

国内洋桔梗组培快繁技术的研究进展

陈小凤, 龚明霞, 康德贤, 方峰学

(广西农业科学院 蔬菜研究中心, 广西 南宁 530007)

摘要: 通过查阅现有洋桔梗组织培养资料, 对洋桔梗组培快繁技术体系的研究进展进行了综述, 主要介绍了洋桔梗组织培养中的外植体的选择、初代培养、增殖培养、生根培养及练苗移栽等程序的研究进展。

关键词: 洋桔梗; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S 682.1⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2008)06-0067-03

洋桔梗(*Enstoma grandiflorum*), 又名草原龙胆, 为龙胆科龙胆属观赏植物, 原产于美国、墨西哥。原本是一种普通的野花, 随着育种领域的进步, 特别是最近 10 a 间, 洋桔梗的育种与生产有了迅速的发展, 尤以日本为盛, 已育有紫色、粉色、白色、蓝色、淡紫色、白花带粉边或白花带紫边等多种花色以及钟型花冠、漏斗型花冠等多种花型的品种, 目前, 日本市场上有 300 多个品种。洋桔梗花姿高雅秀丽, 妩媚动人, 异常新奇, 且插花效果好, 花条寿命可达 2~3 周, 是国际上流行的切花品种, 已成

为荷兰鲜花拍卖市场十大切花之一。

我国近年来少有栽培, 目前仍属引种栽培的初级阶段。原因是洋桔梗种子细小, 多数依赖于国外进口的 F₁ 代杂种, 价格昂贵, 且种子萌发缓慢, 幼苗生长缓慢, 从播种到定植(3 对叶)有 2~3 个月时间, 其间受环境的影响很大, 育苗技术要求很高, 种苗供应受限制, 阻碍了洋桔梗切花的商品化生产。在这种前提下, 利用组织培养技术繁殖洋桔梗来解决这个问题已十分必要^[1]。通过查阅现有发表的资料, 对洋桔梗组培快繁的技术体系研究进展进行了综述。

1 外植体的选择

外植体是指第 1 次从母株上获取的用于组培的材料。从理论上讲, 植物细胞具有全能性, 植物的任何部位均能作为外植体, 在合适的条件下成功进行培养, 但

第一作者简介: 陈小凤(1975-), 女, 广西柳州人, 硕士, 主要从事园林花卉引种、生产工作。

通讯作者: 方峰学。

收稿日期: 2008-02-26

Present Development Situation and Ponder to Organic Strawberry in Dandong Area

LENG Chun-ling

(Agriculture College of Liaodong University, Dandong, Liaoning 118003, China)

Abstract: The modern agricultural production relies on chemical fertilizer to maintain and increase production to a great extent, it's not only has consumed the massive non-renewable energy and increased the production cost, but also has the very tremendous influence on humanity's survival environment, therefore, the organic agriculture has now become hot spot of the world agriculture research. In the organic agricultural production process, any chemical fertilizer, agricultural chemicals, weed killer, growth conditioner and technology of gene transfer and its products will be not used, but the nature and the ecology principle will be followed to realize the nutrient cycle maximization within the system. Organic food was a kind of environmental and safe food through certification of independent certification organization. The organic strawberry production was still at the start stage at present in our country. This article mainly summarized the question existed in the production of the organic strawberry according to several years' production practices in Dandong area and forecast prospects of the production of the organic strawberry for learning and reference to everybody.

Key words: Dandong; Organic strawberry

具体到某种植物不同的器官、组织的分化及形态发生能力各不相同^[2]。按植物生理学的基本观点,沿植物体的主轴而言,越向上的部位,其生长时间越短,即形成得较晚的组织,其生理的(或发育)年龄越老,越接近发育上的成熟,越易形成花器官。因此,选取外植体不仅要选生长健壮、无病虫害的植株获得,更要从新抽出的嫩枝上获得,这是植物组培快繁成功的关键技术之一。据报道,洋桔梗应用得最多的作为外植体的部位有顶芽、侧芽、带腋芽的茎段及叶片等,其中有的是在野外栽培植株上获取,有的是无菌播种而获得,都以顶芽、侧芽、茎段培养的离体快繁技术研究的比较多也比较成功。如张淑娟等^[3]、杨永刚等^[4]利用无菌播种获得无菌种子苗,再以种子苗的顶芽及茎段作为外植体组培获得成功。杨霞等^[5]用栽培植株的顶芽及侧芽作为外植体进行组培快繁也获得成功。毛元荣等^[6]利用无菌种子苗的叶片作为外植体获得再生植株进行洋桔梗组培生根的研究及叶片再生体系的建立。达克东等^[7]采摘野外栽培的洋桔梗嫩叶作为外植体,建立了洋桔梗叶片高效不定芽的发生和植株再生体系。

2 初代培养

初代培养是利用通过筛选的外植体材料或种子经过表面灭菌,然后接种或播种在无菌的培养基上,在一定的培养条件下经过一段时间的培养,诱导生长与分化,获得无菌材料。初代培养的目的是为了建立无菌繁殖体系。对获得的无菌材料就可用于下一阶段的增殖培养。目前,洋桔梗的组织培养都以MS培养基作为基础培养基,通过添加不同种类、不同浓度的生长调节物质进行的。由于洋桔梗品种的不同,采用的外植体也不同,因此,诱导芽体的启动培养所用的培养基也不同。如张淑娟等^[3]用无菌播种获得种子苗的茎尖及带腋芽的茎段接在 $3/4 MS+6-BA 0.1+NAA 0.02$ (单位均为mg/L,下同)培养基中,其增殖的芽长势健壮,叶片厚而绿,生长速度较快。杨霞等^[5]利用洋桔梗顶芽、侧芽接在 $MS+6-BA 1.0+NAA 0.02$ 培养中,1周后的顶芽、侧芽和腋芽都开始生长,其基部形成黄绿色的愈伤组织,并逐渐分化出小芽点。郝立新等^[8]利用洋桔梗的顶芽、侧芽、叶片及茎段接在 $MS+6-BA 0.5\sim 2.0+NAA 0.1\sim 0.3$ 的培养基中,1周后顶芽、侧芽及茎段上的腋芽也开始萌动生长;20 d后叶片四周形成愈伤组织,用此法可增殖10~20倍。这也与张子学等^[9]、何家涛等^[10]研究得出的初代培养的激素配比一致。毛元荣等^[6]利用无菌播种获得的种子苗的叶片作为外植体,确定了洋桔梗叶片不定芽诱导的最佳培养基为 $MS+ZT 0.5+NAA 0.01$,且培养基的最佳pH值为6.3。李群等^[11]也利用洋桔梗的叶片作为外植体,确定了叶片诱导效果好的培养基为 $MS+6-BA 0.5\sim 1.0+NAA 0.2$ 或 $MS+6-$

$BA 0.5\sim 1.0+IBA 0.2$ 。

3 增殖培养

增殖培养是组培快繁获得大量无菌苗的重要环节。毕竟在初代培养的基础上获得的芽、苗的数量有限,不能充分发挥组织培养快速繁殖的优势,需经继代增殖以获取大量增殖的无性系材料。在继代培养中,芽的增殖速度是离体快繁中最为重要的一问题,增殖速度快慢决定其在生产中的应用价值。增殖培养所用的培养基有些与初代培养相同或者适当降低激素浓度。不同的BA与NAA浓度对不定芽的质量及分化苗的数量与质量都有影响。例如BA浓度过高而NAA浓度过低,形成的试管苗细弱且玻璃化严重;而NAA浓度过高则愈伤组织生长快,分化芽的数量降低。这说明生长素与细胞分裂素之间存在着平衡关系,一旦打破这种平衡就会影响或减弱增殖效果^[12]。李群等^[11]认为6-BA的浓度须低于1.0,否则会导致愈伤组织严重的玻璃化,且认为适合增殖培养的培养基为 $MS+6-BA 0.5$ 或 $MS+KT 0.5$ 。杨永刚等^[4]认为不论6-BA的浓度如何,当NAA浓度小于0.5时,愈伤组织都从切口部位产生,且呈粒状、淡绿色,但当NAA的浓度大于或等于0.5时,愈伤组织不是从切口产生而是整块叶片增厚且变大,形成肿胀状的松软愈伤组织且叶片失绿变成淡黄色,得出适合的增殖培养基为 $MS+6-BA 0.2+NAA 0.1$,其芽保持7~8倍的增殖系数。杨霞等通过6-BA与NAA的激素配比试验得出洋桔梗增殖的适宜培养基为 $MS+6-BA 0.5+NAA 0.02$,这种激素配比的培养基使洋桔梗保持6~8倍的增殖率。傅玉兰等^[13]认为洋桔梗试管苗继代增殖的适宜培养基为 $MS+6-BA 0.5\sim 1.0+NAA 0.1+IAA 0.2+GA_3 0.8$ 这种激素配方不仅利于洋桔梗试管苗的增殖生长,还有利于促进试管苗的伸长生长。

4 生根培养

生根培养的目的是诱导不定根的形成,使苗生根长成完整植株。张淑娟等^[3]认为在培养基中切取小苗直接扦插在洁净的珍珠岩基质中,即用瓶外扦插法约10~20 d可陆续生根,且成活率达95%;而用激素在瓶内诱导生根移栽成活率只有70%。由此可见洋桔梗比较容易生根。杨霞等^[5]认为生根适宜的培养基是 $1/2 MS+NAA 0.8$,试管苗在此培养基中,28 d后达100%生根。但也有相反的报道,杨永刚等认为,当NAA浓度大于0.5时,在根基部形成大量愈伤组织,再从愈伤组织上产生大量不定根,且产生的根有玻璃化现象,与叶片外植体器官发生相似。由于愈伤组织上形成的根一般不与茎的导管相通,因此吸收的营养物质难以运输,最终得出洋桔梗适宜的生根培养基为 $1/2 MS+NAA 0.1$ 。毛元荣等^[6]也认为当NAA的浓度大于0.5时,就诱导洋桔梗产生大量着生于愈伤组织上的不定根,并且得出洋桔

梗适宜的生根培养基为 1/2 MS+IBA 0.1。张子学等^[9]在 NAA 与 IBA 的激素配比试验中得出最佳的生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.6+IBA 0.1, 用此培养基生根率多数可达 80%以上。

5 练苗移栽

移栽是组培育苗的重要一环, 由于组培苗的生长环境条件与外界环境条件差别很大, 主要是温室和大田环境的湿度较低而温差大, 光照水平也较高且处于带菌条件下, 而洋桔梗生根试管苗的抗病、抗干旱等抗逆性较差, 因此洋桔梗组培苗移栽到大田之前需要经过一个练苗的过程。一般的做法是将生根苗从培养瓶中取出, 洗去琼脂, 栽入伴有经过消毒的适宜基质的穴盘中, 喷雾保湿并盖上薄膜, 1 周后掀开, 每 7~10 d 洒 1 次 1/2 MS 的营养液, 此法洋桔梗组培苗成活率达 80%~90%。待苗长到 4 对叶时, 将苗连同基质一起从营养钵中取出移栽到大田定植。因为培养基的营养物质是很丰富的, 很容易引起细菌的繁殖, 所以一般不提倡敞瓶练苗 1 周的做法。

移栽时应注意的问题是: 选择适宜的基质: 由于不同基质的透气性、保水性、供肥性的差异, 对洋桔梗试管苗的移栽成活率和适应性生长影响是很大的。达克东等^[7]认为蛭石加草炭基质是洋桔梗试管苗移栽成活的适宜基质。适时移栽: 根形成后就应及时移栽, 否则根太长, 琼脂不易清洗, 根老化, 影响到移栽成活率。防止损伤: 移栽时用镊子轻轻取出幼苗, 避免损伤到幼茎和根系, 否则易引起腐烂而死亡。

6 展望

我国洋桔梗组培快繁技术体系的研究始于 20 世纪 90 年代初期, 十几年间有了较快的发展, 目前仍没有工厂化生产成功模式的报道, 而在组培快繁的体系(初代培养、增殖培养及生根培养)中, 由于品种间差异较大,

也没有统一的培养基配方。在组培的过程中, 常遇到再生芽的玻璃化现象, 主要原因是培养基中 BA 浓度过高导致, 降低培养基中 BA 浓度虽可减轻玻璃化现象, 但同时也降低外植体的分化率。有研究报道, 在培养基中附加聚乙烯醇可以有效防止苹果砧木试管苗的玻璃化现象的发生^[14], 这样一来也会增加组培快繁的工厂化生产成本。因此, 要把洋桔梗组培快繁技术应用于生产, 实现工厂化生产仍有许多工作需要进一步的研究。

参考文献

- [1] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学出版社, 1990: 30-32.
- [2] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986: 75-91.
- [3] 张淑娟, 刘与明. 洋桔梗 F₁ 无菌播种和试管苗的快速繁殖[J]. 亚热带植物通讯, 1996, 25(2): 13-16.
- [4] 杨永刚, 周根余, 程磊. 洋桔梗叶片体外再生系统的激素调控[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2001, 30(1): 98-100.
- [5] 杨露, 徐康. 洋桔梗的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(6): 435-438.
- [6] 毛元荣, 刘茜, 周根余. 洋桔梗叶片再生体系的建立[J]. 上海师范大学学报, 2004, 30(1): 92-96.
- [7] 达克东, 张松, 臧运祥, 等. 洋桔梗叶片培养不定芽发生和微繁殖研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2003, 34(4): 494-498.
- [8] 郝立新, 王贤, 周涤. 花卉植物洋桔梗和火鹤的组培快繁技术[J]. 北京农业科学, 2000, 18(1): 22-23.
- [9] 张子学, 丁为群, 乔华伟, 等. 洋桔梗的快速繁殖研究[J]. 中国林副特产, 2005(4): 1-3.
- [10] 何家涛. 洋桔梗无菌播种与离体培养技术研究[J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(2): 230-234.
- [11] 李群, 刘光勇, 王丽. 对洋桔梗植株再生的影响及生根的研究[J]. 广西植物, 2004, 24(1): 40-42.
- [12] 杨增海. 园艺植物组织培养[M]. 北京: 农业出版社, 1987: 56-133.
- [13] 傅玉兰, 杨海燕, 姚萍. 植物激素在洋桔梗组培快繁中的应用研究[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(10): 1847-1848.
- [14] 汪懋华. “精细农业”的实践与农业科技创新[J]. 中国软科学, 1999(4): 21-25.

Research on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Eustoma Grandiflorum* in China

CHEN Xiao-feng, GONG Ming-xia, KANG De-xian, FANG Feng-xue

(Vegetable Research Center of Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China)

Abstract: Baised on materials of *Eustoma grandiflorum* about Tissue Culture and Rapid Propagation, the progress in *Eustoma grandiflorum* Tissue Culture was reviewed in this paper. Research of *Eustoma grandiflorum* tissue culture progress were summarized such as election the first materials, reproduce culture, root culture, strong seedling and transplant.

Key words: *Eustoma grandiflorum*; Tissue culture; Rapid propagation