

甜樱桃组培苗的生根研究^{*}

袁小环^{1, 2}, 彭向永³, 李 青², 张开春¹

(1 北京市农林科学院 林业果树研究所, 北京 100093; 2 北京林业大学 园林学院, 北京 100083;

3 曲阜师范大学 生命科学院, 山东 曲阜 273165)

[摘 要] 研究了基本培养基(1/2 WPM, 1/2 F14, 1/2 MS)、培养方式(液体培养、根部黑暗、两步生根法)和生长素浓度对甜樱桃(*Prunus avium* L.) 品系“6-7”组培苗生根的作用效果。结果表明, 1/2 F14 为最适基本培养基; 液体培养对组培苗的生根有很大的促进作用, 根部黑暗条件培养次之, 两步生根法作用不明显; 生长素质量浓度配比以 BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L 效果最好, 生根率可达 89.7%。据此认为, 要提高组培生根困难的木本植物的有效生根率, 以岩棉为支撑物的液体培养是一项有效措施。

[关键词] 甜樱桃; 组织培养; 生根

[中图分类号] S662.503.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)04-0071-03

欧洲甜樱桃(*Prunus avium* L.) 是蔷薇科李属樱桃亚属乔木^[1], 花朵繁密秀美, 果实璀璨晶莹, 不仅生产的水果营养丰富, 而且还是园林绿化、庭院经济的优良树种, 具有很高的园林观赏价值和经济价值。“6-7”是北京市林业果树研究所培育的优良品系, 其枝干微黄, 果实成熟早, 大大丰富了北京春天的园林景观。但“6-7”组培苗的生根比较困难, 表现为生根率低、根量少, 且多是愈伤生根等, 而这正是实验室组培苗栽培成功与否的关键。本试验对影响组培苗生根的几个因素进行了分析, 并研究了不同生根培养基、培养方式和生长素质量浓度对比对组培苗生根的作用效果, 以期为提高甜樱桃品系“6-7”的有效生根率提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

北京市农林科学院林业果树研究所选育的甜樱桃品系“6-7”组培苗。

1.2 试验方法

试验于 2002-01~05 在北京市农林科学院林业果树研究所生物技术实验室完成。

本试验分 4 步进行: 研究组培苗的状态(单枝或丛生)对生根的影响; 研究“6-7”组培苗在不同基本培养基上的生根情况; 研究不同的培养方式

(包括给予黑暗条件、液体培养和两步生根法 3 种)对“6-7”组培苗生根的影响; 研究不同生长素种类和质量浓度对“6-7”组培苗生根的作用效果。

所有的组培苗均在相同的环境条件下培养。温度为(26±1)℃; 光照强度为 2 000 lx, 每天连续光照 15 h。培养 20 d 后统计生根率(生根率=(有效生根的株数/接种的总株数)×100%)。

1.2.1 组培苗状态对生根的影响 以 1/2 F14+BA 0.25 mg/L + 蔗糖 25 g/L 为培养基, 接种单枝与丛生 2 种状态的“6-7”组培苗进行生根试验。

1.2.2 基本培养基对“6-7”生根的影响 选择大量元素减半的 WPM, F14, MS 3 种培养基, WPM, F14 的 pH 值为 5.4, MS 为 5.8, 3 种培养基均附加 BA 0.25 mg/L, 蔗糖 25 g/L。

1.2.3 不同培养方式对“6-7”组培苗生根的作用 设计 4 种培养基, 分别是 R1: 1/2 F14+BA 2.0 mg/L; R2: 1/2 F14+BA 0.5 mg/L; R3: 1/2 F14+BA 0.5 mg/L, 不加琼脂, 以岩棉作固定植株的基质; R4: 1/2 F14+BA 0.5 mg/L + 碳素墨水 200 μL/L。其中 R1, R2 用作两步生根法及对照, R3 用于液体培养, R4 给予根部黑暗条件培养。

两步生根法设置 3 和 7 d 两个转接梯度, 即分别在 R1, R2 上培养 3 和 7 d 后, 再转到无任何激素的培养基上培养, 并留部分苗一直在 R1, R2 上培

* [收稿日期] 2003-09-30

[基金项目] 国家转基因项目“优质、抗逆转基因果树新品种(系)选育”(JY03-B-33-02)

[作者简介] 袁小环(1975-), 女, 安徽砀山人, 在读博士, 主要从事园林植物遗传育种研究。

[通讯作者] 张开春(1965-), 男, 河南淇县人, 研究员, 博士后, 主要从事果树生物技术与樱桃育种研究。

养, 作为对照。

1.2.4 生长素种类和质量浓度对“6-7”组培苗生根的影响 根据文献资料^[2]和前期试验结果, 在 3 种生长素 NAA, BA, IAA 中, IAA 对甜樱桃品种不太适宜, 因而本试验用 NAA, BA 2 种生长素进行浓度筛选。用 1/2 F14 为基本培养基, BA 设 0.4, 0.7 和 1.0 mg/L 3 个质量浓度水平; NAA 设 0.2, 0.5 和 1.0 mg/L 3 个浓度水平; 暗培养时间分别为 3, 6, 9 d。采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计。

2 结果与分析

2.1 组培苗的状态对生根的影响

由表 1 可知, 单枝苗的生根效果明显优于丛生状苗, 说明丛生状的植株不利于根系形成, 这种现象可能与生长素等植物激素在植株体内的分布有关。丛生状植株中, 生长素更多地集中在各个枝条的顶端, 而相应地减少了其在根部的分布, 从而影响了根的生成。

表 1 单枝与丛生苗在 1/2 F14 培养基上的生根情况

Table 1 Rooting of One-stem plantlet and Multi-stem plantlet in 1/2 F14 medium

接种苗状态 State of shoots	接种株数 No. of implanting	生根株数 No. of rooting	生根率/% Rooting percentage
单枝苗 One-stem	49	26	53.1
丛生苗 Multi-stem	43	4	9.3

2.2 基本培养基对“6-7”生根的影响

观察发现, 接种后 10 d 左右有根生成, 15 d 时大部分根长至 1 cm 长。有些苗长出 4~5 条丛生根, 有些仅长出 1~2 条, 只长出 1~2 条丛生根的组培苗因移栽不易成活, 本研究中不计入生根株数和生根百分率。

表 2 “6-7”组培苗在不同培养基上的生根情况

Table 2 Rooting of plantlets in different media

培养基 Basic medium	接种株数 No. of implanting	生根株数 No. of rooting	生根率/% Rooting percentage
1/2 F14	26	14	53.8
1/2 WPM	34	1	2.9
1/2 MS	23	9	39.1

由表 2 可见, 1/2 F14 上的生根率最高, 明显高于 1/2 WPM 和 1/2 MS, 而 1/2 WPM 上的生根率极低, 仅为 2.9%。因而在以后的试验中选择 1/2 F14 作为“6-7”生根的基本培养基。

2.3 不同培养方式对“6-7”组培苗生根的影响

不同处理生根率的测定结果表明, 对照(R2)的

生根率为 0, 液体培养(R3)时的生根率为 73.7%, 给予根部黑暗条件(R4)时的生根率为 52.8%; 两步生根法效果不明显, 一直在 R1 培养基上培养的生根率为 22.2%, 在 R1 上培养 3 d, 7 d 后转接到无激素的培养基上, 其生根率分别为 20.0% 和 15.4%, 在 R2 上培养 3 d, 7 d 后转接到无激素的培养基上, 其生根率分别为 0.0 和 18.8%。

由此可知, 液体培养(R3)和给予根部黑暗条件(R4)均能收到很好的生根效果。液体培养对有效生根率的提高作用最大, 这是由于液体培养中, 一方面营养物质随水流动便于植株吸收, 另一方面植株产生的有害抑制物质在液体中均匀分布, 降低了其在根部的聚集浓度; 此外, 岩棉作为植株的固相支持物, 不但透气性好, 而且为植株的根部提供了黑暗环境, 这对组培苗的生根大有益处。

通常在生根培养基中加入活性炭以给组培苗造成黑暗环境, 但活性炭同时也会吸附营养成分^[1], 本试验以墨水代替活性炭可以弥补其不足。虽然 R4 处理(即在培养基中加入墨水造成根部黑暗环境)的生根效果不如液体培养, 但操作相对简便易行。

在生根培养的前期, 生长素刺激植株基部产生根原基, 但生根后生长素的存在却抑制了根的生长, 两步生根法则可以避免这种不利影响^[3-5]。应用这种方式提高生根率, 前期培养基中生长素的质量浓度和培养时间是关键因素, 本试验设置了 2 种生长素质量浓度(2.0 和 0.5 mg/L)和 2 个培养天数(3 和 7 d), 效果均不理想, 故放弃这种培养方式。

2.4 “6-7”组培苗生根的生长素筛选

由极差 R 直观分析了 3 因素对甜樱桃“6-7”生根的影响效应(表 3), 其大小排序为 NAA > BA > 黑暗培养, 最佳组合为 A₃B₃C₁, 即 BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + 黑暗培养 3 d。对其进行的方差分析表明, 在 0.05 水平上, 生长素 NAA 对樱桃生根的作用达显著差异, 而在 0.1 水平上, BA 的作用呈显著差异, 黑暗培养的作用不显著。NAA, BA 对樱桃生根具有明显的正向作用, 在一定范围内质量浓度越大作用越明显。暗培养对“6-7”生根有一定的促进作用; 虽然试管苗的光合作用很弱, 但长时间的黑暗培养对植株生长仍然不利, 表现为叶片变黄, 严重时脱落, 茎尖坏死, 茎段老化等。

BA 的质量浓度为 1.0 mg/L 时, 生根率均较高, 最高可达 89.7%, 但是茎段基部形成愈伤组织, 有些为愈伤根, 虽然移栽时加以注意能够成活, 但是容易损伤、脱落, 不如皮层生根苗恢复生长快。而 BA 质量浓度为 0.5 mg/L 的处理为皮层生根, 所以生长素质量浓度不宜过高。

表 3 不同生长素及其质量浓度对“6-7”组培苗生根的影响
Table 3 Effect of concentration of different auxins on rooting

编号 No.	BA/ (mg · L ⁻¹) A	NAA/ (mg · L ⁻¹) B	黑暗培养/d Black C	生根株数/总接种株数 No. of rooting/ Total No. of	生根率/% Ratio of rooting
1	0.4	0.2	3	9/25	36.0
2	0.4	0.5	6	16/27	59.3
3	0.4	1.0	9	13/22	59.1
4	0.7	0.2	6	5/22	22.7
5	0.7	0.5	9	10/22	45.5
6	0.7	1.0	3	18/25	72.0
7	1.0	0.2	9	11/21	52.3
8	1.0	0.5	9	11/21	52.3
9	1.0	1.0	6	26/29	89.7
水平 K ₁ Level K ₁	51.5 a	37.0 a	61.9 a		
均值 K ₂ Average K ₂	56.6 a	60.9 a	57.2 a		
K ₃	72.3 a	73.6 b	52.3 a		
R	20.8	36.6	9.6		

注: “a”, “b”表示差异水平, “a”表示在同一水平上, “a”与“b”间差异显著。
Note: “a” and “b” mean the difference level, “a” shows, at the same level, the difference between “a” and “b” is significant

3 讨 论

在甜樱桃的组织培养中, F14 是较适合其启动与增殖的一种培养基^[6]。本试验结果表明, 1/2 F14 也适合甜樱桃品系“6-7”组培苗的生根, 效果优于相同条件下的 1/2 MS 和 1/2 WPM。

在所研究的 3 种培养方式(液体培养、培养基中加墨水、二步生根法)中, 液体培养对“6-7”组培苗的生根作用最好, 不足之处在于其操作上不太方便, 将幼嫩的组培苗插入岩棉有些困难, 有时候会导致苗的折断, 可尝试用别的固体支撑物代替岩棉。Konwar 等曾用“纸桥”^[7], 但促进生根效果不明显, 因为纸桥不能提供有利于生根的根部黑暗环境。另外, 培养基中加墨水处理配以最适生长素质量浓度可以达到满意的结果。二步生根法效果不明显, 可能与选用的生长素质量浓度和处理时间有关, 或者这种方法对甜樱桃品系“6-7”不太适合。

要提高组培苗的生根率, 一般采取的方法有暗

培养, 在培养基中加入活性炭或改变培养基营养成分等, 而液体培养应用较少。本试验证明, 液体培养是一种行之有效的措施, 因为其为组培苗生根提供了最佳的外界环境(包括光、湿、气和营养)。

对比已发表的甜樱桃组培苗的生根配方, 本试验得到的结果有些不同。如韩文璞^[2]和伍克俊等^[8]采用 1/2 MS + BA 0.7 mg/L + NAA 0.2 mg/L; 也有采用 1/2 MS + BA 0.7 mg/L + NAA 0.5 mg/L^[9]的。究其原因, 除生根前组培苗的生长状态不同外, 也可能与试验所用的品种有关。如考特(Colt)的生根培养, 只需加 NAA 0.2 mg/L 或 BA 0.8 mg/L 即可生根良好^[10]。

另外, 如果生长素种类和质量浓度使用不合适, 很可能会导致愈伤组织生根, 愈伤组织生根与组培苗的主茎没有维管联系, 容易脱落。但是如果移栽时加以注意, 植株仍能成活并正常生长。移栽半月后观察植株根部, 可发现从皮层部长出的白色、幼嫩根段。

[参考文献]

[1] 刘用生, 李友勇. 植物组织培养中活性炭的使用[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 214- 217.
[2] 韩文璞. 甜樱桃的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(2): 119- 120.
[3] 张炳华, 孙连玉, 张淑芹, 等. 酸樱桃组培苗两步生根法[J]. 落叶果树, 1989, 21(3): 35- 36.
[4] Radmann E B, Fachinello J C, Peters J A. Effect of auxins and culture conditions on rooting *in vitro* of apple M-9 rootstock[J]. Revista Brasileira de Fruticultura, 2002, 24(3): 624- 628.
[5] Pei Dong, Yuan L ichai, Xi Shengke, et al. Shoot rooting *in vitro* for walnut cultivars[J]. Scientia Silvae Sinicae 2002, 38(2): 32- 37.
[6] 覃兰英, 李 青, 邓世秀, 等. 核果类病毒识别鉴定及脱毒技术[J]. 北京农业科学, 1997, 15(5): 23- 28.
[7] Konwar B K, Bordoloi B J, Dutta R K, et al. Rooting of *in vitro* tea shoots and field establishment of tissue culture-derived tea plants[J]. Two & a Bud, 2000, 46(2): 26- 32.
[8] 伍克俊, 苟永平. BA 和 NAA 对脱毒大樱桃分化苗生根的影响[J]. 北方果树, 1997, 30(1): 16.
[9] 伍克俊, 苟永平. 大樱桃脱毒技术及无毒苗快速繁育研究[J]. 中国农业科学, 1997, 30(2): 96.
[10] 蒋启林, 邓家林, 代正林. 樱桃砧木 COLT 的组织培养[J]. 四川果树, 1994(4): 13- 14.

(下转第 78 页)



- [3] 华玉涛, 焦 鹏, 曹竹安, 等. 钙离子对热带假丝酵母 CT1-12 细胞生长影响的初步研究[J]. 工业微生物, 2001, 31(4): 37- 39.
- [4] 国家环境保护局科技标准司, 环境工程科技协调委员会. 活性污泥膨胀的机理与控制[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992.
- [5] 吕文洲, 杨 敏, 郑少奎, 等. 酵母菌处理系统中丝状菌性膨胀的诱因及控制研究[J]. 环境科学学报, 2001, 6(增刊): 59- 64.
- [6] 高尔焕. 利用酵母营养盐提高酵母活性的研究[J]. 酿酒科技, 2001, (4): 28- 29.
- [7] 宋庆训, 林金萍. 脂肪酶产生菌 *Andida rugosa* 产酶条件研究[J]. 生物工程学报, 2001, 17(1): 101- 103.

Primary studies on the recovery capabilities of nutrient source to the yeast wastewater treatment system

L IU Y ing^{1,3}, L U W en-zhou^{2,3}, GUO Kang-quan¹,
W U Cheng-qiang³, YANG M in³

(1 College of Life Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 College of Architectural, Civil Engineering and Environment, Ningbo University, Ningbo, Zhejiang 315211, China;

3 SKLEAC, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: The recovery capabilities of nutrient source to the abnormal yeast wastewater treatment system were discussed in small-scale experiments. The supplement of nitrogen source to wastewater can improve the oil degradation capabilities and sludge properties. The removal rate of COD and oil increased 85% and 88% respectively compared with that without any nutrient source supplement to wastewater. The supplement of Ca^{2+} played some roles in recovering the system and the removal rate of COD and oil increased 40% and 47% respectively. The recovery capabilities of supplement of phosphorus source or Fe^{3+} to system were not obvious.

Key words: yeast; nutrient source; wastewater treatment; oil degradation capabilities; yeast-sludge character

(上接第 73 页)

Research on tissue culture rooting of *Prunus avium* L.

YUAN Xiao-huan, PENG Xiang-yong, LI Qing, ZHANG Kai-chun

(1 Institute of Forestry and Pomology, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100093, China;

2 College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

3 College of Life Science, Qufu Normal University, Qufu, Shandong 273165, China)

Abstract: Basic media, culture forms and the concentrations of auxins were tested to improve the effective *in vitro* rooting of *Prunus avium* “6-7”. Results showed: 1/2 F14 was better than 1/2 WPM and 1/2 MS; Liquid culture with rock wool for supporting medium could improve the rooting rate greatly. Solid medium added with black ink (200 $\mu\text{L}/\text{L}$) was good. Two-step rooting method did not work; About the hormones, BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L was the most suitable, the rooting percentage was up to 89.7%. For some woody plants which are difficult for *in vitro* rooting, liquid culture with rock wool for supporting medium will be effective.

Key words: *Prunus avium* L.; tissue culture; rooting