

夜香树的组织培养

王福喜

(包头师范学院 生物科学与技术学院,内蒙古 包头 014030)

摘要:文章研究了以夜香树的带芽茎段为外植体诱导丛生芽的过程,并筛选出其最佳分化增殖培养基为 MS+6-BA0.5mg/L+NAA0.1mg/L+蔗糖 3.0%+琼脂 0.6%。经过 28~42d 的培养,其增殖系数为 7.5;最佳生根培养基为 1/2MS+IBA0.3mg/L+蔗糖 0.15%+琼脂 0.6%,生根率为 100%,平均根数为 5.7 条。

关键词:夜香树;组织培养;快繁技术

中图分类号:S793 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-0907(2008)04-0064-02

夜香树又名洋素馨、夜来香、夜丁香,属于茄科夜香树属。常绿灌木,高 1~3m。枝条细长而稍弯垂。叶互生,长圆状披针形或狭长圆形,长 6~16cm,纸质,全缘,顶端渐尖,基部近圆形。花数多,排成疏散分枝的聚伞花序腋生或顶生;花冠高脚碟状,长约 2cm,绿色或黄绿色,檐部 5 浅裂,夜间极香,故名夜香树。浆果椭圆形,直径 5~7mm,熟时白色;具种子 1~6 粒(多数为 2~3 粒),长卵形或一侧压扁,直径 1~2mm,黑褐色。千粒重 6.45g。夜香树原产南美洲。我国福建和云南有栽培。性喜温暖气候,畏寒,喜光,在半阴处亦能适应;较粗生,在沙土上也能生长,但以疏松湿润的沙土壤或壤土生长良好。萌芽力强。花期 7~11 月,入夜散发浓郁香气;果期冬春季,种子 2~3 月成熟。夜来香枝条细长,夏秋开花,黄绿色花朵傍晚开放,飘出阵阵扑鼻浓香,在南方多用来布置庭院、窗前、塘边和亭畔。鉴于目前夜香树的扦插繁殖耗费大量的原始材料和时间,不适于规模化生产。组织培养技术的发展为植物的生长繁殖开辟了一条新的途径。培养路线:培养壮苗生根;放风锻炼幼苗;出瓶移栽。直接采用小拱棚大田一步移栽的方式,可获得性状优良的大量种苗。

1 材料和方法

1.1 材料

原始材料为植物光照实验室盆栽夜香树,选取生长发育良好的母株休眠芽枝段,剪成 5~6cm 茎段作为组织培养研究的外植体。

1.2 实验方法

基本培养基:实验采用 MS 培养基,其中附加不同细胞分裂素(6-BA)和生长素(NAA、IBA)。所有培养基中激素单位为 mg/L,pH 值 5.8~6.0,琼脂 0.6%。

外植体处理:将外植体用自来水冲洗 30min,然后在超净工作台上剪成 1.5~2.0cm 的带芽茎段,采用 2 次灭菌法,即先用 70%的酒精灭菌 3~4s,再用 0.1%升汞溶液消毒 8min,然后用无菌水冲洗 5 次,接种于诱导培养基上。

培养条件:培养室温度为 22±2℃。以日光灯为主光源。光照时间 14h/d,光照强度为 2500~3000lx。

最佳诱导和生根培养基的筛选:通过添加不同的生长调节物质(6-BA、NAA 和 IBA),丛生芽诱导处理见表 1,芽分化诱导处理见表 2。生根培养:从继代培养材料中选取 3.0~5.0cm 的有效芽苗,切成 1.0~1.5cm 的茎段。转入 1/2MS+1.5%蔗糖+0.6%琼脂为基本培养基,在附加不同浓度 IBA 情况下进行生根实验(表 3)。一定要去除基部的叶子,因为基部的叶子一经接触培养基就会逐渐变硬、拱起和蜷缩,且极易发根,从而影响正常生根和生长。比较其各阶段芽萌发、增殖系数、生根率等数据,筛选出最佳组合。

2 结果与分析

2.1 丛生芽诱导

这一阶段主要是诱导芽,在外植体初代培养 8~10d,部分外植体芽开始膨大,14d 后相继出现新芽;培养 24d 后新芽可长至 2.0~3.8cm,生长情况见表 1。

表 1 芽萌发诱导情况

处理	培养基(mg/L)	接种(个)	萌发(个)	生长量(cm)	萌发率(%)
I	无激素 MS	20	11	1.5	55
II	MS+6-BA0.5+NAA0.1	20	19	3.5	95
III	MS+6-BA1.0+NAA0.2	20	17	2.5	85
IV	1/2MS+6-BA0.3+NAA0.1	20	19	2.7	95

从表 1 可以看出,II、IV 这三个处理均有较高的出芽率,其中以处理 II 即 MS+6-BA0.5+NAA0.1 芽萌发情况最好,芽粗壮,叶大且舒展,平均伸长 3.5cm;处理 I 不添加生长调节物质,长势较整齐,但芽的萌发较慢,新芽叶片小且蜷缩,平均伸长 1.5cm;处理 III 芽萌发情况不好,玻璃化情况严重。处理 IV 芽萌发情况亦可,平均伸长 2.7cm,但叶片小,不舒展,长势较弱。因此,IV 虽有较高的出芽率,但新芽长势不好,不适宜作为继代材料使

用。处理 II 既有较高的出芽率且新芽长势又好,是较适宜的初代培养基。

2.2 芽分化诱导培养

芽分化增殖过程是夜香树离体快速繁殖培养过程中一个非常重要的环节。获得无菌材料后,是否能顺利进入快速增殖培养阶段,筛选出符合要求分化增殖培养基是此阶段的主要任务。对于离体快速繁殖最终是否能应用于生产时间,受两个关键因素

收稿日期:2008-06-14

作者简介:王福喜(1956-),男,山西定襄人,副教授,学士,主要从事生物、林业中草材研究。

制约:(1)芽的增殖率、芽的增殖速度是离体快速繁殖中的重要环节,直接关系到能否商业化生产;(2)有效芽所占比例,指可作为继代材料或生根材料的芽占全部芽的百分率。此时芽的质量决定了芽的利用率的高低,所以选择一个增殖率高且有效芽多的增殖培养基是离体快速繁殖的关键。

将第一阶段培养成功的芽切下,接种于分化增殖培养基上,培养基以 MS 为基本培养基,6-BA、IBA 分别设了 5 个梯度,共 50 个处理,培养 25d。对生长情况(表 2)分析可知,芽增殖用 6-BA0.5mg/L、IBA0.2mg/L 时,芽增殖倍数为 7.5,芽苗生长正常,节间略长,但有利于继代繁殖。所以确定选取增殖倍数在 5~6 的分化增殖培养基,既符合增殖效果又符合得到健壮有效苗双标准的处理为 6-BA0.4~0.5mg/L,IBA0.2~0.3mg/L。

表 2 不同浓度 6-BA、IBA 对夜香树增殖系数的影响

项目	IBA(mg/L)					
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	
6BA	0.1	3.8	4.1	4.0	3.4	3.6
(mg/L)	0.2	4.7	4.9	5.3	4.3	4.5
	0.3	5.3	5.8	5.8	5.4	5.7
	0.4	6.8	6.5	7.0	7.2	6.9
	0.5	7.2	7.5	7.1	6.9	7.2

2.3 生根培养

由表 3 分析可知,经过 30d 的生根培养,不同浓度 IBA 对夜香树生根率、生根数均有不同程度的影响,其中以 IBA0.3mg/L 时生根情况最好,生根率高,发根早。有 4~5 条侧生根。当 IBA0.5mg/L 时发现,有些根生长在植株基部愈伤组织上,根粗壮,侧根多,但从苗瓶中取出移栽时根容易脱落,成活率不高。实验还表明,夜香树生根快慢与生根质量不仅受培养基的影响,而且与生根材料的健壮程度与木质化程度有密切关系。粗壮、半木质化材料生根快,主根与侧生根发育好(表 3)。

表 3 不同浓度 IBA 对夜香树生根的影响

IBA(mg/L)	调查株数(株)	始生根(d)	生根株数(株)	生根总数(条)	生根率(%)
0.1	20	12	15	64	75
0.2	20	10	17	67	85
0.3	20	7	20	114	100
0.4	20	7	20	102	100
0.5	20	8	18	82	90

2.4 炼苗与移栽

夜香树试管苗在组培室内湿度比较恒定、无菌条件下产生出来的,因此,没有经过抗冷、抗热、抗旱或抗病等因素的炼苗,当移栽、种植到小棚或温室栽培后往往会受到各种不利因素的影响,所以,在种植后 7d 应及时喷洒杀菌剂,每隔 7~10d 喷 1 次。常用杀菌剂有多菌灵、瑞毒素、波尔多液,浓度掌握在 1000~1500 倍为宜。

生根培养 28d 后,当瓶内组培苗长到 5cm 左右时,将生根的瓶苗移入自然光下光培养 7d 后揭膜。为减少取苗时对根系的伤害,在拔苗前适当往瓶中加入一些自来水浸泡 1~2h,将苗拔出后用自来水冲去附着的根部的琼脂,移栽到用蒸汽消毒过的细煤渣或细沙中,成活率可达 92% 以上。在炼苗床上培养 15~

20d 移入大田或容器中。

3 苗期管理

移植后每天淋水两次,淋水时注意不要用胶管或喷枪直射、直淋,最好用喷雾方式淋水。因为试管苗幼小,直射、直淋都会造成植株歪斜。生长初期 7d 喷施氮肥两次,21d 后加少许磷、钾肥,混合施用。花后将枯枝和过密枝条剪除,对徒长进行截短处理。常见病害有轮纹病,可用 50% 甲基托布津可湿性粉剂 500 倍液喷洒。虫害有介壳虫和粉虱,用 50% 杀螟松乳油 1000 倍液喷洒。

4 结论

MS+6-BA0.5mg/L+NAA0.1mg/L+蔗糖 3.0%+琼脂 0.6% 是夜香树较为理想的诱导芽萌发的培养基;芽增殖培养基为 MS+6-BA0.5mg/L,IBA0.2mg/L+蔗糖 3%+琼脂 0.6%,继代培养 25d 增殖系数可达 7.5,且生长健壮。

在 1/2MS+IBA0.3mg/L+蔗糖 0.15%+琼脂 0.6% 的培养基上,夜香树生根效果较好,生根率达到 100%,平均根数为 5.7。

在夜香树移栽炼苗的过程中要严格控制空气相对湿度,实验过程中发现夜香树瓶苗极易失水皱缩,炼苗前 10d 空气相对湿度都应该保持在 80% 以上,最好是通过扣玻璃瓶或塑料薄膜来保持湿度。

夜香树的花香过于浓郁,近距离闻其香气易使人引起头晕或不舒服的感觉。故只可在公园或庭院的空旷处种植,且数量不宜过多过密。

5 讨论

在试管苗生根培养中,耗费了大量的时间和培养空间,而采用试管苗瓶外生根不仅可以减少一次无菌操作的步骤,提高了培养空间,又简化了组织培养程序,降低了生产成本,提高了繁殖系数,能进一步解决工厂化育苗的难题。因此是一项值得研究的技术之一。

参考文献:

- [1] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986.
- [2] 沈惠娟. 木本植物组织培养技术[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1992.
- [3] 曹改义, 刘国民. 实用植物组织培养技术[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996.
- [4] 赵志强, 李瑞英, 吴俊华, 等. 美女樱的组织培养技术研究[J]. 内蒙古农业科技, 2006, (3): 25-26.
- [5] 王 卉. 大花蕙兰的组织培养和快速繁殖技术研究[J]. 内蒙古农业科技, 2002, (增刊): 15-16.
- [6] 刘慧鑫, 闫致琛, 曹鑫昱, 等. 组织培养在三倍体毛白杨中的应用研究[J]. 内蒙古农业科技, 2004, (S2): 32.
- [7] 张权辉, 等. 矮牵牛的组织培养与快繁[J]. 内蒙古农业科技, 2001, (4): 5-6.
- [8] 黄学林. 高等植物组织离体培养的形态建成及其调控[M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [9] 郭连钢, 马润兰, 贺小勇. 柠条锦鸡儿 (*Caragana korshinskii*) 幼胚的组织培养和繁殖[J]. 内蒙古农业科技, 2007, (5): 46-47.

(责任编辑 敦惠霞)