

金心也门铁工厂化育苗技术研究

陈丽文, 杨利平, 荣 薏, 时 群, 何贵整

(广西钦州市林业科学研究所, 广西 钦州 535099)

摘 要:以金心也门铁的腋芽、顶芽和叶片为外植体,研究了不定芽诱导、增殖、生根诱导及移栽管理的最佳培养条件,以期形成金心也门铁工厂化育苗技术。结果表明:适宜不定芽诱导的培养基为:改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L;适宜芽继代增殖的培养基为:改良 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+AD 2.0 mg/L+AC 0.2%;适宜组培苗生根的培养基为 1/2MS+IBA 1.0 mg/L。以腋芽或顶芽为外植体直接诱导不定芽,并用以芽繁芽的方式进行继代增殖能大大降低金心也门铁组培繁殖过程出现的变异率。光照对金心也门铁组培苗的生根有明显的影 响,最适合的光照强度为 2 000~3 000 lx;在此条件下培养 10 d 组培苗即可出根。

关键词:金心也门铁;组织培养;工厂化育苗

中图分类号:S 503.53 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)13-0138-04

金心也门铁(*Draceana arborea*)属龙舌兰科龙血树属植物,又称金心巴西铁、巴西千年木,是香龙血树的一个园艺变种,其宽带状叶聚生茎干上部,叶片中央有一金黄色宽条纹,两边绿色,是一种优良的观叶植物^[1]。因极其耐荫、四季常青、管理简便、生长慢、寿命长,置于室内光线一般处可摆 6 个月至 2 年,能够有效吸附室内的甲醛、苯等有害气体,已成为中国重要的室内观叶植物。金心也门铁花期长,开花结实长达数年,且极少分枝,因此使用种子繁殖和扦插繁殖难以满足生产需求,其大规模育苗只能通过离体培养途径来进行^[2]。有关金心也门铁的离体培养研究的报道很少,而且都是在实验室内建立再生体系的研究,鲜见有适合大规模生产的工厂化育苗技术方面的研究报道。现通过对金心也门铁不定芽的诱导、增殖、生根等培养条件进行研究,筛选出适合金心也门铁组织培养的培养条件,以期形成金心也门铁的组培工厂化育苗技术,为金心也门铁的产业化生产提供理论依据。

第一作者简介:陈丽文(1980-),女,本科,工程师,现主要从事林木和花卉的组培技术等研究工作。

责任作者:何贵整(1966-),男,高级工程师,现主要从事林木和花卉的引种栽培及无性繁殖技术等研究工作。E-mail:guizhenghe@sohu.com.

基金项目:2012 年钦州市科学研究与技术开发科技攻关资助项目(20124501)。

收稿日期:2013-03-04

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的金心也门铁选自大棚栽培后遗传性状稳定、株高 1.0~1.2 m 的健壮优株,外植体选用金心也门铁优株基部萌发小芽的腋芽、顶芽、叶片。

1.2 试验方法

1.2.1 诱导方式 以通过腋芽、顶芽直接诱导无菌芽和通过叶片诱导愈伤组织再诱导 2 种诱导方式进行诱导。

1.2.2 培养基选择 诱导及继代增殖培养的基本培养基为改良 MS 培养基,并添加不同浓度、不同种类的激素,蔗糖 30 g/L,生根培养的基本培养基为 1/2MS 培养基,蔗糖 20 g/L,pH 均为 5.8~6.0。

1.2.3 无菌材料的获取 于晴天选取生长健壮、无病虫害的植株,剪取腋芽、顶芽、幼嫩叶片做外植体。将采集的腋芽、顶芽、叶片用自来水冲洗干净,在超净工作台上将外植体进行灭菌处理,其处理方法如下:(1)腋芽、顶芽→75%酒精洗涤 20 s→无菌水冲洗 2~3 次→0.1% HgCl₂ 灭菌 12 min→无菌水冲洗 4~5 次→切成 1~2 cm 长,接种于培养基中,暗培养 10 d 左右;(2)幼嫩叶片→75%酒精洗涤 20 s→无菌水冲洗 2~3 次→0.1% HgCl₂ 灭菌 10 min→无菌水冲洗 4~5 次→切成约 0.5 cm 长小段,接种于培养基中,暗培养 10 d 左右,再放到弱光下进行培养。

1.2.4 芽增殖培养 以腋芽、顶芽直接诱导芽的方式:将诱导获得的无菌芽转至芽增殖培养基进行芽增殖培养,待芽条长至 2~3 cm 时,即可进行生根培养。通过叶片诱导愈伤组织再分化芽的方式:将获得的愈伤组织无菌材料切下转至芽分化培养基上可不断增殖继而分化

形成丛生芽,待芽条长至 2~3 cm 时,即可进行生根培养。

1.2.5 生根培养 芽条长至 2~3 cm 时,将高 2 cm 以上的芽苗由丛生芽上单个切下转至生根培养基上诱导生根,其余芽苗转至培养基上继续进行增殖培养。不同浓度 IBA 对金心也门铁组培苗生根的影响:以 1/2MS 为基本培养基,将继代培养长至 2.0 cm 以上的芽苗切下,接种在附加不同浓度 IBA 的培养基上进行生根培养。不同光照强度对组培苗生根的影响:将接种好的生根苗放置在不同的光照条件(用黑布覆盖进行全暗培养—暗培养、室内光线较弱的地方培养—弱光培养、靠窗光线较强的地方培养—较强光培养)下培养,并定期观察记录各种培养条件下小苗的生根情况。

1.2.6 移栽与管理 移栽时先将已生根的瓶苗取出,洗净基部的培养基后,移栽于消毒过、用育苗托装好的育苗基质上。每托移植约 100~120 株小苗,浇透定根水,保持一定的温度和湿度,并定期喷药进行防病处理。

2 结果与分析

2.1 2 种芽诱导方式比较

2.1.1 不同诱导方式所形成无菌芽的差异 用金心也门铁的腋芽和顶芽作为外植体诱导无菌芽时,在芽诱导培养基上培养 15 d 左右,顶芽或腋芽开始明显膨大生长,至 30 d 时腋芽已长成约 0.5 cm 的芽。用叶片做外植体诱导愈伤组织时,在培养基改良 MS+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.2 mg/L 或 1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.2 mg/L 上培养 50 d 左右,叶片切口部位开始膨大,继而形成愈伤组织。将较致密的愈伤组织切下(松散的去掉)接种在改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 2.0 mg/L+AD 2.0 mg/L

培养基上继续培养 30 d 左右才可逐步分化出不定芽。由此可见,用腋芽和顶芽直接诱导获得无菌芽的时间明显比用叶片诱导愈伤组织再分化芽所需的时间短。

2.1.2 不同诱导方式对金心也门铁组培苗变异的影响

为保持组培苗的优良性状,目前大多采用外植体直接诱导腋生丛生芽的途径^[3]。在金心也门铁组培快繁研究过程中,发现其组培苗比较容易发生变异,且芽的诱导和增殖方式与芽的变异率有很大的关系。从表 1 可以看出,采用以芽繁芽的诱导和增殖方式组培苗变异率低,采用诱导愈伤组织再分化芽的方式则组培苗的变异率高达 70%。因此,该试验选择用腋芽和顶芽直接诱导芽的方式进行工厂化苗木生产,有效保证金心也门铁的苗木品质。

表 1 2 种不同芽诱导方式比较

诱导方式	形成无菌芽的时间/d	获得的组培苗的变异率/%
用腋芽、顶芽直接诱导无菌芽	30	10~15
用叶片诱导愈伤组织再分化芽	80	70

2.2 不同浓度生长调节物质对芽诱导的效果

从表 2 可以看出,在用腋芽、顶芽直接诱导无菌芽时,不同浓度的 6-BA 与 IAA 组合对芽的诱导效果不同,在同一浓度的 IAA,随着 6-BA 浓度升高,芽的基部膨大程度越高,芽高生长较小,芽体越白,芽基部附近有明显小突起;在同一浓度的 6-BA 中,随着 IAA 浓度升高,芽纵向生长量较大,茎细。综合比较,最适宜的芽诱导培养基为改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L,在此培养基上诱导的腋芽粗壮,在萌发生长同时腋芽基部周围也出现小突起,培养时间延长小突起便长出不定芽点。

表 2 不同浓度的 6-BA 与 IAA 组合对芽诱导的效果

生长调节物质组合/mg·L ⁻¹		芽生长情况
6-BA	IAA	
1.0	0.2	芽短小、芽基部无明显突起
1.0	0.5	芽较粗壮、芽基部无明显突起
1.0	0.8	芽较细弱、芽基部无明显突起
2.0	0.2	芽短小、芽基部有明显小突起
2.0	0.5	芽较粗壮、芽基部有明显小突起
2.0	0.8	芽较细弱、芽基部有明显小突起
3.0	0.2	芽短小、芽基部膨大、有明显小突起
3.0	0.5	芽较粗壮、芽基部膨大、有明显小突起
3.0	0.8	芽较细弱、芽基部膨大、有明显小突起

2.3 不同培养基比对芽继代增殖的影响

由表 3 可知,在同一浓度水平(0.2 mg/L)生长素 NAA 中,6-BA 的浓度在 1.0~1.5 mg/L 均能分化出较多芽。腺嘌呤(AD)和活性炭(AC)对壮苗的促进作用较明显,在同一浓度的植物生长调节物质组合下,添加 2.0 mg/L 的腺嘌呤能明显提高幼苗的生长速率;同时添加 0.2% 的活性炭,能使芽苗更健壮挺拔,叶色更浓绿,若不

加活性炭,芽苗生长较慢且细弱,叶片舒展差。综合考虑,培养基中 6-BA 的浓度过高也会增加组培苗的变异率,因此选择最适宜的增殖培养基为改良 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+AD 2.0 mg/L+AC 0.2%,在该培养基下,分化芽多,增殖系数达 3.8,继代苗生长快、芽苗健壮、叶呈深绿色。

表 3 不同培养基配比对金心也门铁分化增殖生长的影响

激素及添加物组合				增殖系数	芽生长情况
6-BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	AD/mg · L ⁻¹	AC/%		
1.0	0.2	—	—	3.1	分化芽多、叶色绿、芽细弱
1.0	0.2	2.0	—	3.5	分化芽多、芽健壮、芽生长较快
1.0	0.2	2.0	0.2	3.8	分化芽多、芽健壮、叶色浓绿、芽生长快
1.5	0.2	—	—	3.2	分化芽多、叶色绿、芽细弱
1.5	0.2	2.0	—	3.5	分化芽多、芽健壮、芽生长较快
1.5	0.2	2.0	0.2	3.8	分化芽多、芽健壮、叶色浓绿、芽生长快

2.4 生根培养

2.4.1 不同浓度 IBA 对金心也门铁组培苗生根的影响

从表 4 可以看出,在相同培养条件下,IBA 浓度对金心也门铁组培苗的生根有明显的影 响。IBA 浓度为 0.5 mg/L 时,芽苗长出的根细长,生根率较低,平均出根数少,为 1~2 条;IBA 浓度为 1.0 mg/L 和 1.5 mg/L 时,芽苗长出的根粗短,出根率均达 90.0% 以上,平均出根数 3~5 条;而当 IBA 浓度提高到 2.0 mg/L 时,芽苗长出的根又变细长,出根率下降,平均出根数也少了。综合考虑,最适合金心也门铁组培苗生根的培养基为 1/2MS+IBA 1.0 mg/L,生根率达 92.0%,根系粗壮,平均出根 3~5 条。

表 4 不同浓度 IBA 对金心也门铁组培苗生根的影响

IBA 浓度/mg · L ⁻¹	生根率/%	平均出根数/条	备注
0.5	56.0	1~2	根细长
1.0	92.0	3~5	根较粗短
1.5	90.0	3~5	根较粗短
2.0	78.0	2~3	根细长

2.4.2 不同光照强度对组培苗生根的影响 从表 5 可以看出,在同样的 IBA 浓度的生根培养基下,生根培养的光照强度对金心也门铁组培苗生根有很大的影响。光照强度越高,小苗出根的时间越短,出根率越高;在 2 000~3 000 lx 的光照强度下培养 10 d 左右,小苗就开始出根,生根率达 92.0%,根粗壮,小苗叶色浓绿,节间逐渐伸长。

表 5 不同光照强度对金心也门铁组培苗生根的影响

光照强度 /lx	出根时间 /d	生根率 /%	小苗生长情况
0(暗培养)	28	18.0	根粗壮,小苗未见长高
200~500(弱光培养)	20	56.0	根粗壮,小苗略长高
2 000~3 000(较强光培养)	10	92.0	根粗壮,小苗明显长高,叶色较浓绿

2.5 移栽管理

组培苗移栽成活率的高低除了与生根苗的强壮程度有着密切的关系外,还与移栽的基质、环境温度及移栽后的栽培管理有关,其中基质的正确选择是组培苗

移栽成活的关键^[4]。该研究的基质采用纯泥炭土或 80% 泥炭土+20% 珍珠岩,移栽成活率达 98%。移栽前,基质用育苗托装好,喷晒多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍液进行消毒。移栽时,先将已生根的瓶苗取出,洗净基部的培养基后,移栽于装好基质的育苗托上,每托移植约 100~120 株小苗。移栽后,浇透定根水,覆盖黑网和薄膜遮荫保湿保温,温度控制在 18~20℃ 左右,相对湿度控制在 90% 左右,但每天早、中、晚要掀起薄膜通风 10 min,否则小苗容易腐烂。当幼苗长出新叶后可逐渐把黑网和薄膜去除,让其逐渐见光,降低湿度,直到暴露于温室内散射光条件下,之后开始进行常规管理。

3 结论与讨论

通过腋芽或顶芽直接诱导无菌芽,并采用以芽繁育方式进行增殖,该技术比通过愈伤组织获得无菌芽更快、更容易,而且能有效控制材料在继代增殖过程中出现变异,更好地保持了金心也门铁品种的优良遗传性状。而通过愈伤组织的方式培育的组培苗变异率达 70% 以上。通过对金心也门铁进行组培快繁技术研究,优化出适合金心也门铁分化芽和生长的培养基:最适宜的芽诱导培养基为改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L;最适宜的芽增殖培养基为改良 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+AD 2.0 mg/L+AC 0.2%,芽年繁殖系数达到 3.8 以上;最适宜的生根培养基为 1/2MS+IBA 1.0 mg/L。在不定芽的继代增殖阶段需要逐步降低培养基中植物生长调节物质的浓度,避免因过高浓度产生愈伤组织并促使愈伤组织分化芽而导致组培苗产生大量变异。光照强度对金心也门铁组培苗的生根有较显著的影响,适合金心也门铁组培苗生根的最佳光照强度为 2 000~3 000 lx,在此条件下培养 10 d 组培苗即可出根。

今后可继续加大金心也门铁不同部位外植体诱导无菌芽对组培苗变异率的影响研究,如通过不同的叶片部位(有金心部位和没有金心部位)来诱导,或者继续从移栽的金心也门铁组培苗中再选取性状优良的单株进行芽诱导,获得无菌材料,或期待能培育出新的品种,如全部金色叶的黄金铁等。以选育出更稳定的遗传基因资源,有效地保持金心也门铁种苗的优良品质。

藏药植物川西獐牙菜的快速繁殖技术研究

杨莉娜, 何涛, 王海涛

(青海大学 生态环境工程学院, 青海大学高原物种资源创新与利用国家重点实验室培育基地, 青海 西宁 810016)

摘 要:以川西獐牙菜的茎尖和茎节为外植体,研究了不同激素配比对其丛生芽诱导和生根培养的影响,以期建立川西獐牙菜快速繁殖技术。结果表明:茎尖为川西獐牙菜丛生芽诱导的适宜外植体;芽诱导的最适培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA,在该培养基上,丛生芽诱导率为 96.1%,且每个外植体平均产生 6.1 个丛生芽;最适生根培养基为 1/2MS+0.50 mg/L IAA,此时生根率可达 83.7%,且每个苗平均形成 11.4 条根。

关键词:川西獐牙菜;茎尖;茎节;快速繁殖

中图分类号:S 336 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)13-0141-05

川西獐牙菜(*Swertia mussotii* Franch)属龙胆科(Gentianaceae)獐牙菜属(*Swertia*)1 a 生草本植物,又名“藏茵陈”,在藏语中称斗达、蒂达。它主要分布于青海

省的称多、玉树、囊谦等青南地区以及西藏自治区的昌都和四川省的甘孜州,生长在海拔 3 200~4 400 m 的山坡、灌丛草地、林缘和河滩^[1]。其全草入药,具有清热解毒、舒肝利胆的功能,是治疗肝胆系统疾病的有效药物,为藏族民间常用单方上品草药^[2]。目前,该种已生产出片剂和针剂,用于临床,疗效显著。近年来,由于人类的过度采挖,加之种子萌发率低,川西獐牙菜的野生资源已处于衰退和灭绝的边缘境地。因此,致力于川西獐牙菜的野生抚育和人工栽培研究,对该物种的保护和利用显得尤为重要。

第一作者简介:杨莉娜(1985-),女,硕士研究生,研究方向为植物细胞工程。E-mail:yanglinaqhu521@126.com.

责任作者:何涛(1972-),男,博士,教授,研究方向为植物细胞工程。E-mail:hetaoxn@yahoo.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30960161);国家重点实验室培育基地开放课题资助项目(2011-02)。

收稿日期:2013-03-07

参考文献

- [1] 百度百科. 金心也门铁[EB/OL]. <http://baike.baidu.com/view/3959646.htm>, 2012-12-11.
- [2] 易清,何业华,刘颂颂,等. 3 个也门铁品种高效离体繁殖体系的建立[J]. 湖南农业大学学报, 2007, 33(4): 440-446.

- [3] 翟应昌,周志坚,龚峥,等. 林木组培工厂化育苗技术研究[J]. 广东林业科技, 1996, 12(4): 1-8.
- [4] 程家胜. 植物组织培养与工厂化育苗技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2003: 71.

Study on the Techniques of Industrialized Seedling Culture of *Dracaena arborea*

CHEN Li-wen, YANG Li-ping, RONG Yi, SHI Qun, HE Gui-zheng
(Qinzhou Forestry Science Research Institute, Qinzhou, Guangxi 535099)

Abstract: Taking the axillary buds, apical buds and leaves from *Dracaena arborea* as materials, the induction, propagation, rooting and transplanting of the seedlings were studied from the techniques of industrialized seedling culture of *Dracaena arborea*. The results showed that the suitable medium for adventitious bud induction was reform MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L, the suitable medium for bud proliferation was reform MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+AD 1.0 mg/L+AC 0.2%, the suitable medium for bud rooting was 1/2MS+IBA 1.0 mg/L. Induce adventitious bud with axillary buds or apical buds, and propagate by the way of bud proliferation could reduce the mutational rate of the *Dracaena arborea* in tissue culture. Light had obvious influence with the rooting of the *Dracaena arborea* tissue culture seedlings, the suitable light intensity was 2 000~3 000 lx, the seedlings would rooting in this condition for cultured 10 days.

Key words: *Dracaena arborea*; tissues culture; industrialized seedling culture