

都山绣球的愈伤组织培养与植株再生

池景存, 黄守印*, 杨福林

河北旅游职业学院生物工程系, 河北承德 067000

Callus Culture and Plantlet Regeneration of *Hydrangea bretschneideri* Dippel. var. *dushanensis* F. L. Yang et W. H. Sun var. nov

CHI Jing-Cun, HUANG Shou-Yin*, YANG Fu-Lin

Department of Biological Engineering, Hebei Tourism Vocational College, Chengde, Hebei 067000, China

1 植物名称 都山绣球(*Hydrangea bretschneideri* Dippel. var. *dushanensis* F. L. Yang et W. H. Sun var. nov)。

2 材料类别 幼嫩叶片切块。

3 培养条件 愈伤组织诱导培养基: (1) $N_6+6-BA\ 2.0\ mg\cdot L^{-1}$ (单位下同)+KT 0.5+NAA 0.5; (2) $N_6+2,4-D\ 2.0+6-BA\ 0.5$ 。不定芽分化培养基: (3) $N_6+6-BA\ 3.0+KT\ 0.5+IBA\ 0.5$; (4) $MS+6-BA\ 3.0+KT\ 0.5+IBA\ 0.5$ 。芽增殖培养基: (5) $MS+6-BA\ 1.5\sim 2.0+KT\ 0.5+IBA\ 0.5$; (6) 脱水MS (河北科技大学提供, 批号为 06/04/17, 该品含MS配方中的所有成分, 不含激素, 根据需要添加)+6-BA 1.5~2.0+KT 0.5+IBA 0.5。生根培养基: (7) $1/2MS+IBA\ 0.5$; (8) $1/2MS+NAA\ 0.5$; (9) $1/2\ MS+NAA\ 0.25+IBA\ 0.25$ 。以上培养基(1)~(6)均加 3.0% 蔗糖和 0.75% 琼脂, (7)~(9)均加 1.5% 蔗糖和 0.75% 琼脂, pH 5.8~6.0。培养温度 $(25\pm 2)\ ^\circ C$ 下, 诱导愈伤组织, 暗中培养, 不定芽分化与增殖及生根于光照下培养, 光照强度为 $30\sim 40\ \mu mol\cdot m^{-2}\cdot s^{-1}$, 光照时间 $14\ h\cdot d^{-1}$ 。

4 分化与生长情况

4.1 愈伤组织的诱导 将取自河北省宽城县都山自然保护区内的都山绣球叶片用自来水冲洗干净, 于超净工作台上按常规消毒后, 切成 $0.5\ cm\times 0.5\ cm$ 的小块, 分别接种在诱导愈伤组织培养基(1)和(2)上。培养1周, 开始陆续产生愈伤组织, 2周时, 所试2种培养基上均产生愈伤组织(图1)。其中以附加6-BA、KT、NAA的培养基(1)上产生的愈伤组织率最高, 达100%, 且在继代培养上能正常增殖, 同时还能形成15%~20%的不定芽, 从而有利于快速繁殖; 而附加2,4-D、6-BA的培养基(2)上愈伤组织发生频率较低, 为75%。可见, 6-BA、KT、NAA配比的比2,4-D、6-BA配比的诱导产生愈伤

组织的效果好。

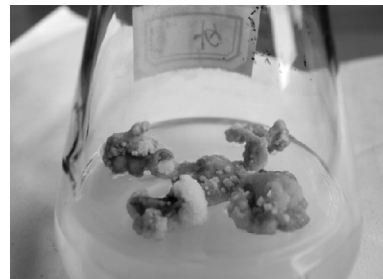


图1 都山绣球叶片产生愈伤组织

4.2 不定芽分化 将上述产生的愈伤组织通过继代增殖培养达到一定数量和大小后, 转移到培养基(3)和(4)上, 20~30 d, 分化出丛生不定芽, 以 N_6 为基本成分, 附加6-BA 3.0、KT 0.5、IBA 0.5的培养基(3)较好, 不定芽分化率虽只有31.5%, 但一块愈伤组织最多能分化出30个不定芽(图2), 而以MS为基本成分的培养基(4)不定芽分化率较低, 只有2.0%,

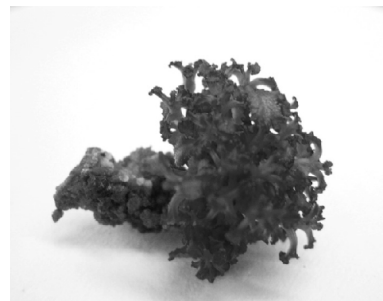


图2 都山绣球愈伤组织分化不定芽

收稿 2009-05-11 修定 2009-07-13

* 通讯作者(E-mail: hsy2053989@126.com; Tel: 0314-2200178)。

且多为单生。

4.3 芽的继代增殖培养 取上述得到的丛生不定芽, 切割成单芽, 接入培养基(5)和(6)上, 培养1周后, 腋芽陆续长出, 30 d后形成丛生苗。MS和脱水MS培养基上长出的丛生苗均粗壮, 叶片呈深绿色, 增殖率高, 但以脱水MS+6-BA 1.5+KT 0.5+IBA 0.5配比的培养基(6)增殖率最高, 为2.85倍, 单芽增殖系数最多可达5.5, 丛生芽粗壮, 苗高一般10 cm左右(图3), 培养基(5)增殖系数仅2.36倍。在整个培养过程中, 脱水MS培养基收缩慢、不龟裂, 可延长培养时间, 从而有利于提高继代增殖率。



图3 都山绣球芽的继代增殖

4.4 生根培养 将试管苗切割成单株或芽段接入培养基(7)~(9)上培养20 d后, 开始生根。生长素单独使用时, NAA比IBA好, 生根率分别为80.4%和64.2%。而IBA+NAA(各0.25 mg·L⁻¹)按1:1配合使用的比单独使用的效果要好, 生根率为95%, 生根快, 根数多, 每株生根一般为3~5条, 多者5~6条(图4), 移栽后容易成活。



图4 都山绣球试管苗生根

4.5 试管苗移栽 选根多、茎粗壮、叶完整和木质化程度高的都山绣球试管苗, 在室内自然条件下

炼苗6 d后, 揭去培养瓶上封口膜再敞口炼苗1~2 d后, 栽入蛭石和腐殖土(1:2)的基质中, 在温度为20~26 °C和相对湿度为65%~75%条件下, 注意遮阴和保湿, 成活率达92%, 而栽入珍珠岩和腐殖土(1:2)的基质上, 成活率只有50%。

4.6 室外移植 将盆栽成活苗移植到河北宽城都山、塌山及承德县和承德市等不同海拔的自然条件下均能正常生长, 且能安全越冬。移栽到处于半阴半阳(50%~60%自然日照)的壤质土上, 按一般园林苗木及花卉生产中的措施进行管理, 苗木成活率高(80%), 生长快, 长势好, 迄今已得到生长3年的苗木, 株高达1 m左右。

5 意义与进展 都山绣球是虎耳草科八仙花属东陵八仙花中的一个新变种(杨福林等2008)。分布于河北省宽城县都山自然保护区海拔1000 m山坡林缘处, 为多年生灌木, 伞形花序, 圆球形, 直径16~24 cm, 无性花初期呈淡绿色, 后期呈粉白色, 6月下旬至8月下旬开花, 花期80余天, 在园林绿化中有较高的观赏和应用价值。因常规扦插和嫁接繁殖难以成活, 为合理开发、利用这一珍贵资源, 我们在取其嫩枝芽段进行离体培养获得快繁无性系的基础上(黄守印等2008), 继续取其叶片作离体培养, 诱导产生愈伤组织, 实现植株再生和快速繁殖, 从而便于遗传转化研究。所得到的结果对这一植物野生资源的保护、快速繁殖途径的扩大及在园林生产中的应用, 可能有一定的参考价值。迄今为止, 与其同属的其他物种的组织培养和快速繁殖已有过报道(龚伟等2003; 任叔辉2006; 雷亚灵和李周岐2008; 黄守印等2008; 杨福林等2008), 但都山绣球通过愈伤组织培养实现植株再生的报道尚未见。

参考文献

- 龚伟, 王米力, 石大兴(2003). 八仙花离体培养和植株再生. 植物生理学通讯, 39 (6): 624
- 黄守印, 杨福林, 何福林, 邢路军(2008). 都山绣球试管苗继代增殖培养研究初报. 河北林业科技, (2): 1~2
- 雷亚灵, 李周岐(2008). 八仙花茎段组织培养技术研究. 西北林学院学报, 23 (4): 101~103
- 任叔辉(2006). 八仙花的组织培养与快繁技术. 防护林科技, (1): 10~11
- 杨福林, 孙伟华, 黄守印, 包雪英, 姜淑侠, 安晓平, 李宝柱(2008). 东陵八仙花一新变种——都山绣球. 河北林果研究, 23 (2): 158~159