

文章编号: 1001-3717(2006)02-0122-04

牡丹组织培养快繁新技术*

李志军¹, 王国栋², 辛淑亮¹, 陈坤军³

(1. 莱阳农学院园艺学院, 山东 青岛 266109; 2. 青岛市城阳区园林处; 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 - BA2.0mg/L + NAA0.2mg/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 - BA1.0mg/L + KT0.5mg/L + NAA0.1mg/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 + NAA0.1mg/L + 200mg 水解乳蛋白培养基上生根良好; 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; 快繁; 培养基; 激素; 炼苗

中图分类号: S685.11

文献标识码: A

The New Technology of Propagation in the Organization Cultivation of *Paeonia suffruticosa*

LI Zhi-jun, WANG Guo-dong, XIN Shu-liang, CHEN Kun-jun

(Horticultural School, LAC, Qingdao 266109, China)

Abstract: The improving research on the propagation technology of *Paeonia suffruticosa* is conducted by stimulating mass of new buds based on the newly tender shoot of *Paeonia suffruticosa* as cultivating plants. It shows that when the mass of the newly buds are stimulated, the inducing effects of basic medium MS + 6 - BA2.0mg/L + NAA 0.2 mg/L + 200mg are better and the differentiation rate is 100%. When the reproducing tender shoots are cultivated, the highest multiplication of shoots of basic medium MS + 6 - BA 1.0mg/L + KT0.5mg/L + NAA0.1mg/L + 200mg is 11.8. The shoots roots well on the basic medium 1/2MS + NAA0.1mg/L + 200mg. In domestication, it is better to use vermiculite and leaf mold for the growth of tender shoots in the transplanting soils.

Key words: *Paeonia suffruticosa*; propagation; basic medium; plant hormone; domestication

牡丹(*Paeonia suffruticosa*)居中国传统名花之首,品种多,花姿美,有“国色天香”、“花中之王”的美誉。长期以来,我国人民把牡丹作为幸福、美好、繁荣昌盛的象征,深受人们喜爱^[1]。

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。观赏牡丹的快繁技术研究多以生成愈伤组织为主^[2~5],但这些方法存在操作复杂、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,对牡丹的快繁培养基成分进行了优化,通过在培养基中加入附加物水解乳蛋白,同时调节不同激素浓度配比,克

服以上缺陷,以期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)

* 收稿日期: 2006-03-16

作者简介: 李志军(1961-),男,山东莱阳人,大学本科,农艺师,现主要从事绿化栽培与病虫害防治工作。

→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 不同激素配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 + Vc2.5g/L + 200mg 水解乳蛋白, pH5.8, 其中再加入不同质量浓度的 6-BA(设 1.0、2.0、3.0、4.0mg/L4 个质量浓度梯度)和 NAA(设 0、0.1、0.2mg/L3 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 不同激素配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, pH5.8, 其中再加入不同质量浓度的 6-BA(0、0.5、1.0、2.0mg/L), KT(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 pH5.8 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、0.5、1.0mg/L)作为生根培养基^[8];将继代培养所得的嫩茎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 激素配比对牡丹簇生芽分化的影响

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-BA2.0mg/L + NAA0.2mg/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%。

表 1 不同激素配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	30	18	60.00
1.0	0.1	30	15	50.00
1.0	0.2	30	20	66.67
2.0	0	30	27	90.00
2.0	0.1	30	26	86.67
2.0	0.2	30	30	100
3.0	0	30	24	80.00
3.0	0.1	30	23	76.67
3.0	0.2	30	16	53.33
4.0	0	30	8	26.67
4.0	0.1	30	6	20.00
4.0	0.2	30	3	10.00

根据表 2 计得 $\chi^2 = 221.37 > \chi^2_{0.01} = 16.81$, 证明 6-BA 和 NAA 的不同浓度对牡丹簇生芽分化有极显著地影响。

表 2 6-BA 和 NAA 对牡丹簇生芽分化的卡方检验

NAA (mg · L ⁻¹)	6-BA (mg · L ⁻¹)			合计
	0	0.1	0.2	
1	18	15	20	53
2	27	26	30	83
3	24	23	16	63
4	8	6	3	17
合计	77	70	69	216

2.2 不同激素配比对牡丹再生嫩茎增殖的影响

由表 3 可知,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 + NAA 0.1mg/L 培养基的增殖倍数最高,达到 11.8 倍,且芽苗生长健壮。

根据表 4 可以看出,6-BA、KT 和 NAA 的不同浓度对牡丹再生茎增值倍数的方差分析,各 F 值分别为 1.02、0.85 和 2.56,无显著影响。

表 3 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	增殖倍数
0.5	0	0.05	50	147	2.94
1.0	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 4 不同激素对牡丹再生茎增殖倍数的方差分析

激素	变异来源	平方和	自由度	方差	F 值	F _{0.05}	F _{0.01}
6-BA	水平间	19.06	3	6.35	1.02	3.10	4.94
	误差	125.06	20	6.25			
	总变异	144.11	23	6.27			
KT	水平间	16.30	3	5.43	0.85	3.10	4.94
	误差	127.81	20	6.39			
	总变异	144.11	23	6.27			
NAA	水平间	28.27	2	14.13	2.56	3.47	5.78
	误差	115.85	21	5.52			
	总变异	144.11	23	6.27			

2.3 不同生长素组合对牡丹生根的影响

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

表 5 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
0.1	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

根据表 6 计得 $\chi^2 = 2075.46 > \chi_{0.01}^2 = 16.81$, 证明 NAA 和 IBA 的不同浓度对牡丹生根块数有极显著地影响。

表 6 NAA 和 IBA 对牡丹生根块数的卡方检验

IBA (mg·L ⁻¹)	NAA (mg·L ⁻¹)			合计
	0	0.5	1	
0	34.3	42.4	35.6	112.3
0.1	50.0	41.6	31.2	122.8
0.5	41.2	28.4	36.8	106.4
1.0	30.1	19.8	15.4	65.3
合计	155.6	132.2	119.0	406.8

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 18.4 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 水解乳蛋白增殖倍数最高,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[M]. 上海:上海文化出版社,1994.
- [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] DFMOISF 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, MITCHFLL. 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态发生的影响[J]. 广西植物,2000,20(1):42-46.
- [7] 叶晓青,谢东,魏书,等. 不同激素水平对蝴蝶兰原球茎增殖的影响[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.

我校建筑工程学院成立暨建筑专业设置二十周年庆典隆重举行

2006年5月5日上午,建筑工程学院成立一周年暨建筑专业设置20周年庆典大会在我校信息工程楼报告厅隆重举行。应邀出席庆典活动的嘉宾有山东省建设厅、青岛市建委、青岛市建管局、中铁建工集团青岛工程有限公司、山东省华盛建筑设计院、山东省水利工程总公司、山东省水利工程局、山东大学土建与水利学院、山东科技大学土木建筑学院、山东农业大学水利土木学院、中国石油大学建筑工程学院、青岛建设集团、青岛理工大学土木工程学院等20多家单位的领导。学校领导及各部门、院(部)负责人、建筑专业校友、建工学院干部师生等共300多人参加了庆典大会。

校长李宝笃、山东省建设厅人事处处长耿庆海、中铁建工集团青岛工程有限公司党委书记王武成、建筑工程学院院长刘学兵分别在大会上讲话,校友代表、在校学生代表在大会上发言。山东省建设厅、青岛雁山房地产开发有限公司等单位发来了贺信。

李宝笃校长在讲话中代表校党委、校行政对建筑工程学院成立一周年暨建筑专业设置20周年表示祝贺,并向建筑工程学院全体师生提四点希望:一要更好地把握高等教育的发展规律,坚持正确的办学方向,树立科学的发展观、正确的人才观和质量观,注重提高教育教学质量,牢固确立教学中心地

位,科学规划好学院的发展目标、办学特色和办学措施;二要牢牢抓住学科建设这条主线,使学科水平和学科特色不断得到提升和强化;三要牢牢抓住学校以育人为中心这一根本任务,全心全意为师生服务,真正做到使学生成才,使家长放心,使社会满意;四是希望建工学子牢固树立“莱农发展、我在其中”的主人翁精神,勤奋学习、勇于创新、全面发展,将来为祖国和社会做出应有的贡献。

山东省建设厅的贺信中指出,莱阳农学院设置建筑专业20年来,始终坚持社会主义办学方向,认真贯彻党的教育方针,在开拓中不断创新,专业设置不断扩展,办学规模不断扩大,为社会各行业特别是为建筑系统输送了大量的优秀人才,为山东省乃至全国经济社会发展做出了突出贡献。建筑工程学院的成立顺应时代和社会发展的需要,是学校加快学科发展的要求,对于培育更多更优秀的专业人才,促进我省建设行业的发展,必将起到巨大的推进作用。贺信祝愿建筑工程学院紧紧抓住发展机遇,秉承莱阳农学院的优秀传统,勤奋严谨、求实创新,深入贯彻党的教育方针,大力实施“科教兴国”和“科教兴鲁”战略,进一步深化教学体制改革,努力加强师资队伍建设和为山东经济和社会发展输送更多的优秀人才,为祖国的繁荣昌盛做出更大的贡献。