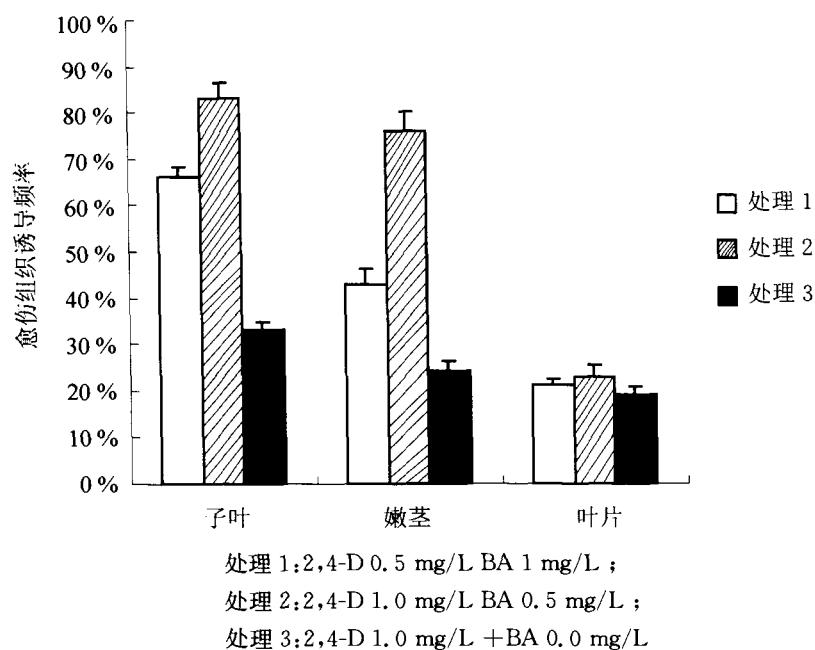


图1 愈伤组织诱导频率

Fig. Frequency of callus induction

2.3 对不定芽和再生芽的诱导

2.3.1 用子叶诱导不定芽 子叶片段移植到培养基后, 6 d 后可以开始观察到子叶变绿, 9 d 后在切口部分开始出现浅绿色瘤状突起, 以后逐渐伸长产生不定芽, 如表 2 所示. 相同浓度下不同激素产生不定芽的诱导率不同, 但均以 TDZ 的诱导效果最好, 在浓度为 1 mg/L 时, 对子叶的不定芽诱导率达到 80%, 发芽数达到每个片段 4.6 个.

表2 子叶诱导不定芽实验结果

Table 2 Experiment result of adventitious shoots induction by cotyledon

激素	含量	萌发率%	发芽数
对照	0	0	0
TDZ	0.2 mg/L	20.1±1.1	1.8±0.1
NAA	0.2 mg/L	4.4±0.3	2.0±0.3
IBA	0.2 mg/L	12.2±0.8	2.3±0.3 ^a
TDZ	0.5 mg/L	51.7±3.3	2.1±0.2
NAA	0.5 mg/L	8.0±0.9	1.5±0.2
IBA	0.5 mg/L	7.2±1.2	1.3±0.2
TDZ	1.0 mg/L	79.7±2.2	4.6±0.4 ^b
IBA	1.0 mg/L	5.4±0.5	0.8±0.1

不同字母表示差异性显著, $n=90$, 使用 t 检验, $P<0.05$

本实验中 IBA 似乎对不定芽的萌发有抑制作用, 随浓度升高到 1 mg/L, 不定芽的萌发率也降到 5%. 这与 Mante *et al.*^[4] 关于 IBA 促进某些李属种类子叶萌发不定芽的报道不符合. 不过本实验 IBA 只实验了 3 个浓度梯度, 无法全面对 IBA 的诱导效果做出评价.

2.3.2 用成年外植体诱导不定芽 本实验选用了一年生滨梅的嫩茎和叶片作为外植体, 比较了嫩茎和叶片的不定芽诱导效果, 并测量了不同长度的叶片对诱导不定芽的影响. 发现在 3~5 mm 长度下, 叶片诱导不定芽效果最好. 在实验中还发现表面活性剂 Tween 能够显著提高对子叶的不定芽的诱导. 但对于嫩茎没有显著效果. 实验亦发现在同处理水平下, 嫩茎诱导不定芽数要高于叶片(表 3).

成年外植体诱导不定芽的优点在于能够保持已知品种的优良性状. 而子叶诱导与愈伤组织诱导均存在诱导出来的后代不稳定, 容易变异的问题. 实验中发现在 3~5 mm 长度下, 叶片诱导不定芽效果最好. 如果小于 3 mm, 叶片形成愈伤组织的趋势将增加, 如果大于 5 mm,

叶片趋向保持原状,形成愈伤组织和不定芽的趋势都下降,这与文献[5]的报道相符.实验亦发现在使用同浓度激素水平下,嫩茎诱导不定芽数要高于叶片.

表 3 外植体诱导不定芽实验结果

Table 3 Experiment result of adventitious shoots induction by explants

激 素	叶片(3~5mm) %	嫩茎 %
对照	0	0
+GA(50 mg/L)	16 ^a	21 ^a
Tween-20 (50 mg/L)	53 ^c	56 ^{bc}

不同字母表示差异性显著, $n=60$, 使用 t 检验, $P<0.05$

赤霉素可以刺激器官生长,但抑制器官发生,在器官形成后添加赤霉素可以促进器官的生长^[6].本实验也发现赤霉素对滨梅不定芽的萌发有一定的抑制作用.表面活性剂 Tween-20 能够显著提高对于叶的不定芽的诱导.但对于嫩茎没有显著效果.表面活性剂过去被用于提高其他树种的不定芽发生频率,李属植物的报

道有文献[5]对欧洲甜樱桃不定芽的诱导等等.但现在对于表面活性剂的作用机理人们知之甚少,据认为非离子型表面活性剂能够提高不定芽诱导率的原因在于:表面活性剂能够提高细胞质膜对植物生长激素的渗透性,或者通过改变膜流动性增加对营养元素的吸收. Khatun *et al.*^[7]发现 Tween-20 在浓度 10~100 mg/L 之间,能够提高对于黄麻子叶萌发不定茎的诱导.同时 Khatun 报道 10 mg/L 的浓度对甜樱桃的不定芽萌发是最好的诱导效果^[7].目前对于表面活性剂对滨梅叶片诱导不定芽频率的提高只做一个浓度,是否其他浓度有更好的效果尚待进一步的实验证明.

2.3.3 用愈伤组织诱导不定芽 通过玉米素(ZT)与 NAA 4 个浓度梯度总共 16 组的正交实验(表 4),可以看出在 2,4-D 0.2 mg/L 和 BA 0.5 mg/L 的基础浓度下,添加 NAA 0.2 mg/L 和 ZT 0.5 mg/L 的培养基组,能够获得 94% 的分化率,平均每个愈伤组织可以产生丛生芽 8.4 个.

表 4 愈伤组织诱导不定芽的正交试验结果

Table 4 The result of adventitious shoots induction by callus

因 素	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
NAA(mg/L)	0	0	0	0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0
ZT(mg/L)	0	0.2	0.5	1.0	0	0.2	0.5	1.0	0	0.2	0.5	1.0	0	0.2	0.5	1.0
分化率(%)	—	—	—	—	23.2	44.4	94.1 ^a	35.9	31.3	52	76.2 ^c	56.1	12.0	34.4	56.2	22.0
从芽数	—	—	—	—	3.2	5.4	8.4 ^b	5.1	3.1	6.5	6.7 ^b	5.8	3.9	6.2	3.4	2.5

不同字母表示差异性显著, $n=150$, 使用 t 检验, $P<0.05$

2.3.4 再生芽的诱导 带芽外植体增殖的主要优点在于取材自具有分化能力的细胞组织,可以最大程度保持遗传的稳定性,不容易受培养条件的影响而发生变异.如表 5 所示,已含

BA 4.4 mg/L 和 IBA 0.5 mg/L 的培养基里,添加 GA,得到的结果是含 GA 组 0.3 mg/L 处理的再生芽萌发率比较高,另外暗培养对芽的萌动也有促进效果.

2.4 分化苗植株的快速再生 对 ZT 和 BA 3 个不同浓度进行交叉组合,配成培养基,将带不定芽的外植体接入培养基,20 d 后记录,发现

ZT 和 BA 浓度均在 2.0 mg/L 时,对不定芽有最大的再生速度效果,在接种 20 d 后记录长度可达 3.1 cm(表 6)。

表 5 再生芽的诱导实验结果

Table 5 The result of regenerated roots induction

培养方式	GA(0 mg/L)%	GA(0.3 mg/L)%	GA(0.5 mg/L)%
暗培养(5d)	1.4	5.3 ^a	2.1
对 照 (5d)	0.7	3.4 ^b	1.2

不同字母表示差异性显著,每芽尖从芽分化数 $n=40$, 使用 t 检验, $P<0.05$

表 6 不同 BA 和 ZT 浓度下 20 d 后分化苗植株生长长度

Table 6 The increasing shooting length with different phytohormone after 20 d

因素	1	2	3	4	5	6	7	8	9
BA(mg/L)	0.3	0.3	0.3	1	1	1	2	2	2
ZT(mg/L)	2	1	0.3	2	1	0.3	2	1	0.3
生长 长度(cm)	1.3 ± 0.1	1.4 ± 0.2	1.5 ± 0.2	2.4 ± 0.3	2.3 ± 0.3	1.5 ± 0.1	3.1 ± 0.3^a	2.8 ± 0.3^c	1.2 ± 0.2

不同字母表示差异性显著, $n=100$, 使用 t 检验, $P<0.05$

表 7 不同 IBA 和 NAA 激素浓度下生根实验结果

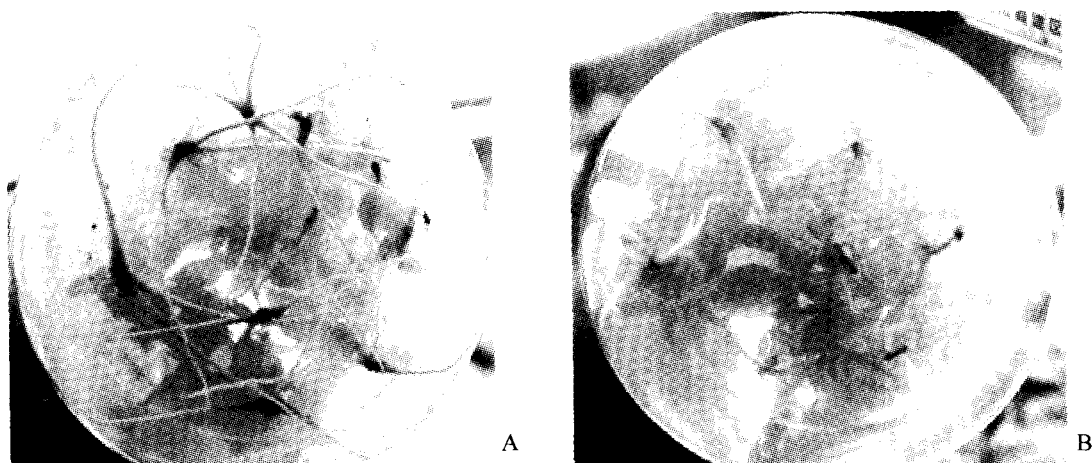
Table 7 The result of roots induction with different phytohormone

因 素	1	2	3	4	5	6	7	8
IBA	0	0	0	0.2	0.2	0.2	0.5	0.5
NAA	0.2	0.4	0.7	0.2	0.4	0	0.2	0.4
生根率	93%	45%	14%	39%	26%	41%	13%	9%
平均根数	3.1	2.4	2.3	1.3	1.1	1.4	1.1	1.2
根长度(cm)	4.3 ± 0.5^a	2.7 ± 0.3	1.8 ± 0.2	2.6 ± 0.3^c	2.4 ± 0.3	2.8 ± 0.32^c	1.6 ± 0.2	1.8 ± 0.2

不同字母表示差异性显著, $n=80$, 使用 t 检验, $P<0.05$

2.5 试管苗的生根诱导 如表 7 所示,可以看出,在 0.2 mg/L NAA+1/2 MS 的培养基中,

获得了最佳的生根效果,生根率达 93%,平均生根数达 3.1,根长度达 4.3 cm(图 2)。



A: 适宜激素下根的生长情况; B: 不适宜激素情况下根的生长情况

图 2 根的诱导

Fig. 2 Rooting induction

通过本实验使用的 IBA 和 NAA 两种不同激素组合,发现单独使用 NAA 的生根效果要好于与 IBA 的配合或单独使用 IBA 的效果.使用 IBA 时,容易出现生根过于纤细、取出时容易断裂的问题,而且实验观察到在含 IBA 培养基中茎的基部有产生愈伤的倾向.浓度越高,愈伤化的倾向越明显.这点与文献[8]对樱桃砧木 Maxma-14 所做的生根实验相反,该实验得出得结果是 NAA 对樱桃插枝的切口端有促进形成愈伤化趋势的作用.在 NAA 对刺激生根的效果方面,与滨梅同属的植物樱桃的最后 NAA 浓度仅为 $0.04 \text{ mg/L}^{[9]}$,相比滨梅的最适 NAA 浓度达到 0.2 mg/L ,这说明滨梅对 NAA 的敏感性较低.

2.6 试管苗练苗与移栽 为了使试管苗能够适应开放环境,转移时应逐步进行,先将三角瓶封口膜打开 $1\sim 2 \text{ d}$,再移至瓶外炼苗环境中,能使其能逐步适应外环境,降低其死亡率.

当试管苗比较苗壮,茎长大于 3 cm ,根长

也大于 3 cm 时,有最大的炼苗存活率,达 56% .

实验发现,炼苗环境的湿度一定要控制在 90% 以上.温度方面,在 23°C 下试管苗生长最好, 15°C 和 30°C 的试管苗存活率都很低. 15°C 气温过低,虽然感染细菌可能性下降,但苗的呼吸作用受抑制,不容易存活.而 30°C 温度太高,炼苗期试管苗容易失水死亡(图 3).

茎越长,同时根越长的,存活率最高;茎最长根最短的,存活率最低,因为根系统不发达,营养和水分供应不上,导致试管苗死亡.在移栽过程中,根长度影响存活率比茎长度影响存活率要显著.因试管苗保水能力较弱,地上部分与根系的比例太大,容易失水萎蔫.另外,置于蛭石培养基中的,存活率较高,因为蛭石中不含有机质,珍珠岩保持水分能力弱于蛭石.珍珠岩逊于蛭石,泥炭土的存活率最低.泥炭土有机质丰富,虽然经过灭菌,还是比蛭石和珍珠岩容易感染细菌.



A:成活的试管苗;B:死亡的试管苗

图3 试管苗炼苗

Fig. 3 The plantlet transplantation

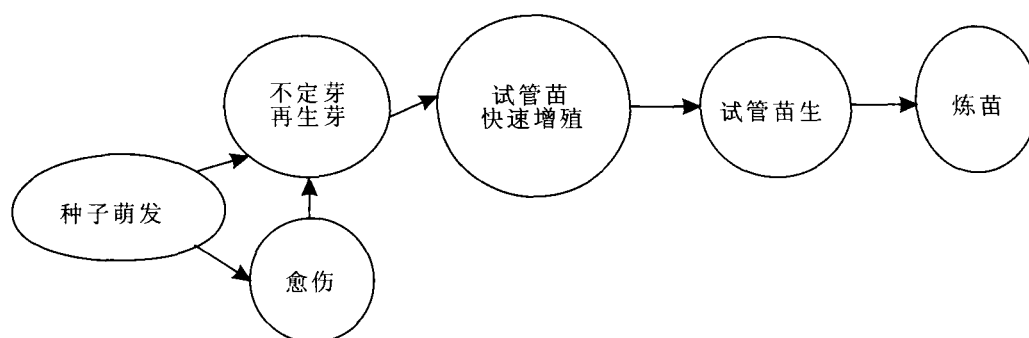


图4 滨海微繁殖体系

Fig. 4 Micropropagation of *Prunus maritime*

2.7 初步耐盐试验 初步耐盐实验显示,空白对照和 100 mmol/L 的 NaCl 处理的滨梅苗 10 d 后正常苗率为 100%, 200 mmol/L 的 NaCl 处理的滨梅苗 10 d 后正常苗率为 80%, 300 mmol/L 的 NaCl 处理的滨梅苗 10 d 后正常苗率为 50%(图 4)。死亡或濒临死亡的植株的主要症状为叶片失水卷曲。

3 讨论与总结

本实验探索了耐盐果树滨梅的组织培养方法,初步建立起了一套完整的滨梅微繁殖体系,实验路线图如图 4。

具体步骤总结如下:

将滨梅种子植于加入 0.02 % 活性炭、6-

BA 10 mg/L 的改良 MS(硝酸铵减半)培养基中萌发。待种子萌发后取子叶接种于含有 1.0 mg/L 2,4-D, 0.5 mg/L BA 的 MS 培养基上诱导愈伤组织。将愈伤组织接种于含有 0.25 mg/L 2,4-D, 0.5 mg/L BA、0.25 mg/L AA 和 0.5 mg/L ZT 的 MS 培养基中诱导不定芽。不定芽诱导以后,将具不定芽的愈伤转至分化培养基(MS 培养基+0.3 mg/L GA),促进不定芽分化生长。待诱导出来的从芽植株长至一定长度后,切下不定芽转接至生根培养基上(1/2 MS+0.2 mg/L NAA)诱导生根。将生出根的试管苗取出,洗去根系上面附着的琼脂,移栽至装有蛭石的塑料小杯中在人工气候箱中锻炼 20 d。至此获得滨梅组培工程苗。

滨梅作为一种多年生灌木,其自然繁殖能力低下,滨梅微繁殖体系的建立,为滨梅作为工具种对海滨生态系统进行修复和改造提供了可能. 而且还可以美化海滨沙地,开发生态旅游,并且对果实进行果品深加工,带来值得期待的经济利益.

References

- [1] Liu Y S, Zhou L. A method for breaking dormancy of cherry embryo in vitro. *Acta Horticulturae Sinica*, 1997, 24(3): 293~294. (刘用生, 周琳. 离体培养条件下打破中国樱桃胚休眠的方法. *园艺学报*, 1997, 24(3): 293~294).
- [2] Cui K R, Xing G S. The induced and regulatory effects of plant hormones in somatic embryogenesis. *Hereditas*, 2000, 22(5): 349~354. (崔凯荣, 刑更生. 植物激素对体细胞胚胎发生的诱导与调节. *遗传*, 2000, 22(5): 349~354).
- [3] Li B L, Zhao Q H, Lu S, *et al.* Callus tissue culture of *Taxus* and the formation of *Taxol*. *Journal of Nanjing University (Natural Sciences)*, 1995, 31(3): 424~429. (李伯林, 赵群华, 卢山等. 红杉植物愈伤组织的培养及其素杉醇形成的初探. *南京大学学报(自然科学)*, 1995, 31(3): 424~429).
- [4] Mante S, Morgens P H, Scorza R, *et al.* Agrobacterium mediated transformation of plum (*Prunus domestica* L.) hypocotyl slices and regeneration of transgenic plants. *Biotechnology*, 1991, 9(9): 853~857.
- [5] Neil J G, Neil H. Adventitious shoot development from wild cherry. (*Prunus avium* L.) leaves. *New Forests*, 2000, 20: 287~295.
- [6] Yu Y J, Dai H P. The application of phytohormone in pomology tissue culture. *Northern Garden*, 2002, 6: 68~70. (于亚军, 代汉萍. 植物激素和生长调节剂在果树组织培养中的应用. *北方园艺*, 2002, 6: 68~70).
- [7] Khatun A, Davey M R, Power J B, *et al.* Stimulation of shoot regeneration from jute cotyledons cultured with non-ionic surfactants and relationship to physico-chemical properties. *Plant Cell Report*, 1993, 13: 49~53.
- [8] Munal A S, Ahmad A K. In vitro propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1999, 59: 203~208.
- [9] Sun M Z. The research on tissue culture technology of cherry SD-13. *Shandong Forestry Science and Technology*, 2000, 4: 25~27. (孙满芝. 樱桃矮化砧木 SD-13 组培快繁技术研究. *山东林业科技*, 2000, 4: 25~27).