

粉花绣线菊的组织培养与快繁技术

赵 冰, 张欣欣

(西北农林科技大学 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以粉花绣线菊的幼嫩茎段作为外植体进行离体组织培养,以 WPM 作为基本培养基,以 6-BA、NAA 及 IBA 的不同含量组合进行对比试验,通过对粉花绣线菊的初代、继代和壮苗生根培养基的筛选进行研究,建立了较为适宜的粉花绣线菊组织培养快繁体系。结果表明:初代的最佳培养基为 WPM+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;适宜的增殖培养基为 WPM+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;生根培养最佳培养基为 WPM+IBA 0.3 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

关键词:粉花绣线菊;茎段;WPM;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2010)13-0157-03

粉花绣线菊 (*Spiraea japonica*) 属蔷薇科绣线菊属落叶小灌木, 又称日本绣线菊, 花瓣粉红色至紫红色, 具有较高的观赏价值。绣线菊属植物抗逆性强、耐寒耐旱、栽培管理方便, 因此现广泛用于园林绿化中。目前粉花绣线菊繁殖多采用扦插或分株等方法, 受季节限制繁殖速度较慢, 不能满足当前大面积栽培及推广绣线菊优良品种的需要, 而用组培快繁方法可提高繁殖速度和繁殖率, 满足市场对苗木的需求。目前一些学者对绣线菊属植物如星花绣线菊^[1]、金叶绣线菊^[2]、李叶绣线菊^[3]、麻叶绣线菊^[4]、绣球绣线菊^[5]、粉花绣线菊^[6,7]的组培与快繁进行了研究, 但所使用的基本培养基均为 MS, 目前国内一些观赏木本植物如玫瑰^[8]、木槿^[9]、金银花^[10]等的组织培养也多使用 MS 作为基本培养基, 很少像国外那样采用木本植物的常用培养基 WPM 进行组织培养的探讨, 因此在该研究中采用 WPM 作为基本培养基对粉花绣线菊的组织培养和快速繁殖进行研究, 力求通过试验建立起更为高效快速的粉花绣线菊的组培快繁体系, 从而为绣线菊良种优化的快速繁殖、产业化生产及栽培奠定基础, 也为今后的引种栽培及应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

粉花绣线菊 (*Spiraea japonica*) 幼嫩茎段。2009 年 6 月于杨凌示范区西北农林科技大学南校区英语角附

近, 选取生长健壮、无病虫害、生长状况基本一致的粉花绣线菊幼嫩茎段为试材。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的处理 选取健壮植株的幼嫩茎段, 将叶子除去, 在清水下冲洗 2 h 左右。在超净工作台内进行材料灭菌消毒。首先用 70% 酒精浸 30 s 之后采用 0.1% HgCl₂ 进行 7 min 消毒处理, 然后用无菌水冲洗 3 次。将灭菌的粉花绣线菊嫩枝放在无菌纸上, 以无菌刀将其切成 1 cm 左右的带 2~3 个腋芽的茎段, 接种于初代培养基上。

1.2.2 初代诱导培养 初代培养基以 MS 和 WPM 为基本培养基。MS 培养基共设置 5 组进行对比, 分别为 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L、6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L、6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L、6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.15 mg/L、6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。WPM 培养基以 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 进行初代培养, 每种培养基设置 5 个重复, 每个培养基内接种 2~3 个外植体。30 d 后进行统计。

1.2.3 继代增殖培养 以 WPM 为基本培养基, 配方采用不同的激素配比: 培养基 A(6-BA 0.25 mg/L+NAA 0.1 mg/L)、培养基 B(6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L)、培养基 C(6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L) 3 种培养基进行增殖筛选, 每种培养基设置 4 个重复, 接种 30 d 后分别进行统计。

1.2.4 试管苗生根培养 以 WPM 为基本培养基, 配方采用不同的激素配比: IBA 0.3 mg/L+NAA 0.2 mg/L、IBA 0.3 mg/L+NAA 0.5 mg/L、IBA 0.3 mg/L+NAA 1.0 mg/L 3 种培养基进行壮苗生根培养, 每种培养基设置 4 个重复, 接种 12 d 后统计生根情况, 对生根的长度、生根的条数以及培养苗的高度进行统计。培养条件: 培养温

第一作者简介: 赵冰(1980-), 女, 河南驻马店人, 博士, 讲师, 现主要从事园林植物种质资源的教学和研究工作。E-mail: bingbing2003915@163.com。

基金项目: 西北农林科技大学人才引进科研启动基金资助项目(Z111020821)。

收稿日期: 2010-03-31

度(23 ± 2)°C, 每天光照 10 ~ 12 h, 光照强度为 1 000 ~ 1 500 lx。

2 结果与分析

2.1 初代培养

在初代培养基上进行带芽茎段的诱导培养, 30 d 后观察结果见表 1。从表 1 可以看出, 6 号 WPM + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 培养基对粉花绣线菊嫩茎的组织培养有良好的效果, 所用时间最少且效果最佳。1、2、3、4、5 培养基对粉花绣线菊幼嫩茎段的组织培养有一定的促进作用, 其中 3 号培养基的促进效果稍微明显, 并有展叶的趋向, 表明在以 MS 为基本培养基, 6-BA 浓度一定的情况下, NAA 的浓度以 0.1 mg/L 为最佳。另外 1 号培养基中的外植体萌动最晚, 长势最差, 表明在以 MS 为基本培养基, NAA 浓度一定的情况下, 6-BA 的浓度以 1.0 mg/L 为最差。从图 1 可以看出, 在同样的激素配比和培养天数下, 以 WPM 为基本培养基, 芽的诱导和分化情况远远好于以 MS 作为基本培养基, 这表明 WPM 培养基比 MS 培养基培养效果好。WPM 培养基在接种 4 d 后达到萌动并展叶, 大大提高了培养的速度, 是粉花绣线菊最适的初代培养基。继代培养前 6 号 WPM 培养基内的外植体已达 5 cm 左右, 长势良好。

表 1 粉花绣线菊初代培养基的筛选

培养基编号	基本培养基类型	6-BA / mg · L ⁻¹	NAA / mg · L ⁻¹	芽萌动状况	萌动时间 / d
1	MS	1.0	0.1	1 个有萌动现象	10
2	MS	1.5	0.1	1 个有萌动现象	8
3	MS	2.0	0.1	2 个有萌动现象并有展叶的趋向	6
4	MS	2.0	0.15	1 个有萌动现象	7
5	MS	2.0	0.2	1 个有萌动现象	8
6	WPM	2.0	0.1	4 个有萌动现象并展叶	4

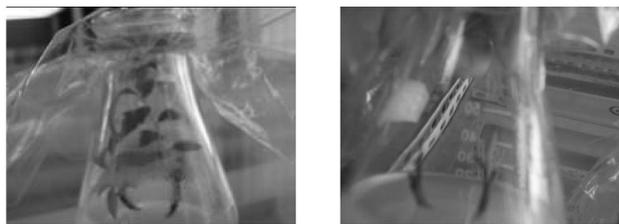


图 1 3 号和 6 号培养基上试管苗长势

2.2 继代增殖培养

将 2~3 cm 长的无菌芽从诱导成功的原茎段上切下, 再分别将其切成 1~2 cm 的带 1~2 个腋芽的茎段转入继代增殖培养基中进行培养, 30 d 后统计结果如表 2。从表 2 和图 2 中可以看出, A 培养基几乎没有增殖迹象表现, B、C 培养基表现出增殖迹象, 并在 C 培养基上粉花绣线菊长势最好, B 培养基虽然长势良好, 但有些只能形成愈伤组织并不生长, 不能达到增殖的目的。分析比较得出, C 培养基 WPM + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 为粉花绣线菊的最适增殖培养基。

表 2 粉花绣线菊继代增殖培养基筛选

培养基编号	6-BA / mg · L ⁻¹	NAA / mg · L ⁻¹	统计数据
A ₁	0.25	0.1	株高约 2 cm
A ₂	0.25	0.1	刚萌动 形成愈伤组织
A ₃	0.25	0.1	形成愈伤组织
A ₄	0.25	0.1	萌动, 形成愈伤组织
B ₁	0.5	0.1	1 株高约 2.5 cm, 另 1 株高约 1.5 cm
B ₂	0.5	0.1	2 株高均约 2 cm
B ₃	0.5	0.1	株高约 1 cm
B ₄	0.5	0.1	1 株高约 2.5 cm, 另 1 株形成愈伤组织
C ₁	1.0	0.1	株高约 6 cm
C ₂	1.0	0.1	1 株高约 6.5 cm, 另 1 株约为 1 cm
C ₃	1.0	0.1	株高约 2 cm
C ₄	1.0	0.1	株高约 4 cm



图 2 A₃、B₄、C₄ 培养基上试管苗长势

2.3 壮苗生根培养

将生长健壮、高 2~3 cm 的无根幼苗转入生根培养基中, 12 d 后统计结果如表 3。从表 3 可以看出, 3 种培养基 30 d 后茎均有生长, 且 3 种培养基中外植体均能生

根, 叶面积增大, 经观察比较, A 培养基 WPM + IBA 0.3 mg/L + NAA 0.2 mg/L 在壮苗同时可以达到较好的生根效果, 株高、生根条数、平均长度以及根的生长状况都有较优的表现(图 3)。

表3 粉花绣线菊试管苗生根培养基筛选

培养基编号	IBA/mg·L ⁻¹	NAA/mg·L ⁻¹	株高/cm	生根数目/条	根生长状况	根平均长/cm
A ₁	0.3	0.2	9.5 长势旺盛	≥40	根多分叉, 顶端有微黄色小突起	约2
A ₂	0.3	0.2	3.5	—	—	—
A ₃	0.3	0.2	4.5	2	根有分枝, 初为白色	1.5
A ₄	0.3	0.2	2.5 长势较旺	1	根有两个侧枝	1.0
B ₁	0.3	0.5	2.5 叶片微黄	5	其中1条根有分叉	1.0
B ₂	0.3	0.5	1.5 长势弱	1	根为白色	0.5
B ₃	0.3	0.5	1.0 有4片叶	—	—	—
B ₄	0.3	0.5	6.0 下部叶片发黄	5	根多分叉, 顶端有黄褐色突起	1.5
C ₁	0.3	1.0	4.0	—	—	—
C ₂	0.3	1.0	1.5 长势良好	—	—	—
C ₃	0.3	1.0	1.5 长势弱	—	—	—
C ₄	0.3	1.0	3.5 长势弱	8	3条根有分叉	1.0

图3 A₁、B₄、C₄培养基上试管苗长势

3 结论与讨论

在进行初代培养之前进行资料查阅, 大多数绣线菊的组织培养采用MS培养基, 一般用6-BA 2.0 mg/L和NAA 0.1 mg/L效果较好, 由于粉花绣线菊是木本植物, 所以进行初代培养时设置了一组WPM培养基, 激素配比使用MS的最适浓度。结果表明WPM的初代培养效果最好, 在很短的时间内即出现芽的分化和诱导。继代增殖培养和壮苗生根培养同样以WPM为基本培养基配以不同的激素配比进行培养。结果表明, WPM+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L继代增殖效果最好, WPM+IBA 0.3 mg/L+NAA 0.2 mg/L壮苗生根效果最好。该研究突破以前对绣线菊培养只采用MS做基本培养基的现状, 首次尝试用木本植物培养基WPM培养基进行粉花绣线菊的组织培养和快速繁殖的研究, 获得了很好的效果, 可以极大地缩短育苗周期, 为粉花绣线菊的规模化生产和遗传转化体系的迅速建立奠定了很好的基础。

参考文献

- [1] 胡益明 甘烦远, 彭丽萍, 等. 星花绣线菊的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004, 37(3): 235-236.
- [2] 张立磊 李保印, 郭巧玲. 彩叶植物金叶绣线菊组织培养研究[J]. 经济林研究, 2005, 23(1): 47-49.
- [3] 瞿素萍 李树发, 苏艳, 等. 李叶绣线菊叶片和叶柄再生体系的建立[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(4): 691.
- [4] 刘正兰 刘军, 冯秋平. 麻叶绣线菊的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(3): 526-528.
- [5] 季昆 武宇坤, 赵景峰, 等. 绣球绣线菊组培快繁体系的建立[J]. 南方农业, 2008, 2(1): 15-18.
- [6] 姚军 杨波. 红花绣线菊的组织培养和快速繁殖(简报)[J]. 亚热带植物科学, 2007, 36(1): 63.
- [7] 胡益明 甘烦远, 彭丽萍, 等. 药用植物粉花绣线菊的组织培养[J]. 中草药, 2001, 32(11): 1030-1033.
- [8] 田新华 张建瑛, 王艳敏, 等. 紫枝玫瑰的生物特性与组织培养研究[J]. 北方园艺, 2009(6): 48-50.
- [9] 璐淑明 徐德兰. 花木木槿的组培快繁技术[J]. 北方园艺, 2009(8): 119-120.
- [10] 赵贤慧. 红金银花组织培养试验研究[J]. 北方园艺, 2009(9): 71-73.

Tissue Culture and Rapid Regeneration of *Spiraea japonica*

ZHAO Bing ZHANG Xin-xin

(Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: A series of experiments on tissue culture and rapid propagation of *Spiraea japonica* were carried out using stem segments as explants, using WPM as basic culture medium, with different concentration combinations of 6-BA, NAA and IBA in order to screen out the best tissue culture medium for *Spiraea japonica*. The results showed that the optimal media for primary culture of *Spiraea japonica* were WPM medium added with 2.0 mg/L 6-BA and 0.1 mg/L NAA; and WPM added with 1.0 mg/L of 6-BA and 0.1 mg/L of NAA had the best effect in the successive culture stage; and the optimal medium for rooting was WPM medium with 0.3 mg/L IBA and 0.2 mg/L NAA.

Key words: *Spiraea japonica*; stem segments; WPM; tissue culture; rapid propagation