

加拿大紫荆‘森林火焰’组培快繁技术研究

李久亮^{1,2}, 苑兆和¹, 招雪晴¹, 尹燕雷¹, 朱孟涛³, 吴芳菲³

(¹山东省果树研究所, 山东泰安 271000; ²山东农业大学林学院, 山东泰安 271018;

³临沂市河东区林业局, 山东临沂 276034)

摘要:以加拿大紫荆‘森林火焰’(*Cercis canadensis* ‘Forest Pansy’)当年生嫩枝为试验材料,探讨不同培养基和植物生长调节剂如6-BA、IBA、NAA、TDZ对试管苗增殖以及生根的影响。结果表明:最适增殖培养基为DKW+TDZ 0.03 mg/L+PVP 0.5 mg/L;生根培养基为1/2 MS+IBA 25 mg/L+AC 0.6 mg/L。此体系中增殖系数可达4.27,生根率73.3%。

关键词:加拿大紫荆‘森林火焰’;组织培养;增殖;生根

中图分类号:S311

文献标志码:A

论文编号:2010-2994

Studies on the Techniques of Tissue Culture and Rapid Propagation for *Cercis canadensis* ‘Forest Pansy’

Li Jiuliang^{1,2}, Yuan Zhaohé¹, Zhao Xueqing¹, Yin Yanlei¹, Zhu Mengtao³, Wu Fangfei³

(¹Shandong Institute of Pomology, Tai’an Shandong 271000;

²College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai’an Shandong 271018;

³Forestry Bureau of Hedong District in Linyi City, Linyi Shandong 276034)

Abstract: Young stem sections with buds of *Cercis canadensis* ‘Forest Pansy’ were used as explants for experiment. The effects of culture mediums and PGRs such as 6-BA, NAA, IBA, TDZ on proliferation and rooting of test-tube plantlets were discussed. The results showed that the medium suitable for proliferation was DKW+TDZ 0.03 mg/L+PVP 0.5 mg/L, the optimum rooting medium was 1/2 MS+IBA 25 mg/L+AC 0.6 mg/L. In this system, the highest propagation coefficient was 4.27 and the rooting rate was 73.3%.

Key words: *Cercis canadensis* ‘Forest Pansy’; tissue culture; proliferation; rooting

0 引言

加拿大紫荆‘森林火焰’(*Cercis canadensis* ‘Forest Pansy’)系豆科紫荆属落叶小乔木或灌木,原产美国,为加拿大紫荆(*Cercis canadensis*)的一个品种^[1],春季先开花后展叶,花色艳丽,新叶紫红光亮,是北美地区广泛应用的景观树种^[2]。组织培养是加快其繁育速度、加大推广规模的有效途径^[3]。国外仅见墨西哥紫荆(*Cercis canadensis* ‘mexicana’)、东部紫荆(*Cercis canadensis* ‘eastern’)的微繁报道^[4-5],而加拿大紫荆‘森林火焰’组培繁殖尚未见报道。本试验对加拿大紫荆

‘森林火焰’增殖和生根进行研究,为建立加拿大紫荆‘森林火焰’离体快繁体系提供依据,同时为加拿大紫荆‘森林火焰’的推广应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

研究田间试验于2010年在山东省果树研究所观赏园艺研究基地进行,室内试验在山东省果树研究所观赏园艺实验室进行。

1.2 试验材料

以山东省果树研究所观赏园艺研究基地的加拿大

基金项目:山东省农业良种产业化项目“优良园林绿化彩叶树种引进筛选”。

第一作者简介:李久亮,男,1985年出生,山东德州人,硕士研究生,研究方向为园林植物种质资源评价研究。通信地址:271000 山东省泰安市龙潭路64号 山东省果树研究所观赏园艺研究室, Tel: 0538-8266350, E-mail: lijuliang5566@163.com。

通讯作者:苑兆和,男,1963年出生,山东招远人,研究员,博士,主要从事果树与园林植物种质资源评价与遗传育种研究。通信地址:271000 山东省泰安市龙潭路64号 山东省果树研究所观赏园艺研究室, Tel: 0538-8334070, E-mail: zhyuan88@hotmail.com。

收稿日期:2010-10-20,修回日期:2011-01-10。

紫荆‘森林火焰’当年生幼嫩枝条为试材。将其剪成2~3 cm含腋芽的茎段,用洗衣粉水浸泡20 min,置于流水下冲洗20~30 min后在无菌操作台上分别用75%酒精浸泡30 s,0.1%升汞处理5 min,无菌水冲洗5次,接种于各培养基上。培养温度(25±1)℃,光照时间14 h/天,光照强度为1500~2000 lx。3周后取其新长出的腋芽作为无菌外植体。

1.3 试验方法

1.3.1 基本培养基筛选 以1/2 MS、MS、DKW^[6]、WPM^[7]为基本培养基,均附加0.01 mg/L TDZ、0.1 mg/L NAA、0.5 mg/L PVP,将无菌腋芽分别接种到各培养基。每处理接种5瓶,每瓶接种2个外植体,重复3次,30天后观察统计增殖情况。

1.3.2 增殖培养基筛选 以DKW为基本培养基,分别添加不同浓度的6-BA(1.0、1.5、2.0 mg/L)和NAA(0.1、0.2 mg/L)、IBA(0.1、0.2 mg/L)配比,不同浓度TDZ(0.01、0.03、0.05 mg/L)。以空白培养基为对照,每处理接种5瓶,每瓶接种2个外植体,重复3次,30天后统计增殖系数、芽长,观察材料生长状况。

1.3.3 生根培养基筛选 以1/2 MS为基本培养基,附加不同浓度的IBA(10、25、40 mg/L)、NAA(10、25、40 mg/L),AC 0.6 mg/L。选取2 cm左右的长势良好的无菌苗进行生根培养,以空白培养基为对照,每处理接种5瓶,每瓶接种2个外植体,重复3次,20天后统计生根情况。

1.3.4 培养条件与数据统计 以上培养基pH均为5.8,

琼脂粉6.0 g/L,蔗糖30 g/L。用DPS软件进行数据处理。

增殖系数= >0.5 cm分化苗总数/接种数

生根率=(生根苗数/接种苗数)×100%

2 结果与分析

2.1 不同基本培养基对加拿大紫荆‘森林火焰’增殖的影响

4种培养基中增殖结果见表1。由表1可看出,不同培养基种类对加拿大紫荆‘森林火焰’的增殖影响不同,其中DKW培养基效果最好(见图1),增殖倍数高达4.30,其次是MS培养基(见图2),而WPM与1/2 MS培养基对增殖影响效果不明显。

2.2 不同生长调节剂配比对加拿大紫荆‘森林火焰’增殖的影响

启动培养3周后,将无菌苗剪下转入增殖培养基中。5天后在含有TDZ的培养基中,无菌苗基部开始膨大,10天后开始有芽点分化,20天后开始有小芽从产生,并伴有愈伤组织形成。而无菌苗在含有6-BA、NAA、IBA的培养基中分化芽点的时间较长,且芽点生长不是很明显。经观察可以发现,在含有6-BA、NAA和IBA培养基上,愈伤组织生长量较少且分化系数较低,并伴有较严重的褐化现象。无菌腋芽在含有较低浓度的TDZ的培养基上,具有较好的增殖效果,较短的时间内在基部长出愈伤组织,增殖系数较高,并且不会出现褐化现象。由表2可知,在所有的处理中,14号增殖效果最好,增殖系数可达4.27,平均苗

表1 腋芽增殖情况统计表

培养基	接种数/个	增殖数/个	增殖系数	生长情况
1/2MS	30	73	2.43	生长较弱,有效苗较少
MS	30	121	4.03	生长健壮,叶片较多,有效苗数少
DKW	30	129	4.30	生长健壮,叶片较多,有效苗数较多
WPM	30	101	3.37	生长一般,叶片少



图1 加拿大紫荆‘森林火焰’在DKW培养基上的增殖情况



图2 加拿大紫荆‘森林火焰’在MS培养基上的增殖情况

表2 DKW培养基中不同浓度生长调节剂组合对增殖的影响

编号	6-BA/(mg/L)	NAA/(mg/L)	IBA/(mg/L)	TDZ/(mg/L)	接种腋芽数/个	增殖芽数/个	增殖系数	苗高/cm
1	1.0	0.1	-	-	30	62	2.07	2.57
2	1.5	0.1	-	-	30	85	2.83	2.31
3	2.0	0.1	-	-	30	100	3.33	2.17
4	1.0	0.2	-	-	30	61	2.03	2.23
5	1.5	0.2	-	-	30	64	2.13	2.45
6	2.0	0.2	-	-	30	73	2.43	2.14
7	1.0	-	0.1	-	30	58	1.93	2.5
8	1.5	-	0.1	-	30	82	2.73	2.83
9	2.0	-	0.1	-	30	101	3.37	2.91
10	1.0	-	0.2	-	30	46	1.53	2.43
11	1.5	-	0.2	-	30	59	1.97	2.67
12	2.0	-	0.2	-	30	67	2.2	2.6
13	-	-	-	0.01	30	117	3.9	2.91
14	-	-	-	0.03	30	128	4.27	3.58
15	-	-	-	0.05	30	124	4.13	3.03

高3.58 cm。而在对照的空白培养基上无菌苗没有出现增殖现象。增殖培养基以DKW + TDZ 0.03 mg/L + PVP 0.5 mg/L为宜。

2.3 不同生长调节剂对加拿大紫荆‘森林火焰’生根的影响

将生长健壮、高约2.0 cm左右的小苗从培养基基部切下,接种于1/2 MS培养基上培养,转接后50天左右可形成完整小植株。到转接后的第60天,统计生根情况(表3)。结果表明,生长素能促进试管苗生根,但生长素种类及其浓度对试管苗生根的效果不同。试管苗在空白培养基上的生根率最低,只有5.67%。试管苗在含有IBA的培养基上生根效果好于含有NAA的培养基,其中又以IBA浓度为25 mg/L效果最好,生根率、生根数、平均根长等与其他处理都差异极显著。因此,适宜生根的培养基为1/2 MS+IBA 25 mg/L+AC

0.6 mg/L。

3 结论与讨论

经过以上的试验,笔者发现适宜加拿大紫荆‘森林火焰’增殖培养基为DKW+TDZ 0.03 mg/L+PVP 0.5 mg/L,生根培养基为1/2 MS+IBA 25 mg/L+0.6 mg/L AC,期为品种的规模化育苗提供参考。

植物生长调节剂在试管苗增殖中起重要作用,但不同生长调节剂在不同植物组培中起的作用不同。加拿大紫荆‘森林火焰’组培苗有较强的顶端优势,使用细胞分裂素6-BA,增殖效果并不十分显著,分化芽数少,增殖系数低,但能促进有效梢的形成,因此6-BA适宜作促梢培养,不宜作增殖培养,这与师校欣的研究结果一致^[8]。TDZ是一种苯基脲衍生物,具腺嘌呤类细胞分裂素的生物活性,已广泛应用于木本植物的离体再生研究中,尤其能显著促进再生难度较大的植物器官再生^[9]。本研究

表3 植物生长调节剂对加拿大紫荆‘森林火焰’生根的影响

处理号	生长素/(mg/L)	接种数/个	生根率/%	每苗平均根数/cm	平均根长/cm
A ₁		30	5.67e	1.6d	1.6e
A ₂	IBA 10	30	53.3cd	2.3cd	2.3d
A ₃	IBA 25	30	79.3a	4.2a	3.9a
A ₄	IBA 40	30	65.0ab	2.5bc	3.3b
A ₅	NAA 10	30	52.5de	1.9cd	1.2e
A ₆	NAA 25	30	66.7bc	3.2b	3.2bc
A ₇	NAA 40	30	63.3cd	1.7cd	2.7cd

注:LSD显著性检验,不同小写字母表示在0.05水平下差异显著。

发现,与6-BA相比,TDZ能明显增加加拿大紫荆‘森林火焰’的出芽数,但却抑制芽点伸长,使能用于生根的有效苗数急剧减少。在继代过程中交替使用0.03 mg/L的TDZ和2.0 mg/L的6-BA,可克服TDZ的抑制作用,获得较多的有效苗。Robert等^[10]在研究加拿大紫荆时也发现使用TDZ利于出芽,而6-BA利于增加芽苗的高度。因此,在加拿大紫荆‘森林火焰’增殖过程中,交替使用TDZ和6-BA,可有效提高加拿大紫荆的繁殖效率,同时降低使用TDZ的成本。

预实验中发现加拿大紫荆‘森林火焰’在培养过程中易发生玻璃化^[11]和褐化现象,这与任建武等^[11]对刺槐的研究是一致的,通过添加适宜种类和浓度的激素可以控制加拿大紫荆‘森林火焰’玻璃化现象,其他一些方法,如通气、调解pH^[12]、改变光照等也能够控制玻璃化。而对于褐化在含有TDZ培养基中加入PVP能够缓解褐化,而PVP在含有6-BA培养基上对褐化几乎不起作用。关于褐化现象的解决有待进一步研究。

研究中还发现加拿大紫荆‘森林火焰’与其他一些豆科植物相似,组培苗较难生根,这与杜鹃等^[13]的报道是相一致的。但通过在含有较高生长素浓度的培养基上培养,可大大提高其生根率和生根的质量,说明低浓度的生长素不能很好的刺激组培苗生根。在预试验中,将小苗直接接种于含有较低生长素(0.1~5.0 mg/L)浓度的1/2 MS培养基中诱导生根,结果发现随着IBA、NAA浓度的增加生根率逐渐增大。当IBA浓度为25 mg/L生根率最高可达79.3,平均根条数4.2条。但当IBA浓度超过40 mg/L时生根率有所下降,且根色出现发黑的现象。在加有NAA的培养基中预培养,当NAA浓度为25 mg/L生根率最高可达66.7,平均根条数3.2条,但当NAA浓度超过40 mg/L时生根率有所下降,这与朱建峰等^[14]关于高浓度的生长素长期存在对根的生长起到抑制作用的观点一致。同时还观察到,在加有IBA与NAA的培养基中生根方式不同。在加有IBA的培养基中,形成愈伤或形成少量愈伤便可出现根的分化;在加有NAA的培养基中,根部会在长出一定量

的愈伤后,再在愈伤上生根,根表现出粗短、愈伤化等畸形现象,后期移栽成活率低。与李云等^[15]所做的四倍体刺槐生根试验得出的结论相似。

参考文献

- [1] 王福银,史云光,蔡鸿宇.紫叶加拿大紫荆嫁接育苗技术[J].江苏林业科技,2008,35(1):46-47.
- [2] 张春英,陈淑筠.加拿大紫荆容器育苗研究[J].安徽农业科学,2007,35(32):10285-10286.
- [3] 郭洪启.加拿大紫荆引种繁殖实验[J].山东林业科技,2005(4):21-22.
- [4] Mackay W A, Tipton J L, Thompson G A. Micropropagation of Mexican redbud (*Cercis Canadensis* ‘mexicana’) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1995,43(3):295-299.
- [5] Geneve R L, Kester S T, Yusnita S. Micropropagation of eastern redbud (*Cercis Canadensis* L.) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1992,42(5):417-420.
- [6] Driver J A, Kuniyuko A H. *In vitro* propagation of paradox. Walnut root stock [J]. HortScience, 1994,79(4):507-509.
- [7] Lloyd G, Mccown B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture[J]. Proceeding of International Plant Propagation Society, 1997(30):421-427.
- [8] 师校欣,高仪,杜国强,等.红叶加拿大紫荆离体快繁技术研究[J].西北植物学报,2008,28(10):2132-2137.
- [9] 黄建,马峰旺,樊军锋,等.枣树离体叶片不定芽再生体系建立的研究[J].西北植物学报,2006,26(5):942-948.
- [10] Robert N T, Robert M B, Effin T G. Somatic embryogenesis from immature embryos of redbud (*Cercis Canadensis*) [J]. Plant Cell Reports, 1988(7):148-150.
- [11] 任建武.四倍体刺槐试管苗玻璃化研究[J].安徽农业科学,2008,36(12):4867-4868.
- [12] 黄茶英,刘青林.激素、通气和pH值对四倍体刺槐和二乔刺槐离体生长的影响[J].中南林学院学报,2003,23(5):38-41.
- [13] 杜娟,甄志先,王进茂,等.预培养在刺槐试管苗生根中的作用[J].河北农业大学学报,2007,30(5):57-61.
- [14] 朱建峰,杨敏生,王进茂.单叶刺槐组织培养研究[J].北方园艺,2010(2):175-178.
- [15] 李云,田砚亭,钱永强,等.NAA和IBA对四倍体刺槐试管苗生根影响及不定根发育过程解剖观察[J].林业科学,2004,40(5):75-80.