

牡丹‘乌龙捧盛’鳞芽组织培养技术研究

刘磊¹, 黄 钊¹, 仲 照 东², 卢 莉³

(1. 信阳农业高等专科学校 园艺系, 河南 信阳 464000; 2. 信阳农业高等专科学校 规划设计系, 河南 信阳 464000;

3. 信阳市第六高级中学, 河南 信阳 464100)

摘 要:以牡丹鳞芽为试材, 分别研究了不同暗处理时间和植物生长调节剂组合对鳞芽褐化与生根的影响。结果表明:在鳞芽初代培养过程中, 先暗培养 7 d, 而后转入正常光照培养, 可明显减轻鳞芽褐化; 诱导根原基形成的最适培养基为: 1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IAA 2.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L 或 1/2MS+NAA 1.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+AC 0.2 g/L。

关键词:牡丹; 鳞芽; 组织培养

中图分类号:S 685.110.36 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)20-0115-02

牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.)是中国传统名花^[1-3], 素有“国色天香”、“花中之王”的美誉。长期以来, 我国人民把牡丹作为幸福、美好、繁荣昌盛的象征, 牡丹深受人们喜爱。牡丹的繁殖多采用播种、嫁接和分株方式, 不仅成苗周期长, 而且出苗量少, 质量参差不齐。组织培养是一项重要的生物技术, 它在牡丹的快速繁殖方面^[4-5], 具有无可比拟的优势, 该试验对牡丹品种“乌龙捧盛”鳞芽进行了诱导研究, 旨在探索适宜牡丹鳞芽生根的最佳途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试牡丹品种‘乌龙捧盛’于 2011 年 11 月上旬采于河南省洛阳市国家牡丹基因库。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒 先用洗衣粉清洗鳞芽表面, 自来水冲洗干净后, 剥去鳞芽所有苞片, 在自来水下冲洗 30 min, 然后用 500 倍多菌灵和 40 万单位的药用青霉素浸泡 10 min, 最后用无菌水冲洗 3 次。置超净工作台上, 紫外灯照射 25 min 后, 用 75%(v/v)酒精浸泡 40~50 s, 无菌水冲洗 1 次, 再用 0.2% HgCl₂(w/v)处理 6~8 min, 最后用无菌水冲洗 5~6 次, 备用。

1.2.2 不同暗处理时间对牡丹‘乌龙捧盛’鳞芽褐化的影响 将牡丹鳞芽接种到培养基(1/2MS+蔗糖 30 g/L+琼脂 5.2 g/L, pH 5.8)上。暗处理时间设为: 3、7、14 d, 以正常光照作为对照, 暗处理结束后转为正常光照

培养, 14 d 后统计褐化率和玻璃化率。

1.2.3 诱导牡丹‘乌龙捧盛’幼苗生根 以 MS 培养基为基础, 适当减少大量元素的比例, 形成 1/2MS 和 1/3MS 2 种基本培养基, 在培养基中添加一定浓度的 NAA、IBA、6-BA、ABT、AC(活性炭), 共组成 8 种配方, 鳞芽经 7 d 暗培养后转入光照培养。每个处理接种 12 个鳞芽, 3 次重复。如无特别说明, 在整个初代培养过程中, 温度(18±2)℃, 光照强度 1 500 lx。初代培养结束后, 将幼苗转接到无植物生长调节剂的 1/2MS 培养基上, 在培养过程中, 统计鳞芽生根率。

1.3 数据分析

所得数据采用 DPS 3.01 统计软件进行方差分析与多重比较(Duncan's 法), 其中百分率经反正弦转换后加以分析比较。

2 结果与分析

2.1 不同暗处理时间对牡丹‘乌龙捧盛’鳞芽褐化的影响

由表 1 可以看出, 初代培养的环境条件对牡丹鳞芽的褐变影响非常明显。在正常光照条件下, 温度(18±2)℃, 培养 14 d 后, 鳞芽的褐化率最高达 60%, 但是没有玻璃化现象发生; 暗处理 3 d 后转为正常光照, 褐化率为 40%, 无玻璃化苗; 暗处理 7 d 后转为正常光照, 褐化率为 15%, 玻璃化率为 10%, 随着暗处理时间的进一步延长至 14 d 时, 其褐化率与暗处理 7 d 的褐化率无差别,

表 1 不同暗处理时间对牡丹鳞芽褐化的影响(14 d)

Table 1 Effect of different dark treatments on browning of sprout(14 days)

培养条件	接种总数/个	褐化率/%	玻璃化率/%
正常光照	20	60	0
暗处理 3 d	20	40	0
暗处理 7 d	20	15	10
暗处理 14 d	20	15	30

第一作者简介:刘磊(1983-), 男, 河南安阳人, 硕士, 助教, 现主要从事花卉栽培生理和生物技术研究工作。E-mail:swuliulei@yahoo.com.cn.

收稿日期:2012-05-24

但是后者其玻璃化率是前者的3倍。由此看出,在牡丹鳞芽初代培养过程中,虽然暗处理可以减轻褐化,但暗处理时间并不是越长越好,应以暗处理7 d后转为正常光照培养为宜。

2.2 初代培养基对牡丹鳞芽生根的影响

由表2可知,将经过初代培养的幼苗转接到1/2MS培养基上,整个生根培养阶段完全在黑暗条件下进行。35 d后,各个处理的试管苗生根率差异显著,来源于S1的试管苗生根率最高,达到47.5%,生根初期,在苗的基部边缘有肉眼可见的小突起或小颗粒,呈白色或淡绿色,20 d后即可看到根的形成(图3),但是根的生长非常缓慢,这和自然条件下牡丹实生苗根的生长十分相似。

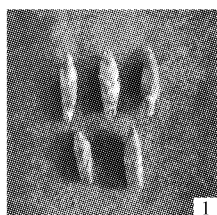


图1 牡丹‘乌龙捧盛’鳞芽

Fig.1 Scaly bud of 'Wulongpengsheng'

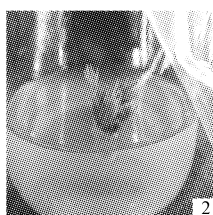


图2 鳞芽萌发

Fig.2 Gemination of scaly bud

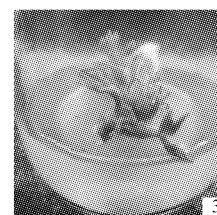


图3 幼苗生根

Fig.3 Rooting seedling of 'Wulongpengsheng'

S1、S2、S3这3个处理其鳞芽生根率均在30%以上,处理间也无显著差异,在诱导牡丹鳞芽根原基形成过程中,均可采用;处理S4、S5、S6、S7之间生根率无显著差异,鳞芽生根率相对较低;处理S8中的幼苗在整个培养过程中没有生根,它和处理S7之间有显著差异,可见在用ABT诱导鳞芽生根时,浓度不能太高,否则将抑制根原基的形成。

3 结论与讨论

在牡丹‘乌龙捧盛’鳞芽初代培养过程中,通过暗培养可以明显减轻外植体褐化,以接种后暗处理7 d,然后转为正常光照培养为宜。

该试验采用两步生根法,在初代培养结束后,将所有试管苗转接到无任何植物生长调节剂的培养基上,诱导生根,有资料显示在根原基形成之后,继续在含有生长素的培养基上培养,将会对根的进一步生长产生抑制作用。牡丹‘乌龙捧盛’鳞芽初代培养在1/2MS+NAA

表2 不同培养基对牡丹鳞芽生根率的影响(35 d)

Table 2 Effect of different medium on rooting rate of sprout(35 days)

处理号	初代培养基	生根率/%
S1	1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IAA 2.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L	47.5±6.11aA
S2	1/2MS+NAA 1.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+AC 0.2 g/L	37.5±6.31aAB
S3	1/2MS+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+AC 0.2 g/L	31.5±1.31aABC
S4	1/2MS+NAA 1.0 mg/L+AC 0.2 g/L	17.5±2.67bBCD
S5	1/2MS+NAA 1.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L	15.0±5.75bCD
S6	1/2MS+NAA 0.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L+6-BA 0.1 mg/L	13.5±1.78bCD
S7	1/3MS+ABT 5.0 mg/L	9.0±1.42bD
S8	1/3MS+ABT 10 mg/L	0.0±0.00cE

注:小写字母表示5%水平上差异显著,大写字母表示1%水平上差异显著,字母相同表示差异不显著。

2.0 mg/L+IAA 2.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L或者1/2MS+NAA 1.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+AC 0.2 g/L上培养,待诱导出根原基后,转移至不添加任何植物生长调节剂的1/2MS培养基上暗培养,试管苗生根率可以达到37%~47%,是否有更好的生根方法,有待于进一步深入研究。

参考文献

- [1] 成仿云. 牡丹史话[J]. 园林, 1994(5):9-10.
- [2] 中国牡丹全书编撰委员会. 中国牡丹全书[M]. 北京:中国科学技术出版社, 2002.
- [3] 刘淑敏, 王莲英, 吴涤新, 等. 牡丹[M]. 北京:中国建筑工业出版社, 1987.
- [4] 李航, 王永伟, 何松林. 牡丹试管苗生根研究进展和展望[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(12):3499-3513.
- [5] 赵鑫, 詹立平, 邹学忠. 牡丹组织培养研究进展[J]. 核农学报, 2007, 21(2):156-159.

Study on Tissue Culture of Peony Sprout

LIU Lei¹, HUANG Xiang¹, ZHONG Zhao-dong², LU Li³

(1. Department of Horticulture, Xinyang Agricultural College, Xinyang, Henan 464000; 2. Department of Planning and Design, Xinyang Agricultural College, Xinyang, Henan 464000; 3. The Sixth High School of Xinyang, Xinyang, Henan 464100)

Abstract: The effects of different dark treatments and plant growth regulators combination on browning and rooting were studied respectively. The results showed that during the course of initial culture, sprout was cultured under dark for 7 d, and then sprout was cultured under normal light condition, and browning was relieved obviously. The most optimum medium for root primordium was 1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IAA 2.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L or 1/2MS+NAA 1.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+AC 0.2 g/L.

Key words: tree peony; sprout; tissue culture