

‘凤丹白’成熟胚快繁及组培苗移栽驯化研究

刘磊¹, 计陈¹, 刘会超², 贾文庆²

(1. 信阳农业高等专科学校 园艺系, 河南 信阳 464000; 2. 河南科技学院 园林学院 河南 新乡 453003)

摘要:以牡丹品种‘凤丹白’为试材, 研究了不同激素组合和基本培养基对牡丹成熟胚快速成苗的影响, 同时对牡丹试管苗的移栽驯化进行探索。结果表明:‘凤丹白’成熟胚快繁的最佳培养基为:1/2MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L; 在组培苗移栽驯化过程中, 最适宜的基质配比为:腐殖土:洛阳园土=1:1, 幼苗成活率最高达到83%。

关键词:牡丹; 快繁; 驯化

中图分类号:S 685.11 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)12-0099-03

牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.)又名洛阳花, 为芍药科芍药属落叶亚灌木, 是原产我国的木本名贵花卉, 根皮是贵重的中药材, 有清热凉血、活血祛瘀等作用^[1]。牡丹种子繁殖存在很多问题, 如种子具有上胚轴休眠习性^[2-4]、名贵品种结实能力低、无性繁殖困难。组织培养是一项重要的生物技术, 对牡丹无性繁殖有着巨大潜力。牡丹试管苗的培养已有一些报道^[5-7], 但都没建立起高效的成苗体系, 该试验对牡丹成熟胚的快速繁殖和试管苗的移栽驯化进行了研究, 旨在为建立牡丹快速繁殖体系提供理论基础和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

‘凤丹白’种子采自河南省洛阳市国家牡丹基因库, 9月中旬采收, 室内阴干后贮藏备用。

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 选取经过低温层积(4℃)50 d的‘凤丹白’种子, 用流水冲洗干净, 800倍的多菌灵浸泡15 min后, 再用蒸馏水冲洗3次, 在室温下用蒸馏水浸泡3 d后置于接种室的超净工作台上, 用75%(v/v)乙醇消毒30 s, 无菌水冲洗1次, 再用0.1%(w/v)的HgCl₂浸泡10 min, 无菌水冲洗5~6次, 每次持续1 min。用解剖刀剥出胚接种在培养基上, 每个处理接种15瓶, 每瓶接种3个胚。

1.2.2 培养基和培养条件 选用MS、1/2MS+Ca²⁺、

1/2MS 3种基本培养基。附加物为: NAA(0.2~1.0 mg/L)、6-BA(1~2.0 mg/L), 蔗糖(30 g/L)和琼脂粉(5.2 g/L), pH 5.8(表1)。培养条件由人工气候箱调控:光强2 000 lx, 光照时间14 h/d, 培养温度(20±2)℃, 湿度(60±5)%。培养周期为35 d。

1.2.3 组培苗的移栽驯化 先将培养瓶的封口绳解去, 使封口膜松动, 便于瓶内外的气体交换, 2 d后, 完全去掉封口膜, 再开瓶练苗1 d后将苗取出, 在温水中洗去苗基部与根上的培养基, 然后将其放入干净的培养瓶中, 在培养室中放置3 h, 最后将苗移栽于含有不同基质的花盆中, 覆塑料薄膜保湿。移栽前基质全部经过高压灭菌, 移栽15 d后, 每周喷800倍多菌灵1次。温度(18±2)℃, 湿度85%。30 d时统计成活率。

1.2.4 数据统计与分析 数据统计时的计算方法如下:抽真叶率(%)=抽出真叶的胚数/该种培养基中接种胚的总数×100%;生根苗率(%)=生根的胚数/该种培养基中接种胚的总数×100%;侧根苗率(%)=产生侧根苗数/该种培养基中接种胚的总数×100%;根条数=该处理中所有的根条数/该种培养基中接种胚的总数;根长(cm)=该种培养基中幼苗根的总长度/该种培养基中接种胚的总数×100%;所得数据采用DPS统计软件(DPS 7.05 唐启义)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 不同处理对牡丹成熟胚成苗的影响

由表2可知, 9个处理中真叶抽生率普遍不高, 其中处理7和8中的幼苗真叶抽生率更低, 与处理4和9差异显著。处理9的真叶抽生率最高达54%, 幼苗真叶抽生多, 真叶较大(图1); 处理5的生根苗率最低, 仅77%, 与处理2、4、8之间差异显著; 在侧根抽生方面, 处理6的侧根苗率最高达68.9%(图2), 与处理1、3、7之间存在显著差异, 侧根数目的多少也将影响到试管

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

责任作者:刘会超(1964-), 男, 河南南阳人, 博士, 教授, 研究方向为观赏植物生物技术。E-mail: liuhc918@yahoo.com.cn.

基金项目:河南省创新人才工程资助项目(2005-126-49); 河南科技学院博士基金资助项目(050106)。

收稿日期:2011-04-01

苗的移栽成活, 在不受其它影响因素干扰下, 侧根越多, 试管苗越容易移栽成活; 处理 6 的幼苗根条数最多, 平均每棵幼苗有 4.6 条侧根, 与处理 1、3、4、5、7、9 之间有显著差异, 处理 1(图 3)、处理 3 和处理 5 的幼

苗中直根系居多; 在根的长度方面, 处理 6 和处理 2、4、8 的幼苗根较长, 平均在 5 cm 以上, 处理 1、3、5、7 的根较短。综合认为处理 6 为较好的成苗培养基。



图 1 幼苗抽出真叶



图 2 幼苗产生多条侧根



图 3 具直根系的幼苗

表 1 培养基成分的组成			
处理号	6-BA/ mg·L ⁻¹	NAA/ mg·L ⁻¹	基本培养基
1	1.0	0.2	MS
2	1.0	0.5	1/ 2MS
3	1.0	1.0	1/ 2MS+ Ca ²⁺
4	1.5	0.2	1/ 2MS+ Ca ²⁺
5	1.5	0.5	MS
6	1.5	1.0	1/ 2MS
7	2.0	0.2	1/ 2MS
8	2.0	0.5	1/ 2MS+ Ca ²⁺
9	2.0	1.0	MS

表 2 不同处理组合对种胚成苗的影响					
处理	真叶抽生率/ %	生根苗率/ %	侧根苗率/ %	根条数/ 条	根长/ cm
1	31. 7±16. 5abc	90. 5±18. 7ab	19. 0±13. 9c	1. 1±0. 4c	2. 7±1. 2bc
2	32. 4±2. 1abc	100±0a	53. 4±9. 9ab	3. 2±0. 6ab	6. 1±0. 1a
3	19. 4±9. 3bc	86. 1±4. 2ab	16. 7±6. 6c	0. 9±0. 1c	1. 4±0. 4c
4	45. 5±5. 0ab	100±0a	35. 3±5. 9bc	1. 8±1. 0bc	5. 2±1. 4a
5	26. 6±11. 0abc	77. 0±12. 9b	28. 5±2. 7bc	1. 2±0. 2c	1. 9±0. 4bc
6	20. 4±6. 1bc	95. 8±12. 0ab	68. 9±15. 1a	4. 6±0. 3a	6. 5±2. 1a
7	13. 2±5. 1c	81. 1±19. 8ab	20. 0±8. 6c	1. 8±0. 6bc	1. 7±0. 7bc
8	15. 0±16. 4c	100±0a	55. 6±13. 1ab	3. 2±0. 8ab	5. 7±0. 8a
9	54. 0±13. 0a	96. 3±11. 2ab	38. 1±13. 5abc	2. 1±0. 8bc	4. 4±2. 4ab

注: 小写字母表示 5%水平上差异显著 字母相同表示差异不显著. 下表同.

2.2 不同基质对试管苗成活率的影响

由表 3 可看出, 不同基质类型及配比显著影响牡丹试管苗的成活率. 在 J1 中牡丹幼苗成活率最高达 83%. J2 和 J3 之间, 牡丹试管苗的成活率无显著差异, J4 的移栽成活率最低, 仅 18%. J4 中幼苗芽顶端枯死较多, 原因是单一用腐殖土作为基质 太过疏松, 浇水时幼苗根部容易上浮, 导致根部失水, 死亡率升高.

表 3 不同基质对试管苗成活率的影响			
编号	基质	成活率/ %	生长情况
J1	腐殖土: 洛阳园土= 1: 1	83. 0±2. 3 a	叶色浓绿, 生长健壮
J2	腐殖土: 当地园土= 1: 1	63. 6±3. 6 b	叶色黄绿, 生长比较健壮
J3	当地园土	55. 6±3. 8 b	叶色黄绿, 叶缘少许干枯
J4	腐殖土	18. 0±1. 5 c	芽顶端枯死较多

3 结果与讨论

适合牡丹‘凤丹白’成熟胚快繁的最佳培养基为处理 6: 1/ 2MS+6-BA 1. 5 mg/ L+NAA 1. 0 mg/ L+蔗糖 30 g/ L+琼脂 5. 2 g/ L。处理 6 的试管苗, 在生根苗率、侧根苗率、根条数、根长方面, 均较高, 但其真叶抽生率较低, 试管苗的芽尖很早露出, 但是生长缓慢, 这是由于牡丹上胚轴休眠造成的, 故所得到的试管苗其真叶很短, 根系特别长, 建议在以后的培养过程中, 在成熟胚培养了 35 d 后, 再次进行转接时可以用一定浓度的赤霉素处理试管苗, 以打破牡丹上胚轴的休眠, 使它的真叶展出, 提高其光合能力.

在牡丹组培苗移栽驯化过程中, 最适宜的基质为: 腐殖土: 洛阳园土= 1: 1。在基质中配以适当比例的洛阳牡丹园中的园土可明显提高其成活率, 推测洛阳牡丹园中的园土可能含有更适合牡丹生长的生长因子^[8,9], 具体机制有待于进一步深入研究.

参考文献

[1] 王建国. 中国牡丹[M]. 北京: 中国林业出版社. 2001.
[2] 林松明, 徐迎春, 蔡志仁, 等. 打破凤丹种子上胚轴休眠的研究[J]. 江苏农业科学, 2006(1): 84-86.
[3] 范丙友, 高水平, 史国安, 等. 赤霉素和低温打破牡丹上胚轴休眠技术研究[J]. 种子, 2007, 26(3): 1-3.
[4] 郑相穆, 周际宝, 谷丽萍, 等. 凤丹种子的休眠和萌发特性[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(4): 260-262.
[5] 何桂梅, 成仿云, 李萍. 两种牡丹胚珠与幼胚离体培养的初步研究[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 185.
[6] 曾瑞香. 牡丹繁殖技术[J]. 北京林业大学学报, 2000 22(3): 90-95.
[7] 李艳敏. 几个牡丹品种组织培养技术的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2004.
[8] 康业斌, 商鸿生, 董苗菊. 凤丹与洛阳红根际微生物及其与根皮中丹皮酚含量的关系[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006 34(12): 159-162.
[9] 郭绍霞, 张玉刚, 李敏, 等. 我国洛阳与菏泽牡丹主栽园区 AM 真菌多样性研究[J]. 生物多样性, 2007, 15(4): 425-431.

玉露的组织培养与快速扩繁

陈红刚, 高素芳, 杨 韬

(甘肃中医学院 甘肃 兰州 730000)

摘 要:以玉露幼嫩花茎为外植体,诱导培养基 MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, 增殖培养基 MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L, 生根培养基 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L, 建立其组织快繁体系。

关键词:玉露;组培快繁

中图分类号:S 644.1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)12-0101-02

玉露 (*Haworthia cooperi* var. *pilifera* M. B. Bayer) 为百合科十二卷属多肉植物中的软叶系品种,植株初为单生,以后逐渐呈群生状。肉质叶排列成莲座状,两边围凸,叶色碧绿,顶端呈透明或半透明状,称为“窗”,表面有深色纵线条,顶端有细小的“须”。松散的总状花序,小花白色,有绿色纵条纹。用小盆栽种点缀案头书桌、窗台等处,清新典雅,如同有生命的工艺品,很有特色,是名贵的室内观赏花卉,具有良好的市场前景。玉露大多采用分株和种子繁殖,存在繁殖系数低,扩繁速度慢等问题,建立玉露组织培养与快速扩繁体系,对满足市场需求具有现实意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为玉露的幼嫩花茎。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌材料的获得 将选取的培养材料小心剥去苞叶,流水冲洗 2 h, 0.1% HgCl₂ 浸泡 8 min, 无菌水

冲洗 3~4 次, 75%酒精浸泡 3~5 s, 无菌水漂洗 3~5 次。将消毒后的材料置于无菌滤纸上, 剪切成 1 cm 左右的小段。

1.2.2 培养基的筛选 参照孙涛^[1]、杨伟敏等^[2] 同属植物的组织培养, 在多次预试验的基础上, 确定诱导培养基: MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L; 增殖培养基: MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L; 生根培养基: 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L, 以上培养基均添加 3%的蔗糖, 6%的琼脂, pH 5.8, 培养温度 (25±2) °C, 光照强度 2 000~3 000 lx, 光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 诱导分化

材料接入诱导培养基 15 d 后, 花茎开始膨大, 此后每隔 7 d 切割转接 1 次, 转接 3 次后, 形成蓬松且颜色较深的愈伤组织时, 转入增殖培养基。2.2 芽的增殖

增殖培养 15 d 后, 将形成的丛生芽进行切割, 每隔 15 d 转接 1 次, 重复转接 2~3 次, 增殖倍数可达到 5~10 倍, 增殖过程中部分芽会形成具有典型形态特征的成苗, 可直接进行瓶外生根, 其余较弱的无根苗, 转入生根培养基进行生根壮苗。

2.3 生根壮苗

生根壮苗过程中将光强增加到 3 000 lx, 有利于新

第一作者简介: 陈红刚(1982-), 男, 甘肃天水人, 本科, 实验师, 现主要从事植物组织培养研究工作。E-mail: yiao1102@sina.com。
责任作者: 杨韬(1977-), 男, 山东临沂人, 本科, 实验师, 现主要从事植物资源保护研究工作。E-mail: yangtao@gszy.edu.cn。
收稿日期: 2011-04-22

Study on Rapid Propagation of Peony Mature Embryo and Domestication of Tissue Culture Seedlings

LIU Lei¹, JI Chen¹, LIU Hui-chao², JIA Wen-qing²

(1. Department of Horticulture, Xinyang Agricultural College, Xinyang, Henan 464000; 2. College of Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang Henan 453003)

Abstract: Taking peony ‘Fengdanbai’ as test material, the effects of different hormone combination and basic medium on seedling establishment were studied, and domestication of tissue culture seedlings were explored. The results indicated that the best medium for rapid propagation of peony ‘Fengdanbai’ was 1/2MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L; Appropriate matrix for domestication was humus: ‘Luoyang’ soil=1:1. Plantlets survival rate reached 83% when transplanted on the mixture (humus 1:luoyang soil 1).

Key words: peony; rapid propagation; domestication