

水榆花楸微型繁殖技术的研究

宋洪文, 张象君, 辛宝英, 王小岚 (黑龙江林业职业技术学院生态工程系, 黑龙江牡丹江 157011)

摘要 [目的]研究水榆花楸的微型繁殖技术。[方法]以带侧芽的水榆花楸茎段为外植体,研究不同外植体消毒时间、基本培养基及植物生长调节剂种类和浓度对水榆花楸侧芽诱导、丛生芽增殖及生根的影响。[结果]外植体的最佳消毒时间为7 min;侧芽的最佳诱导培养基为MS+KT 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L;丛生芽的最佳增殖培养基为MS+KT 2.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L;最佳生根培养基为1/2MS+IBA 0.5 mg/L。[结论]该研究为水榆花楸苗木的大规模工业化生产提供了技术支持。

关键词 水榆花楸;微型繁殖;培养基;诱导率;增殖率;生根率

中图分类号 S792.25 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)05-01898-02

Study on Micro Propagation Technology of *Sorbus alnifolia*

SONG Hong-wen et al (Department of Ecological Engineering, Heilongjiang Forestry Vocation - Technical College, Mudanjiang, Heilongjiang 157011)

Abstract [Objective] The aim was to study the micro propagation technology of *Sorbus alnifolia*. [Method] The effects of different sterilization time, basic culture mediums, plant growth regulator types and concentrations on the lateral buds induction, clustered buds proliferation and rooting of *S. alnifolia* were studied by using stem segments with lateral buds as explants. [Result] The best sterilization time of explants was 7 min; the best induction medium of lateral buds was MS+KT 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L; the best proliferation medium of clustered buds was MS+KT 2.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L; the best rooting medium was 1/2MS+IBA 0.5 mg/L. [Conclusion] This study provided technical support for the large-scale industrialization production of *S. alnifolia* seedlings.

Key words *Sorbus alnifolia*; Micro propagation; Medium; Induction rate; Proliferation rate; Rooting rate

水榆花楸(*Sorbus alnifolia*(Sieb. et Zucc.)K. Koch)是蔷薇科花楸属的一种落叶乔木,其树高可达20 m,叶片呈卵形或椭圆卵形,长5~10 cm,宽3~6 cm,先端短渐尖,基部宽楔形至圆形,边缘有不整齐的尖锐重锯齿,复伞房花序较疏松,具花6~25朵,花瓣卵形或近圆形,呈白色,果实椭圆形或卵形,呈红色或黄色,花期5月,果期8~9月^[1]。

水榆花楸树体高大,干直光滑,树冠圆锥状,叶形美观,秋季叶变成金黄色,果实转为鲜红色,具有很高的观赏价值,园林应用前景广阔。但其种子发芽率低,苗木数量满足不了市场需求,而采用微型繁殖技术育苗可在短期内获得大量优质苗木,解决生产需求。笔者在文中就此方面开展了研究。

1 材料与方法

1.1 材料 选取二年生水榆花楸枝条的侧芽作为外植体材料,于2011年4月15日在黑龙江林业职业技术学院植物园内采取。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒时间选择。采集腋芽饱满的枝条,除去叶片,切成2~3 cm的茎段(每段带有1个侧芽),用自来水冲洗5 min,75%乙醇消毒30 s,再用0.1% AgCl₂分别消毒6、7、8、9、10 min,无菌水冲洗8次^[2]后,在超净工作台上接种至MS培养基上,1周后统计消毒效果。

1.2.2 基本培养基选择。将外植体分别接种到MS、B₅、white、N₆基本培养基上^[3],2周后统计生长情况。

1.2.3 生长调节剂选择。将外植体分别接种到MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L、MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L、MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L、MS+KT 1.0 mg/L

+IBA 0.1 mg/L 4种培养基上,2周后统计生长情况。

1.2.4 侧芽诱导培养。在“1.2.3”试验基础上,以MS为基本培养基,加入细胞分裂素KT(浓度分别为1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/L)和生长素IBA(浓度分别为0.1、0.2、0.4、0.6 mg/L)作为诱导培养基,将枝条中段的外植体接种在不同的侧芽诱导培养基上,2周后统计生长情况。

1.2.5 丛生芽增殖培养。在“1.2.3”试验基础上,以MS为基本培养基,加入细胞分裂素KT(浓度分别为1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/L)和生长素IBA(浓度分别为0.1、0.2、0.5、1.0 mg/L)作为增殖培养基,剪取在培养基MS上产生的1 cm长侧芽,接种在不同丛生芽诱导培养基上,2周后统计生长情况。

1.2.6 生根培养。以1/2MS为基本培养基,生长素采用NAA、IBA,浓度0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L,剪取在培养基MS上产生的1 cm长侧芽,接种在不同根诱导培养基上,20 d后统计生根生长情况。

2 结果与分析

2.1 外植体的消毒 外植体消毒接种后1周,每处理随机抽取40个样本,统计分析结果,发现不同处理时间之间外植体消毒成活率差异显著。其中7 min与其他时间消毒效果差异显著($P < 0.05$),效果最好,成活率为78.42%;其次是消毒6、8 min,成活率为66%左右,差异不显著($P > 0.05$);最差为10 min,成活率仅为8.44%。外植体消毒6~7 min时成活率降低的原因是:灭菌不彻底,产生污染;消毒9~10 min成活率降低的原因是:产生药害;消毒8 min时,不但产生污染,还有药害。随着消毒时间的延长,消毒作用明显增强,但药害也明显加大。生产上用0.1% AgCl₂消毒7 min为最佳。

2.2 基本培养基选择 从各培养基处理中随机选取40个样本分析得到MS、B₅、white、N₆培养基的侧芽诱导率分别为40.33%、25.42%、24.00%、25.37%,其中,B₅、white、N₆3种

培养基之间差异不显著($P>0.05$),而 MS 培养基的诱导率高于其他 3 种培养基且差异显著($P<0.05$),因此 MS 较其他 3 种培养基更适于水榆花楸培养。

2.3 生长调节剂选择 从 4 种培养基处理中各随机抽取 20 个样本,统计分析侧芽诱导率及芽高生长情况,结果见表 1。

表 1 不同生长调节剂组合对外植体生长的影响		
生长调节剂	诱导率//%	芽高生长//cm
MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	12.370±5.101 b	0.500±3.021 b
MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L	15.420±2.564 b	1.900±4.211 a
MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	50.000±4.516 a	0.500±3.932 b
MS+KT 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L	53.210±2.201a	1.700±3.413 a

注:同列不同小写字母差异显著($P<0.05$)。

从诱导率结果看:含 BA 的培养基组间差异不显著,含 KT 的培养基组间差异不显著,含 BA 与 KT 的组间差异显

著,且含 KT 的培养基诱导作用优于含 BA 的培养基。从芽高生长结果看:培养基中含 NAA 的组间差异不显著,培养基含有 IBA 的组间差异也不显著($P>0.05$),而含 NAA 与 IBA 的组间差异显著,且含 IBA 的培养基促进芽高生长作用优于含 NAA 的培养基。因而水榆花楸微型繁殖细胞分裂素选用 KT,生长素选用 IBA。

2.4 侧芽诱导 随机抽取各培养基处理样品各 40 个,统计分析侧芽有效(不含玻璃化或形成愈伤组织的芽)^[4]诱导率,从表 2 可见不同浓度生长调节剂对水榆花楸诱导效果显著,浓度过低诱导作用小,诱导率低,而浓度过高则形成愈伤组织,在 MS+KT 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L 培养基上有效侧芽诱导率最高,达 84.33% 左右。

表 2 不同生长调节剂组合对有效侧芽诱导率的影响					
IBA 浓度 mg/L	KT 浓度//mg/L				
	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
0.1	54.40±1.234 Cb	65.49±2.652 Ba	82.53±2.982 Aa	80.02±2.232 Aa	42.61±2.811 Da
0.2	58.44±1.326 Ca	62.61±2.580 Ba	84.33±1.591 Aa	83.51±1.692 Aa	32.55±2.904 Db
0.4	43.53±3.967 Cc	51.68±3.152 Bb	72.59±2.993 Ab	74.59±1.094 Ab	28.36±2.332 Dbc
0.6	40.73±2.287 Bc	35.35±4.117 Bc	65.52±3.641 Ac	61.51±2.983 Ac	24.57±3.537 Cc

注:同行不同大写字母代表差异显著,同列不同小写字母代表差异显著($P<0.05$)。

2.5 增殖培养 随机抽取各培养基处理样品各 40 个,统计分析丛生芽增殖率(表 3),发现不同生长添加剂浓度组合间有效(不含玻璃化或形成愈伤组织的芽)丛生芽增殖率差异显著,KT 促进芽分化,KT 浓度在 1~3 mg/L 时差异显著,随着浓度增加增殖率达最大值 7.0(KT 2.5 mg/L),KT 浓度为

3 mg/L 时部分芽产生玻璃化或形成愈伤组织,有效丛生芽增值率降低。在同一 KT 浓度下,随着 IBA 浓度的升高,有效丛生芽增殖率降低,利于芽生长,抑制丛生芽的分化。综合分析,最佳增殖培养基为 MS+KT 2.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L,有效增殖率为 7.0。

表 3 不同生长调节剂组合对有效丛生芽增殖率的影响					
IBA 浓度 mg/L	KT 浓度//mg/L				
	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
0.1	1.4±0.59 Da	3.6±0.57 Ca	5.5±0.52 Ba	7.0±0.72 Aa	4.2±0.17 Ca
0.2	1.7±0.23 Da	3.4±0.56 Ca	4.7±0.13 Bb	6.3±0.14 Ab	4.0±0.38 Ca
0.5	1.3±0.55 Da	2.4±0.67 Cb	4.3±0.75 Bb	5.6±0.76 Ac	3.8±0.58 Ba
1.0	—	0.6±0.60 Cc	1.7±0.67 Bc	4.1±0.60 Ad	3.5±0.51 Ab

注:同行不同大写字母代表差异显著,同列不同小写字母代表差异显著($P<0.05$)。

2.6 生根培养 随机抽取不同培养基处理样品各 40 个,统计有效根发生率(表 4),发现 IBA、NAA 均能促进生根,当浓度低于 1.0 mg/L 时,随着浓度增加促进生根效果明显,而当浓度大于 1.0 mg/L 时,随着浓度增加有效根数量减少,形成愈伤组织、玻璃化现象增加。相同浓度的 IBA、NAA 间差异显著,且 IBA 优于 NAA。综上所述,确定最佳根诱导培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L,生根率达 85.3%。

表 4 不同培养基的有效根发生率		
浓度//mg/L	NAA	IBA
0.1	13.32±1.245 Db	30.21±0.913 Ca
0.5	45.21±1.237 Bb	85.34±1.251 Aa
1.0	56.20±1.342 Ab	66.51±1.795 Ba
1.5	32.61±0.825 Ca	33.32±1.042 Ca
2.0	12.64±1.202 DC	23.32±1.234 Da

注:同行不同大写字母代表差异显著,同列不同小写字母代表差异显著($P<0.05$)。

3 结论

该试验建立了水榆花楸微型繁殖工厂化为育苗技术,即:外植体采用二年生枝条的侧芽茎段;外植体用 0.1% AgCl₂ 消毒时消毒时间应选择 7 min 为最佳,成活率为 78.42%;诱导侧芽分化最佳培养基为 MS+KT 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L,诱导率达 84.33%;丛生芽增殖最佳培养基为 MS+KT 2.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L,增值率为 7.0;最佳生根培养基 1/2MS+IBA 0.5 mg/L,生根率达 85.3%。

参考文献

[1] 周以良,董世林,聂绍基.黑龙江树木志[M].哈尔滨:黑龙江科技出版社,1986.
[2] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.
[3] 王爱芝,沈海龙,张鹏,等.花楸组织培养中玻璃化现象的发生与防治[J].东北林业大学学报,2009(10):18-22.
[4] 崔崧,张文达,李晶.西伯利亚花楸组织培养关键技术的研究[J].中国林副特产,2010(4):12-14.