

宿根福禄考组织培养快速繁殖技术

殷丽青¹, 黄卫昌², 胡永红², 罗 祺¹, 王新其¹

(1. 上海市农业科学院 林木果树研究所, 上海 201106; 2. 上海植物园, 上海 200231)

摘要:以宿根福禄考茎尖和茎节作外植体进行离体快速繁殖, 结果显示: 无菌芽诱导的适宜培养基为 MS + 1.0 mg·L⁻¹ BA + 3%糖 + 6.5 g·L⁻¹ 琼脂粉, 茎节在该培养基上无菌芽的诱导率为 87.9%; 丛芽增殖适宜培养基为 MS + 0.5 mg·L⁻¹ BA + 3%糖 + 6.5 g·L⁻¹ 琼脂粉, 增殖率为 6.8; 生根的适宜培养基为 1/2 MS + 0.3 mg·L⁻¹ IBA + 0.3 mg·L⁻¹ NAA + 2%糖 + 6.5 g·L⁻¹ 琼脂粉, 试管苗能在该培养基上分化出良好的根系, 生根率达 91.7%。

关键词:宿根福禄考(*Phlox paniculata*); 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S682.39

文献标识码: A

Rapid Propagation of *Phlox paniculata* by Tissue Culture

YIN Li-qing¹, HUANG Wei-chang², HU Yong-hong², LUO Qi¹, WANG Xin-qi¹

(1. Forestry and Pomology Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Science, Shanghai 201106, China;

2. Shanghai Botanical Garden, Shanghai 200231, China)

Abstract: Studies were carried out on in vitro rapid propagation of *Phlox paniculata*, using shoot tips and stem sections as explants. The results showed the optimal medium for inducing the stem sections was MS + 1.0 mg·L⁻¹ BA + 30 g·L⁻¹ Sugar + 6.5 g·L⁻¹ Agar, the inducing rate of stem sections was 87.9%, the optimal medium for propagation of clumpy buds was MS + 0.5 mg·L⁻¹ BA + 30 g·L⁻¹ Sugar + 6.5 g·L⁻¹ Agar, and the propagation coefficient was 6.8; the buds were cultured in 1/2 MS + 0.3 mg·L⁻¹ IBA + 0.3 mg·L⁻¹ NAA + 20 g·L⁻¹ Sugar + 6.5 g·L⁻¹ Agar for 35 days, and 91.7% of test_tube plantlets rooted well.

Key words: *Phlox paniculata*; tissue culture; rapid propagation

宿根福禄考(*Phlox paniculata*)又名锥花福禄考、天蓝绣球,草夹竹桃等,系花荵科(Polemoniaceae)福禄考属多年生草本植物,原产北美东部,上世纪70年代中期引入我国^[1],近年逐渐得到我国园林工作者重视。宿根福禄考花色鲜艳、花朵繁茂、耐寒性强,用于花境和花台观赏效果非常好,也可用于草坪缀花和地被观赏。该花曾获第三界花卉博览会铜奖,被誉为“园林”新秀^[2]。宿根福禄考自花和异花均可授粉,但由于其雌、雄蕊着生位置不一,成熟期也不一,故不易结籽^[3]。目前,生产上较多使用人工辅助授粉培育的宿根福禄考园艺品种^[4],后代性状不稳定。扦插育苗等无性繁殖方法可保持种苗的优良特性,张彦妮等研究了宿根福禄考扦插繁殖技

术^[5],由于受生长季节和繁育材料的限制,利用常规的方法扦插繁殖种苗,繁殖系数低,还容易出现带病等问题,无法满足生产和市场的需要,也大大制约了新品种的推广应用^[6]。

植物组织培养技术作为脱毒繁殖和规模扩繁的主要方法对新优花卉的发展具有重要意义^[7],可加快花卉种苗繁殖速度,生产出种性纯、品质好、产花量高的生产性用苗^[8]。有关宿根福禄考的组织培养有过一些报道,孙元峰等进行了叶片愈伤组织诱导与植株再生研究^[9],高丽霞等利用顶端嫩茎建立了复壮和快繁体系,认为采用瓶外生根移栽成活率高^[10],贾东坡等用根段进行培养并直接分化出芽获得植株^[11]。本文拟采用宿根福禄考茎尖和茎节为外植

收稿日期:2007-10-25

作者简介:殷丽青(1965-),女,上海市嘉定人,硕士,副研究员;黄卫昌为本文通讯作者;罗 祺系南京农业大学2008届园林植物与观赏园艺硕士研究生。

体,直接诱导无菌芽进行离体快速繁殖研究,旨在进一步完善和优化其微繁殖体系,缩短培养周期,为加速宿根福禄考新品种的繁育和利用进程提供理论依据和实用技术。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料宿根福禄考(*Phlox paniculata*)来自上海植物园,以健壮母株的幼嫩茎节段和茎尖作外植体。

1.2 方法

1.2.1 外植体的选择与消毒 选取当年生宿根福禄考健壮嫩枝,剪去部分叶片,取其顶芽和茎节段,用洗衣粉液摇晃清洗后,用流动自来水冲洗 30 min,然后采用 4 种处理方法对外植体进行消毒,比较不同处理对外植体生长和控制其污染的影响。

处理 1:75%乙醇处理 30 s 后用 10%市售次氯酸钠溶液灭菌 10 min;

处理 2:75%乙醇处理 30 s 后用 0.1% HgCl_2 灭菌 10 min;

处理 3:75%乙醇处理 30 s 后用饱和漂白粉上清液灭菌 20 min;

处理 4:75%乙醇处理 30 s 后用 0.1% HgCl_2 灭菌 7 min 后,再用饱和漂白粉上清液灭菌 8 min。

外植体灭菌完毕后用无菌水冲洗 4~5 次,接种前用无菌吸水纸吸干外植体表面的水分,剪去多余叶片,取茎节段和茎尖进行初代培养。

1.2.2 培养基与培养条件 以 MS 或 1/2 MS 为基本培养基,不同阶段添加不同种类和浓度的植物生长调节剂,诱导和增殖培养基添加蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,生根培养基中添加蔗糖 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,所有培养基均添加琼脂粉 $6.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,pH 为 5.8。培养温度 25°C 左右,光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$,光照强度 2000 lx 左右。

1.2.3 试管苗的出瓶与移栽 试管苗在生根培养基上生长 35 d 后,带瓶盖移至常温,在自然光下炼苗 5~7 d,然后打开瓶盖,继续炼苗 1~2 d 后出瓶,洗净其基部培养基后移栽,移栽试管苗的环境温度控制在 $25\sim 28^\circ\text{C}$,湿度为 70%~80%。

1.2.4 结果统计方法 外植体灭菌试验,10 d 后观察统计外植体的污染情况,30 d 后观察统计外植体的生长及成活情况;无菌芽诱导、丛芽增殖等试验分别于接种后 30 d 观察、统计结果;生根试验于接种后 35 d 观察、统计结果。

污染率为污染的外植体数占接种的外植体数的百分比;无菌芽诱导率为产生有效无菌芽的外植体数占接种的无污染外植体数的百分比;增殖系数为增殖的芽数与接种芽数的比值。

2 结果与分析

2.1 不同处理对外植体灭菌效果的影响

通过研究,比较了不同处理对外植体灭菌效果的影响(见表 1),结果显示,用处理 4 对外植体进行消毒获得了比较好的灭菌效果,不但未见外植体有明显的坏死现象,而且有效地控制了培养物的污染。综合分析试验结果,我们认为:用 75%乙醇处理 30 s 后用 0.1% HgCl_2 灭菌 7 min,再用饱和漂白粉上清液灭菌 8 min,对于以茎尖和茎节段作外植体进行宿根福禄考离体培养比较适宜。

试验中同时发现,相当一部分宿根福禄考外植体的污染是最先在其叶片着生处发生的。如果在消毒前,从叶基部把叶片剪掉,则在消毒过程中,消毒液会从伤口侵入而增加对外植体的伤害。为减少消毒液对外植体的伤害,又要尽可能地控制杂菌污染,因此,我们在材料消毒前应剪去叶片的上半部分而保留叶片基部,并用软刷清洗叶片着生处,而在材料接种前,再剪去叶片的剩余部分。

表 1 不同消毒方法对外植体灭菌效果比较

Table 1 Comparison of different sterile method on explant initiation

处理 Sterile method	外植体数 No. of explants	污染率/% Contamination rate	外植体反应 Explant initiation
1	30	100	消毒后外植体发黄变软
2	30	30.0	培养 3 d 后有较多外植体死亡
3	30	43.3	少数材料发白,有坏死现象
4	30	6.7	未见明显的坏死现象

2.2 无菌芽的诱导与增殖

2.2.1 无菌芽的诱导 将茎节段接种于初代培养基,结果显示(表 2),在适宜培养基上外植体培养 10 d 后,就有无菌芽逐渐形成。当培养基中 BA 为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,就有腋芽萌发,并能正常生长。当培养基中 BA 为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,无菌芽诱导率可达 87.9%,并有部分外植体直接形成丛芽,但当 BA 升高到 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,外植体形成大量无效的玻璃化芽,而生长正常的可利用无菌芽仅为 25.7%。在上述培养基中加入少量 NAA,结果外植体基部都不同程度形成愈伤

组织,具体表现为,0.5 mg·L⁻¹ BA + 0.1 mg·L⁻¹ NAA 的培养基上,外植体基部形成少量愈伤组织;1.0 mg·L⁻¹ BA + 0.2 mg·L⁻¹ NAA 的培养基上,外植体基部形成少量愈伤组织,形成的无菌苗偶有玻璃化现象;2.0 mg·L⁻¹ BA + 0.2 mg·L⁻¹ NAA 的培养基上,形成的无菌芽少而细弱,并有严重的玻璃化现象,同时外植体基部形成大量愈伤组织。随着培养时间的推移,少数愈伤组织分化不定芽,但玻璃化现象较严重。由此推断,在初代培养基中 BA 浓度不太高,且 NAA 不利于宿根福禄考无菌芽的诱导和生长。

以茎尖作外植体进行初代培养,结果对培养基的要求与茎节段相似,只是在适宜激素(BA 为 1.0 mg·L⁻¹)条件下,有较多外植体直接形成丛芽。综上所述,宿根福禄考无菌芽诱导的适宜培养基是:MS + BA 1.0 mg·L⁻¹ + 糖 3% + 琼脂粉 6.5 g·L⁻¹。

表 2 植物生长调节剂对宿根福禄考外植体诱导无菌芽的影响

Table 2 Effect of plant growth regulator on the inducing from the explant

生长调节剂 Plant growth regulator (mg·L ⁻¹)	外植体数 No. of explants	产生无菌芽的外 植体数 No. of explants to induct plantlets	无菌芽诱导率 Germination rate
BA 0.5	36	22	61.1
BA 0.5 + NAA 0.1	34	18	52.9
BA 1.0	33	29	87.9
BA 1.0 + NAA 0.2	34	18	52.9
BA 2.0	35	9	25.7
BA 2.0 + NAA 0.2	35	6	17.1

2.2.2 无菌系的增殖 将诱导培养基上获得的宿根福禄考无菌芽单个切下,接种于不同浓度 BA 的增殖培养基上,培养 1 周后,外植体的基部和叶腋处就开始形成无菌芽并迅速增殖生长,结果显示,低浓度的 BA (0.2 mg·L⁻¹)即能使宿根福禄考无菌芽大量增殖,30 d 的增殖系数达 3.1,适当提高 BA 浓度(0.5 mg·L⁻¹),增殖系数可达 6.8,将 BA 浓度提高到 1.0 mg·L⁻¹ 时,尽管无菌芽增殖迅速,但产生大量的玻璃苗,能用于继代培养或生根培养的有效芽不多,增殖系数为 2.7,当 BA 浓度达 2.0 mg·L⁻¹ 时,玻璃化现象严重,几乎没有可利用的有效无菌芽。试验结果表明(表 3),宿根福禄考无菌芽增殖的适宜培养基为 MS + BA 0.5 mg·L⁻¹。视培养物生长情况,一般每 25~30 d 即可切割培养 1 次,无菌芽不断切分继

代,即可使芽大量增殖(图 1-2)。在上述培养基上进行宿根福禄考的大量增殖培养过程中,偶尔也会发现玻璃苗现象,应及时降低培养基中激素浓度,或交替使用无激素的 MS 培养基,利用培养物体内激素,也可以达到增殖的目的。

表 3 植物生长调节剂浓度对宿根福禄考丛芽增殖的影响
Table 3 Effect of plant growth regulator concentration on the shoot multiplication

BA 浓度 BA concentration (mg·L ⁻¹)	增殖倍数 Multiplication rate	无菌系生长情况 Growth of shoots
BA 0.2	3.1	健壮
BA 0.5	6.8	健壮,偶有玻璃苗
BA 1.0	2.7	瘦弱,有玻璃化现象
BA 2.0	—	增殖迅速,玻璃化现象严重

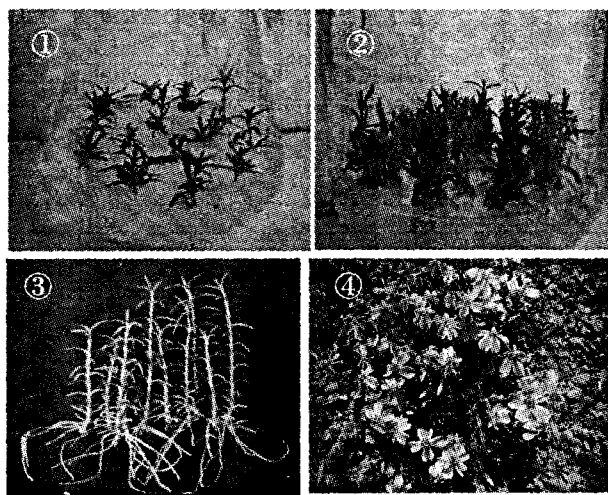


图 1 宿根福禄考离体快速繁殖过程

Fig. 1 In vitro rapid propagation of *Phlox paniculata*

1. 宿根福禄考无菌芽诱导培养 Buds inducing of *Phlox paniculata*
2. 宿根福禄考无菌芽增殖培养 Propagation of clumpy buds of *Phlox paniculata*
3. 宿根福禄考试管苗 Regenerated plantlets of *Phlox paniculata*
4. 盛开的宿根福禄考花 The blooming *Phlox paniculata*

2.3 试管苗的生根与移栽

将宿根福禄考丛芽切成 2 cm 左右的单芽,接种于含不同种类和浓度的生根培养基。结果显示(表 4),宿根福禄考无根苗能在不含生长素的 1/2 MS 培养基上生根,但生根效果较差,生根率低、根细弱,不易移栽成活。加入不同浓度的生长素均能促进其根系的生长发育(见表 3)。结果显示,IBA 与 NAA 联合使用诱导宿根福禄考试管苗生根具有良好的生根效果(图 1-3)。试管苗生根最佳培养基为 1/2 MS + IBA 0.3 mg·L⁻¹ + NAA 0.3 mg·L⁻¹,试管苗生根率达 91.7%。

表 4 生长调节剂对宿根福禄考试管苗生根的影响

Table 4 Effects of plant growth regulator on rooting of plantlets *Phlox paniculata*

生长调节剂 Plant growth regulator (mg·L ⁻¹)	接种苗数/株 No. of primary shoots	生根苗数/株 No. of rooting shoots	每株生根数 No of roots	生根率 Rate of rooting/%
无	48	11	1-2	22.9
NAA0.5	48	30	2-3	62.5
NAA1.0	48	17	1-3	35.4
IBA0.5	48	35	2-4	72.9
IBA1.0	48	23	2-4	47.9
NAA0.3+ IBA0.3	48	44	3-7	91.7
NAA0.5+ IBA0.5	48	41	3-7	85.4

3 讨论

利用组织培养技术快速繁殖花卉种苗,可通过脱分化先形成愈伤组织,再分化出不定芽;也可通过外植体直接分化无菌芽后进行增殖培养。本研究中,我们利用茎节、茎尖直接诱导无菌芽,即通过器官发生途径进行离体快速繁殖,而不通过愈伤组织阶段,大大缩短了培养周期,还可减少发生变异,对节约繁殖成本也有一定的积极意义。

对于接近基质容易污染的材料,一般在消毒前用流水冲洗。建德锋等在丛生福禄考组织培养试验中认为,将外植体放在自来水下冲洗 6 h 以上可获得较好效果^[10]。笔者在研究中发现,以宿根福禄考茎节和茎尖作外植体,冲洗时间不宜超过 1 h,否则大量水分渗入表皮组织,接种时无法吸干其内部水分很容易发生玻璃苗现象。

在宿根福禄考组织培养过程中还发现,一旦出

现玻璃化的材料就无法逆转,这类无菌芽生根困难,并容易发生变异。在宿根福禄考离体繁殖中,如果发现培养物有玻璃化现象,应分析是否培养基中激素浓度过高,或琼脂粉浓度过低,还要检查光照强度、光照时间是否适宜。及时将其余材料转接于低浓度激素或无激素的培养基中,并提高培养基的琼脂粉浓度,增加光照,可控制和减少玻璃化现象的发生。

参考文献:

- [1] 陈银芬,田 耘,徐庆林.宿根福禄考引种及繁殖试验[J].宁夏农学院学报,1999,20(5):57-61.
- [2] 周淑英,吴 波,王 力.宿根福禄考综合繁殖技术[J].防护林科技,2004(2):75-76.
- [3] 张金政,孙国峰,龙雅宜,等.宿根福禄考的系列新品种[J].园艺学报,2003,30(6):765-766.
- [4] 张彦妮,沈鸿渐,李瑞燕.宿根福禄考嫩枝的扦插繁殖[J].东北林业大学学报,2006,34(3):45-46.
- [5] 李红伟,张金政,张启翔.福禄考属植物及其主要栽培种的园艺学研究进展[J].园艺学报,2005,32(5):954-959.
- [6] 徐寿霞.组织培养在花卉产业中的应用前景[J].江西园艺,2003(1):36.
- [7] 孙元峰,李庆伟,申顺先,等.锥花福禄考叶片愈伤组织诱导与植株再生研究[J].中国农学通报,2005,21(12):208-210.
- [8] 高利霞,孔晓辉.锥花福禄考的组织培养与快速繁殖[J].中国农学通报,2005,21(12):314-315.
- [9] 贾东坡,李庆伟,冯林剑,等.锥花福禄考根段的组织培养[J].中国农学通报,2007,23(3):94-97.
- [10] 建德锋,于延申,辛丽红.丛生福禄考组织培养试验[J].吉林蔬菜,2004(1):33.