

牡丹组培快繁技术研究

李志军¹, 刘志国², 李红梅³

(1. 莱阳农学院, 青岛 266109; 2. 潍坊市农业科学院; 3. 胜利油田胜大集团园林公司)

摘要:以牡丹的当年生茎尖为外植体进行簇生芽诱导,对牡丹的快繁技术进行改良研究。结果表明,诱导簇生芽时,在 MS + 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.2mg/L + 200mg 水解乳蛋白培养基上的诱导效果较好,分化率达 100%;继代培养时,以 MS + 6-BA 1.0mg/L + KT 0.5mg/L + NAA 0.1mg/L + 200mg 水解乳蛋白培养基的增殖倍数最高,达 11.8 倍;再生苗在 1/2MS + NAA 0.1mg/L + 200mg 水解乳蛋白培养基上生长良好;在炼苗中,移栽基质以蛭石 + 草炭土较好,其有助于小苗的后期生长。

关键词:牡丹;组织培养;培养基;激素配比;炼苗

中图分类号:S723.1⁺32

文献标识码:A

牡丹传统的繁殖方法多采用播种、嫁接和分株方式,不仅成苗周期长,而且出苗量少,质量参差不齐,难以满足生产的需求。关于观赏植物牡丹的快繁技术研究多以生成愈伤组织为主,笔者曾经重复以上实验,发现以上操作存在操作复杂、繁殖系数较低、诱导芽生长较弱等缺陷。本研究以牡丹的当年生嫩枝茎尖为外植体,对牡丹的快繁技术培养基成分重新进行了研究,以克服以上缺陷,为牡丹种苗的工厂化生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

试验材料为采自莱阳农学院苗圃,品种为‘大胡红’,其生长良好,且无病虫害。

1.2 外植体的选用

试验采用牡丹茎尖为初始培养的外植体。

1.3 外植体的灭菌处理

灭菌流程为:洗衣粉液浸泡 20min→流水冲洗至清→剥去鳞片→体积分数 70% 酒精浸泡 30s→无菌水冲洗 1min→50g/L 次氯酸钠液浸泡 15min(或 25g/L 次氯酸钠溶液浸泡 25~30min)→无菌水漂洗 3 次(每次 1min)。

1.4 试验方法

1.4.1 不同激素对比对牡丹簇生芽分化的影响 基本培养基为 MS + 蔗糖 30g/L + 琼脂 6g/L + Vc 2.5g/L + 200mg 水解乳蛋白, pH 5.8, 其中再加入不同质量浓度的 6-BA(设 1.0, 2.0, 3.0, 4.0mg/L 4 个质量浓度梯度)和 NAA(设 0.0, 0.1, 0.2mg/L 3 个质量浓度梯度)作为簇生芽分化的培养基,然后将消毒处理后茎尖接种在诱导培养基上进行培养观察^[6,7]。

1.4.2 不同激素对比对牡丹再生嫩茎增殖的影响 基本培养基为 MS + 蔗糖 30g/L + 琼脂 8g/L + 200mg 水解乳蛋白, pH 5.8, 其中再加入不同质量浓度的 6-BA(0.0, 0.5, 1.0, 2.0mg/L), KT(0.0, 0.5, 1.0, 2.0mg/L)和 NAA(0.05, 0.10, 0.20mg/L)作为再生嫩茎增殖培养基;将初代培养所得的簇生嫩茎切成 1cm 长的小段,转入增殖培养基上培养,4 周后观

察,并统计结果。

1.4.3 不同生长素组合对牡丹生根的影响 以 pH 5.8 的 1/2MS + 蔗糖 30g/L + 琼脂 8g/L + 200mg 水解乳蛋白为基本培养基,其中再加入不同质量浓度的 NAA(0.05, 0.10, 0.20mg/L)和 IBA(0.0, 0.5, 1.0mg/L)作为生根培养基^[8];将继代培养所得的嫩芽切下转入生根培养基中培养,20d 后观察。

以上培养基均在 121℃ 条件下灭菌 20min。培养温度为 (20±2)℃,每日光照 14h,光照强度 2000lx。每个处理重复 5 次。

1.4.4 小苗移栽 当生根培养的小苗根长为 1.5~2.0cm 时,将其带瓶移入大棚炼苗 7d,移栽前 3d 用 50% 可湿性多菌灵 800 倍液喷浇灭菌,幼苗种植基质有蛭石 + 草炭土和泥炭 + 珍珠岩两种,每种基质中 2 种材料的体积比均为 1:1。每种基质栽植小苗 1000 株。

2 结果与分析

2.1 激素对比对牡丹簇生芽分化的影响

表 1 不同激素对比对牡丹簇生芽分化的影响

6-BA(mg·L ⁻¹)	NAA(mg·L ⁻¹)	接种块数	分化数	分化率(%)
1.0	0.0	30	18	60.00
1.0	0.1	30	15	50.00
1.0	0.2	30	20	66.67
2.0	0.0	30	27	90.00
2.0	0.1	30	26	86.67
2.0	0.2	30	30	100.00
3.0	0.0	30	24	80.00
3.0	0.1	30	23	76.67
3.0	0.2	30	16	53.33
4.0	0.0	30	8	26.67
4.0	0.1	30	6	20.00
4.0	0.2	30	3	10.00

试验发现,牡丹茎尖分化能力较强,培养 2 周后逐渐分化出幼芽,30d 后每节小段的簇生芽数为 4~6 个,长约 1.5~3.5cm。由表 1 可知,在 MS + 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.2mg/L 培养基中,簇生芽的分化数量最多,质量最好,分化率达 100%;

当培养基中 6-BA 的添加量为 2.0mg/L, NAA 为 0 时, 其分化率亦达 90%。但随 6-BA 和 NAA 添加量的增加, 分化率随之降低, 当 6-BA 为 4.0mg/L, NAA 为 0.2mg/L 时, 分化率降到最低, 仅为 10%。

2.2 不同激素对比对牡丹再生嫩茎增殖的影响

增殖培养结果因激素配比不同而异, 嫩茎增值倍数随细胞分裂素浓度的增加而提高, 以 MS + 6-BA1.0mg/L + KT0.5mg/L + NAA0.1mg/L 培养基的增殖倍数最高, 达到 11.8 倍, 且芽苗生长健壮(见表 2)。

表 2 不同激素培养基对牡丹再生嫩茎增殖的影响

6-BA (mg·L ⁻¹)	KT (mg·L ⁻¹)	NAA (mg·L ⁻¹)	接种块数	4 周后苗数	增值倍数
0.5	0	0.05	50	147	2.94
1	0	0.10	50	411	8.22
2.0	0	0.10	50	420	8.40
0	0.5	0.05	50	109	2.18
0	1.0	0.10	50	213	4.26
0	2.0	0.20	50	428	8.56
0.5	0.5	0.05	50	302	6.04
1.0	0.5	0.10	50	591	11.80
2.0	0.5	0.20	50	336	6.72
0.5	0.5	0.05	50	302	6.04
0.5	1.0	0.10	50	430	8.60
0	2.0	0.20	50	289	5.78
0.5	1.0	0.05	50	368	7.36
1.0	1.0	0.10	50	412	8.24
2.0	1.0	0.20	50	315	6.30
1.0	0.5	0.05	50	234	4.68
1.0	1.0	0.10	50	412	8.24
1.0	2.0	0.20	50	208	4.16
0.5	2.0	0.05	50	310	6.20
1.0	2.0	0.10	50	196	3.92
2.0	2.0	0.20	50	102	2.04
2.0	0.5	0.05	50	234	4.68
2.0	1.0	0.10	50	195	3.90
2.0	2.0	0.20	50	102	2.04

表 3 不同生长素组合对牡丹生根的影响

NAA (mg·L ⁻¹)	IBA (mg·L ⁻¹)	接种块数	平均生根块数	生根率 (%)
0	0	50	34.3	68.6
0	0.5	50	42.4	84.8
0	1.0	50	35.6	71.2
0.1	0	50	50.0	100.0
0.1	0.5	50	41.6	83.2
0.1	1.0	50	31.2	62.4
0.5	0	50	41.2	82.4
0.5	0.5	50	28.4	56.8
0.5	1.0	50	36.8	73.6
1.0	0	50	30.1	60.2
1.0	0.5	50	19.8	39.6
1.0	1.0	50	15.4	30.8

2.3 不同生长素组合对牡丹生根的影响

以 1/2MS + NAA0.1mg/L 培养基的生根效果最好, 见表 3, 每个嫩茎生根 3~5 条, 长约 2~3cm, 生根率达 100%。

2.4 两种基质对小苗移栽的影响

于生根小苗培养 15d 后, 对生长健壮的试管苗进行炼苗移栽。移栽后浇一次定根水, 以后保持基质见干见湿, 温度保持在 20℃ 左右, 初期适当遮荫。移栽后约 15d 的缓苗期过后, 植株发出新根开始正常生长。试验所用的 2 种混合基质对炼苗成活率的影响差异不显著, 但对小苗后期生长速率有影响。蛭石 + 草炭土和泥炭 + 珍珠岩的平均苗高分别为 18.4cm 和 11.5cm(30d 后)。由此可见, 蛭石 + 草炭土基质更适于小苗的生长。

3 结论

牡丹组织培养过程中, 6-BA 与 NAA 的浓度配对外植体的诱导具有显著影响。在分化培养阶段, MS + 6-BA2.0mg/L + NAA0.2mg/L + 200mg 水解乳蛋白对簇生芽的诱导效果较好, 分化率达 100%; 在继代增殖培养阶段, 以 MS + 6-BA1.0mg/L + KT0.5mg/L + NAA0.1mg/L + 200mg 水解乳蛋白增值倍数最高, 可达 11.8 倍。NAA 对牡丹芽分化的影响并不十分显著, 但对根的生长发育有显著影响, 再生嫩茎在 1/2MS + NAA0.1mg/L + 200mg 水解乳蛋白培养基上生长发育良好。再生后的完整植株苗形美观, 色泽深绿, 移栽后生长旺盛。在炼苗过程中, 选择蛭石 + 草炭土(体积比为 1:1)基质可加速其后期生长, 利于试管苗的成活及生长。

参考文献:

- [1] 陈俊愉, 程绪珂. 中国花经. 上海: 上海文化出版社, 1994.6
- [2] PARTANFN CR. Cytological behaviour of plant tissues in vitro as a reflection of potentialities in vivo[A]. WHIFF PR. Proc Int Conf Plant Tissue culture[C]. Berkeley: Cuthan Publ CO, 1965.1~9
- [3] DFMOSIF CF, PARTANFN CR. Effects of subculturing and physical condition of medium on the nuclear behavior of plant tissue culture[J]. Am J Bot, 1969, 56(2): 147~152
- [4] GILDOW FE, MITCHILL. JP. Initiation, growth and nuclear characteristics of tissue cultures of *Paeonia suffruticosa*[J]. Physiol Plant, 1977, (39): 295~298
- [5] 陈怡平, 丁兰, 赵敏桂等. 用紫斑牡丹不同外植体诱导愈伤组织的研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2001, 37(3): 66~69
- [6] 杨美纯, 周歧伟, 许鸿源等. 外部因子对蝴蝶兰叶片原球茎状体发生的影响[J]. 广西植物, 2000, 20(1): 42~46
- [7] 叶晓青, 许东, 魏书等. 不同激素水平对蝴蝶兰原球茎体增殖的影响[J]. 江苏林业科技, 2000, 27(9): 42~44
- [8] 张秀青, 王志武, 刘玉敬等. 蝴蝶兰实生苗不同器官的离体培养[J]. 植物学通报, 1996, 13(1): 50