


牡丹离体快繁技术研究<sup>\*</sup>

孔祥生 张妙霞

(洛阳农业高等专科学校·河南洛阳)



第一作者简介: 孔祥生, 1955年生, 硕士, 副教授。现任河南省洛阳农业高等专科学校农学系植物生理学科组组长、生物技术研究室主任。曾主持和承担河南省科委和省教委的多项研究课题, 并取得5项研究成果, 在省级以上刊物上发表论文20多篇, 编写学术著作4部。

**摘要:** 以“洛阳红”和“姚黄”等品种为试材, 对牡丹的离体快繁技术进行了研究。结果表明: 牡丹芽培养的适宜外植体是2月份取材的休眠芽。附加  $BA 1mg \cdot L^{-1}$  和  $GA_0.5mg \cdot L^{-1}$  的改良MS培养基对牡丹芽的增殖和生长最有效。  $1/2MS + IBA 1mg \cdot L^{-1}$  培养基有利于牡丹试管苗生根。在较低温度下, 以腐殖土作基质, 牡丹试管苗的移栽成活率达48%。

**关键词:** 牡丹 离体快繁 增殖和生长 生根率

牡丹 (*Paeonia suffruticosa*) 系毛茛科、芍药属木本植物, 也是我国特有的名贵观赏、药用植物, 栽培历史悠久, 品种繁多, 花冠硕大, 花姿端丽, 色泽鲜艳, 气味芳香, 雍容华贵, 素有“花中之王”、“国色天香”之美誉。自唐代以来, 就深受国人喜爱。近年来, 在国花评比中, 牡丹又独占鳌头, 是首推候选国花之一。目前, 多数牡丹品种只能靠分株和嫁接繁殖, 繁殖率很低, 远不能满足社会的需要。用组织培养法繁殖牡丹, 是提高牡丹繁殖率的唯一途径。故此, 我们对牡丹的离体快繁技术进行了研究。

## 1 材料与方法

供试材料为牡丹名贵品种“姚黄”、“胭脂红”、“夜光白”和催花品种“洛阳红”(株龄6~7年), 由洛阳市牡丹研究所和王城公园提供。

所用外植体为休眠芽和萌生条两种。休眠芽分别于8月、11月和2月取材, 萌生条于3月初取材, 先用自来水将外植体表面冲洗干净, 再用70%乙醇消毒20s, 而后分别用5%安替福民浸20min和0.1% HgCl<sub>2</sub> (加1%吐温-20) 浸10min, 无菌水冲洗6次。休眠芽剥去外部芽鳞和鳞片, 切取5mm长的茎尖, 萌生条切取5~10mm长的顶端, 接种到附加有  $BA 1mg \cdot L^{-1}$  的MS和改良MS (MS的大量元素减半, 烟酸  $1mg \cdot L^{-1}$ , 维生素B<sub>1</sub>  $1mg \cdot L^{-1}$ , 维生素B<sub>5</sub>  $5mg \cdot L^{-1}$ ) 培养基中, 重复三次, 6周后, 比较不同培养基中外植体的生长分化状况。

以改良MS为基本培养基, 附加不同种类及浓度的生长调节剂, 将初代培养或继代培养产生的5~10mm的幼芽切割后接于各培养基中, 重复三次, 6周后, 统计增殖倍数和大于15mm能够作为生根用的新梢 (有效新梢) 百分率。以  $1/2MS$  为基本培养基, 附加不同种类、不同浓度的生长素类物质, 将大于15mm的新梢接在生根培养基中诱导生根, 重复三次, 3~4周后统计生根率和根条数。培养条件: 培养室温度为  $25 \pm 2^{\circ}C$ , 光照时间  $12h \cdot d^{-1}$ , 光强  $1500 \sim 2000LX$ 。

对已生根的小苗, 先将棉塞去掉, 在培养室中锻炼2~3d, 然后小心取出试管苗, 轻轻洗去根上附着的培养基, 移栽到以蛭石或腐殖土为基质的瓦盆中, 除温度处理外, 一般移栽温度为  $15 \sim 20^{\circ}C$ , 开始几天用塑料薄膜保湿, 以后逐渐除去, 基质用  $1/4MS$  无机盐营养液浇灌。

试验于1991~1996年在洛阳农专校内进行。

## 2 结果与分析

2.1 不同取样时期对牡丹芽培养的影响 由表1结果可以看出, 2月份取经过冬季低温发育的休眠芽作外植体进行培养, 不仅成活率和分化率高, 而且萌动早, 生长迅速, 植株健壮, 无畸形, 说明这时的休眠芽已经通过了休眠期, 芽内也积累有丰富的营养物质, 在适

\* 河南省科技攻关项目。

宜的条件下,很快就可萌芽分化,健壮生长。而 8月和 11月取的休眠芽,由于没有通过休眠期,芽内积累的营养物质也少,所以,萌芽缓慢,叶片微黄,生长瘦弱。3月取萌生条进行培养,污染和褐变死亡现象严重,成活

率很低,难以分化。因此,牡丹芽培养的适宜材料是休眠芽,休眠芽取材的最佳时间是 2月份,尤其是取休眠后期即将萌动的芽作为外植体最合适。

表 1 取材时期对牡丹芽培养的影响

取材时间	外植体类型	接种数	污染数	褐变数	成活率(%)	分化率(%)	外植体开始萌动时间(d)	新梢开始萌动时间(d)
8月	休眠芽	63	10	13	63.5	72.5	18	26
11月	休眠芽	65	11	9	69.2	82.2	10	17
2月	休眠芽	65	8	5	80.0	100	4	9
3月	萌发条	60	17	36	11.7	/	/	/

培养基:改良 MS+BA1mg·L<sup>-1</sup>;品种:洛阳红

2.2 基本培养基类型对牡丹休眠芽增殖和生长的影响 在所试的两种培养基上,不同品种的牡丹休眠芽(2月取材)均能增殖和生长,但分化率和增殖倍数不同,新梢的生长状况有差异,改良 MS培养基的效果优于 MS(表 2)。同时也可以看出,不同品种的外植体在相同的培养基上的表现也有差异,洛阳红和胭脂红的分化率、增殖倍数和有效新梢率均高于夜光白和姚黄。

表 2 不同培养基对牡丹休眠芽外植体增殖和生长的影响

基本培养基*	品 种	接种数*	分化率(%)	增殖倍数	有效新梢率(%)
改良 MS	洛阳红	45	100	4.6	47.1
	胭脂红	43	95.3	4.4	46.3
	夜光白	43	86.0	3.1	35.8
	姚 黄	40	80.0	2.7	30.4
	洛阳红	41	90.2	3.8	35.2
MS	胭脂红	44	88.6	3.5	35.0
	夜光白	42	78.6	2.6	28.3
	姚 黄	42	76.2	2.0	24.4

\* 两种培养基中均加入 BA1mg·L<sup>-1</sup> \*\* 接种数不包括污染死亡数

2.3 生长调节剂对牡丹芽增殖和生长的影响 试验结果(表 3)表明:第一在所试的两种细胞分裂素中,BA的效果优于 KT,BA1mg·L<sup>-1</sup>时洛阳红的分化率、增殖倍数和有效新梢率分别比 KT1mg·L<sup>-1</sup>时提高 47.7%、152.9%和 232.8%。第二在不同浓度的 BA中,BA2mg·L<sup>-1</sup>的增殖倍数高于 BA1mg·L<sup>-1</sup>,但苗小,生长较弱,在 BA1mg·L<sup>-1</sup>,苗大苗壮,有效新梢多。第三在 BA1mg·L<sup>-1</sup>中加入 NAA0.1mg·L<sup>-1</sup>或 IAA0.1mg·L<sup>-1</sup>后,可提高增殖倍数,但抑制了芽的生长,有效新梢下降。第四在 BA1mg·L<sup>-1</sup>中加入 GA0.5mg·L<sup>-1</sup>,不仅增殖倍数提高,而且芽丛健壮,有效新梢率增加。所以,改良 MS附加 BA1mg·L<sup>-1</sup>和 GA0.5mg·L<sup>-1</sup>是牡丹芽增殖和生长的最佳培养基。

比较表 2和表 3可以看出,同一牡丹品种的外植体在相同培养基上继代培养时,其增殖倍数和有效新

表 3 生长调节剂对牡丹芽增殖和生长的影响

品种	生长调节剂(mg·L <sup>-1</sup> )	接种数	分化率(%)	增殖倍数	有效新梢率(%)
洛阳红	BA1	36	94.4	4.3	44.6
	BA2	35	97.1	4.7	40.1
	KT1	36	63.9	1.7	13.4
	BA1+ IAA0.1	36	97.2	4.5	40.5
	BA1+ NAA0.1	37	97.3	4.6	41.0
	BA1+ GA0.5	35	94.3	4.5	48.3
	BA1	36	80.6	2.4	28.9
	BA2	36	83.3	2.8	26.3
姚黄	KT1	34	55.9	1.2	11.0
	BA1+ IAA0.1	35	82.9	2.7	26.8
	BA1+ NAA0.1	35	85.7	2.8	26.4
	BA1+ GA0.5	36	83.3	2.5	32.6

梢率均低于初次培养,这可能是由于继代苗的质量低于休眠芽外植体的缘故。

2.4 根的诱导 表 4结果表明:IBA促进生根的效果优于 IAA,用 IBA诱导生根,根部形成的愈伤组织少,生根数量多,生根率高。用 IAA诱导生根,生根率低,生根数量少,而且由愈伤组织分化形成的根比 IBA多,移栽时易断根,苗成活率低。在 IBA的不同浓度水平中,尤其以 IBA1mg·L<sup>-1</sup>时最好,其生根率和生根条数增多明显高于其他水平。

在同一激素水平的培养基中,不同牡丹品种生根率不同,这反映了不同品种分化根的难易。洛阳红在各个激素水平上生根率均高于姚黄,与分化培养基中的表现相同。

表 4 不同激素及浓度对牡丹试管苗生根的影响

激素(mg·L <sup>-1</sup> )	品 种					
	洛 阳 红			姚 黄		
	接种数	生根率(%)	生根条数	接种数	生根率(%)	生根条数
IAA0.5	36	69.4	2.6	37	62.2	1.7
IAA1.0	38	78.9	3.2	36	69.4	2.3
IAA2.0	36	72.2	2.8	36	63.9	1.9
IBA0.5	37	75.7	2.9	38	68.4	1.9
IBA1.0	35	85.7	3.6	36	77.8	2.7
IBA2.0	36	75.0	2.7	37	64.9	2.0

2.5 生根苗的移栽 移栽试验表明:较低温度有利于移栽成活,在 15~20℃条件下,以蛭石为移栽基质,其移栽成活率(36%)比 25~30℃条件下(8%)提高 3.5

倍。同时,试验还表明,在 15~ 20℃条件下,用腐殖土(经高压灭菌)作基质,其移栽成活率(48%)可比蛭石作基质提高 33%,并且,在腐殖土中,移栽苗的生长也比较健壮。

3 讨论

3.1 在植物组织培养中,选择外植体对离体快速繁殖是十分重要的,而外植体的取材时间是首先要考虑的因素<sup>[1]</sup>。本试验表明,不同时期取牡丹芽做外植体,在初次培养中差异很大,2月份取即将萌动的芽进行培养效果最好,11月和 8月份取休眠芽进行培养次之,而 3月份以萌生条作外植体效果最差,由于外植体太嫩,很难灭菌,不仅易污染,也极易褐变死亡,因而幼嫩的萌生条不宜作为牡丹离体繁殖的初代培养材料。从不同时间取材的休眠芽做外植体培养时从生长分化的时间来看,离体条件下芽休眠的长短和萌动时间与田间条件下十分相似,这一结果与 Altman 等人<sup>[2]</sup>在柑桔离体芽培养中的发现是一致的。

3.2 芽的增殖和生长受培养基中细胞分裂素和生长素含量的控制,马锋旺等<sup>[3]</sup>在研究苹果的离体繁殖中发现,细胞分裂素可促进芽的增殖,少量的生长素可促进芽的生长。本试验结果提示:单加 BA,即可促进牡丹芽的增殖和生长,加入少量的生长素后,虽然提高了增殖倍数,但刺激了愈伤组织的形成,不利于芽的生长,使有效新梢率降低,而加入 GA后,对牡丹芽的增殖和生长均有一定的促进作用,这可能是不同的植物对激素的反应不同所致。

3.3 不同牡丹品种离体繁殖中表现不同,其中以洛阳红、胭脂红最易分化,增殖和生根,而姚黄和夜光白的增殖系数小,生根率较低,这与其在常规繁殖中的难易程度是一致的。

参考文献

1. 陈正华. 1986,木本植物组织培养及其应用 高等教育出版社,北京,24~ 74  
2. Altman, A. and Goren, R 1974. Growth and dormancy cycles in Citrusbud cultures and their hormonal control. Physiol Plants, 30 240~ 245  
3. 马锋旺,王居仓,雍文. 1990,植物生长调节剂对‘长富一 2’苹果离体繁殖的效应 果树科学,7(4): 201~ 206

日白菜叶片水浸状,第三日开始萎蔫,第五日植株变黄褐焦枯,仅剩靠地面的底帮。按规定程序施药栽种的茄苗,无任何异常现象,生长后期植株均高于对照 15~ 20毫米,挂果正常。

3 讨论

3.1 试验表明,53%氯化苦乳剂 7~ 9kg/666.7m<sup>2</sup>,于土温 15℃以上,土壤含水量 50~ 60%,防治大棚茄子黄萎病药效明显,均超过 25%多菌灵可湿性粉剂 250倍液效果。

3.2 氯化苦用作土壤消毒剂,施药的塑料棚室不能有作物。按施药程序操作对茄子安全。

3.3 氯化苦有强烈的刺激作用,棚室施药时一定大通风,操作人员带防毒面具和橡皮手套,非操作人员不可靠近。闭棚时间内,严禁人畜等入内。

3.4 本试验原有施药后畦面覆盖地膜的处理,因故未取得结果,否则此项效果估计高于不覆盖地膜的效果,有待补作。另外,日本有氯化苦注射器,如用器械施药,技术可以简化和方便。  
(中国农科院蔬菜花卉所 北京 100081)

氯化苦防大棚茄子黄萎病

李宝栋 冯东昕

氯化苦(Chloropicrin)于 60年代初,试用防治棉花枯萎病和棉花黄萎病有效,至 70年代作为零星病田的铲除剂,在棉花上扩大试验,但终因施用技术的困难而未能推广。目前,日本由我国进口氯化苦,就是用于茄子黄萎病的防治,随茄子定植施药较为可行。本试验由大连染料厂提供 53%氯化苦乳剂,防治塑料大棚茄子黄萎病效果很好。

1 试验材料和方法

1.1 供试药剂和作物 53%氯化苦乳剂,每 666.7m<sup>2</sup>用 9kg 7kg 5kg 0kg(空白对照),25%多菌灵可湿性粉剂(对照药)250倍液。茄子品种七叶茄。

1.2 试验方法和小区布局 小区面积 14.4m<sup>2</sup>,每处理 4次重复,随机排列。土温回升至 15℃以上施药,施药前将土壤含水量调至 50~ 60%。按 4个处理折小区用药量分别为 0 63 86 112ml,兑 20kg水洒入定植沟内,对照药多菌灵洒药液 20kg,覆土踏实封闭大棚 10天。届时开棚按原定植沟破土,放除遗留残药 7天后,坐水定植。施药时带防毒面具和橡皮手套,棚内无作物,大通风。

2 试验结果

2.1 药效试验结果 试验地为北京近郊区八家大队多年栽培茄子的塑料大棚。地势较低,土壤稍有粘性,棚内温湿度适宜黄萎病,历年病情加重,致使改种其它作物。

氯化苦防治大棚茄子黄萎病效果表 1997年

处理	病株率%	病情指数	相对防效%	差异显著性	
				5%	1%
氯化苦 96kg/666.7m <sup>2</sup>	17.83	4.79	90.34	a	A
氯化苦 7kg/666.7m <sup>2</sup>	30.97	14.50	71.02	b	A
多菌灵 250倍液	56.31	14.91	71.02	b	A
氯化苦 5kg/666.7m <sup>2</sup>	75.86	32.22	34.07	c	B
空白对照	86.55	48.07			

试验棚内对照病情指数 48.07;25%多菌灵可湿性粉剂 250倍液,病情指数为 14.91,相对防效 68.89%。氯化苦施药量 9kg 7kg两个处理,病指分别为 4.79 14.50,防效超过对照药多菌灵,分别为 90.34%、71.02%。在重病田里低用量防效距离拉得较大,5kg处理防效仅 34.07%,其病指为 32.22。

2.2 对作物安全性观察 氯化苦具有很强的熏蒸作用,试验棚内四周,各留前茬 7叶期白菜 2行。施药次