

绣球绣线菊组培快繁体系的建立

季 昆, 武宇坤, 赵景峰, 郭启高*

(西南大学园艺园林学院, 重庆 400715)

摘 要: 本研究采取绣球绣线菊幼嫩茎段作为外植体, 进行离体组织培养, 获得了正常健康的再生植株。研究中通过对外植体灭菌时间的筛选, 以及对绣球绣线菊初代、继代和壮苗生根培养基的筛选进行研究, 建立了较为适宜的绣球绣线菊组织培养快繁体系。以0.1% HgCl_2 灭菌8 min可以达到较好的外植体灭菌效果。初代培养的最佳培养基为MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; 适宜的增殖培养基为MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; 适宜的壮苗生根组合培养基是1/2 MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.5 mg/L, 生根状况表现良好。
关键词: 绣球绣线菊; 茎段; 组织培养

绣球绣线菊 (*Spiraea blumei* G. Don.) 为蔷薇科、绣线菊亚科、绣线菊属的常绿灌木, 分布于北半球温带至亚热带山区^[1]。我国约有50种, 多数种类耐寒耐盐碱; 春季4、5月开花, 白色小花10~30朵或伞房花序, 开花形似绣球, 具有较高的观赏价值, 在园林造景方面应用十分广泛, 具有广阔的发展前景^[2, 3]。现在该品种在华北、华中等地均有分布, 生产中以扦插为主要繁殖方式, 也可以分株, 播种, 但繁殖速度慢, 不能满足当前大面积栽培及推广绣线菊优良品种的需要。中科院昆明植物研究所等单位先后报道过星花绣线菊、椭圆叶绣线菊、粉花绣线菊、非洲菊等变种的组培与快繁^[4-7], 但目前为止尚未有绣球绣线菊的相关研究, 为此, 本研究通过试验筛选初步建立了绣球绣线菊的组培快繁体系, 旨在为绣线菊良种优化的快速繁殖、产业化生产及栽培奠定基础, 也为今后的引种栽培及应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

作者简介: 季昆 (1983—), 女, 山西太原人, 西南大学园艺园林学院硕士, 主要从事果树胚胎发育研究。E-mail: jikun8762_cn@sina.com。

*为通讯作者。

2006年7月取材于西南大学园艺园林学院, 选取绣球绣线菊幼嫩茎段作为试材。

1.2 试验方法

试验采用对比设计, 通过对培养植物生长指标 (繁殖系数、生根率等) 的试验数据分析、外部形态观察, 筛选出最佳的外植体灭菌时间、初代诱导培养基、增殖培养基、生根培养基以及移栽的最佳方法。培养条件为培养温度 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$, 每天光照10~12 h, 光照强度1000~1500 lx。

1.2.1 初代培养

(1) 最佳消毒时间筛选。选择健壮无病的嫩枝, 软毛刷洗刷去表面污物, 并流水冲洗30 min左右, 在超净工作台内进行材料灭菌消毒。首先用70%酒精浸10 s, 之后采用消毒药剂0.1% HgCl_2 分别进行3 min、5 min、8 min、10 min消毒处理, 然后用无菌水冲洗5次。将灭菌的绣线菊嫩枝放在无菌纸上, 以无菌刀将其切成1 cm左右的带2~3个腋芽的茎段, 接种于初代培养基上。每个处理接30个外植体, 研究不同消毒时间对绣线菊幼茎的消毒效果, 接种14天后统计褐化率, 10天后统计污染数和存活数, 20天后统计无菌苗数。

(2) 初代培养基筛选。初代培养基以MS为基本培养基, 设置6-BA浓度分别为0.2、0.5、0.8、1.0、1.5 mg/L, IBA浓度分别为0.1、0.2、0.5、1.0 mg/L与NAA浓度分别为0.1、0.2、0.3、0.5、1.0 mg/L共计10个处理, 每个处理接30个外植体。30天后调查繁殖系数和嫩梢长度。

1.2.2 继代培养

以MS为基本培养基, 配方采用不同的激素配比: BA浓度分别为0.2、0.5、0.8、1.0 mg/L, NAA浓度分别为0.1、0.2、0.3 mg/L。组合得到12种培养基进行增殖筛选试验, 接种30天后统计增殖系数。

1.2.3 壮苗生根培养

以1/2MS作为基本培养基, 通过预备试验适当改进得到三种培养基配方进行壮苗生根培养, 即添加BA 0.3 mg/L, 并设置IBA浓度分别为0.1、0.2、0.5 mg/L。接种10天后统计生根情况, 对生根的长度、粗度及生根条数进行统计。

1.2.4 移栽

以生根的试管苗作移栽对象, 采用蛭石+珍珠岩+草炭(1:1:1)为基质进行绣球绣线菊生根苗的驯化移栽。在移栽前首先要进行炼苗, 揭开封口, 照光2~3天炼苗能促使试管苗尽快适应外界环境。观察生长情况并在20天后调查成活率。

2 结果与分析

2.1 初代培养

2.1.1 最佳消毒时间试验

材料先在70%酒精中浸10 s具有浸润和灭菌的双重作用, 可以使材料表面充分浸润, 从而使消毒剂易于渗入并均匀到达每一处并有效杀死微生物病菌, 此后配合使用0.1% HgCl₂可以达到较好的灭菌作用, 但残留的汞离子对植物有伤害, 一般用无菌水至少冲5次。材料消毒后, 将剪口与药剂接触的部分切去可以减轻药剂对植物组织的伤害, 从而利于提高初代培养的成活率。设置消毒药剂0.1% HgCl₂分别进行不同消毒时间处理后, 经初代培养后统计结果如表1所示。

从表1可以看出, 绣球绣线菊外植体经灭菌8 min, 7天后统计污染率3.3%、存活数29, 14天后统计褐变率6.6%, 20天后得到无菌苗数27株, 外植体褐化程度较低,

表1 0.1% HgCl₂不同消毒时间对绣球线菊外植体的消毒效果

消毒时间	接种数	污染数	污染率 (%)	褐变数	褐变率 (%)	无菌苗数
3 min	30	29	97.7	0	0	1
5 min	30	16	53.3	1	3.3	13
8 min	30	1	3.3	2	6.6	27
10 min	30	0	0	19	63.3	11

成活率高; 3~5 min 0.1% HgCl₂消毒的材料污染率较高, 消毒时间偏短, 不能彻底杀死外植体所带病菌; 10 min 0.1% HgCl₂处理的材料基本无污染, 但外植体褐化程度加大, 茎段死亡率高达63.3%。通过比较可以得出8 min 0.1% HgCl₂处理外植体具有较好的杀毒效果。

2.1.2 初代培养基的筛选

表2 绣球线菊外植体初代培养基的筛选

培养基 编号	6-BA (mg/L)	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	芽萌动 状况	萌动时间 (天)
A1	0.2		0.1	无萌动	
A2	0.5		0.2	无萌动	
A3	0.8		0.3	有萌动现象	10
A4	1.0		0.5	无萌动	
A5	1.5		1.0	无萌动	
A6	0.2	0.1		有萌动现象	6
A7	0.5	0.2		有萌动现象	8
A8	0.8	0.3		有萌动现象	5
A9	1.0	0.5		有萌动现象并展叶	3
A10	1.5	1.0		有萌动现象	7

从表2可以看出, A9号MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L培养基对绣线菊嫩茎的组织培养有良好的效果, 所用时间最少且效果最佳。A1、A2、A4、A5培养基对外植体腋芽的萌动没有明显的促进作用, 且接于A3号培养基的材料在接种10天后才表现出萌动迹象, 这表明, 从0.1~1.0 mg/L浓度梯度的NAA对于绣球绣线菊初代培养并未有明显的促进作用; 同时, A6~A10的培养基都表现较优, 表明6-BA具有较好地促进作用, 特别是A9号在接种3天后达到萌动并展叶, 大大提高了培养的速率, 是绣球绣线菊最适的初代培养基。

2.2 继代增殖培养

从表3中可以看出, M1、M2培养基几乎没有增殖

表3 绣球线菊外植体继代增殖培养基筛选

培养基 编号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	增殖 系数
M1	0.3	0.1	1.2gG
M2	0.3	0.2	1.1gG
M3	0.3	0.3	2.6fF
M4	0.5	0.1	5.0eE
M5	0.5	0.2	5.9dD
M6	0.5	0.3	5.0eE
M7	0.8	0.1	7.8bcBC
M8	0.8	0.2	7.5cC
M9	0.8	0.3	7.7cBC
M10	1.0	0.1	9.0aA
M11	1.0	0.2	8.3bAB
M12	1.0	0.3	8.3bAB

注: 大写字母表示1%差异水平, 小写字母表示5%差异水平。

迹象表现, M3、M4、M5、M6培养基表现出一定的增殖现象, 并在M7~M12的培养基上都表现出了较高的增殖系数; 当BA浓度达到1.0 mg/L时, 材料的增殖系数达到最高, 但植株生长细弱并出现一定的玻璃化现象, 部分植株出现畸形生长; M7、M8、M9培养基上材料的增殖系数在7.8左右, 植株生长旺盛, 畸形植株较少且未发现玻璃化现象, 但M8、M9培养基植株基部产生了较多的白色愈伤组织, 且增殖系数有所降低。分析比较得出, M7培养基MS + BA 0.8 mg/L + NAA 0.1 mg/L为绣球线菊的最适增殖培养基。

设计的12种增殖培养基中, M10的增殖系数与其相比具有显著差异; 而M11、M12、M7的增殖效果之间不存在显著性差异, 基本为同一水平; 同时M7、M8、M9之间也基本不存在差异性。

2.3 壮苗生根培养

采用1/2MS作为基本培养基进行壮苗培养, 三种激素配方培养30天后茎的生长均表现日益健壮, 叶面积增大, 经观察比较, R3培养基1/2 MS + BA 0.3mg/L + IBA 0.5 mg/L在壮苗同时可以达到较好的生根效果, 生根率可达87%, 生根条数、平均长度以及根的粗度都有较优的表现(表4)。

表4 绣球线菊外植体壮苗生根培养基筛选

培养基 编号	IBA (mg/L)	生根率 (%)	平均生根 条数(株)	根长度 (mm)	根粗度 (mm)
R1	0.1	85	3.5	28	0.5
R2	0.2	83	3.0	20	1.0
R3	0.5	87	5.0	30	1.5

3 讨论

3.1 初代培养

在茎尖培养和芽诱导时主要使用的是MS培养基配合一定浓度的激素, 李喻明^[1]等得出利用1/2 MS + BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L可获得金焰和金山绣线菊的茎尖培养和芽诱导最佳效果。本研究进行之前曾有预备试验进行了灭菌时间以及初代培养基筛选, 得到0.1% HgCl₂进行消毒处理8 min后接茎段于MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L培养基可以达到较好的诱导效果, 85%的芽萌发, 可以得到较高比率的无菌苗。

3.2 继代增殖培养

用芽增殖的方法而不过愈伤组织分化途径有利于保持遗传稳定性^[6]。而且以腋芽或不定芽增殖的植物, 在培养许多代后仍然保持着旺盛的增殖能力, 一般较少出现再生能力丧失问题。我国李明喻^[8]等得出利用1/2 MS + KT 0.2 mg/L + IBA 0.2 mg/L能促进金焰和金山绣线菊的有效生长。本研究进行了12种培养基配方的筛选, 其中M7号培养基MS + BA 0.8 mg/L + NAA 0.1 mg/L的增殖系数达7.8, 且植株生长健康, 可以在短期内达到较大的增殖群体, 大大节约了生产空间和劳动成本, 实用于推广工厂化生产, 具有一定的实际生产意义。

3.3 生根壮苗培养

不定根的形成是一个复杂的过程, 在根原基形成阶段, 生长素起着决定性的作用。本研究筛选出1/2 MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.5 mg/L为生根最佳组合, 生根率达87%。

3.4 移栽

组培苗的叶片小而且薄, 叶片角质层蜡质较少甚至没有, 且根系中几乎没有根毛、根系活力较低, 在驯化过程中随湿度降低, 角质层逐渐增加, 根毛才逐渐发生, 根系活力提高^[9]。试验证明, 试管苗移栽基质、环境湿度对成活率的影响最显著。提高移栽成活率, 对工厂化育

苗的推广具有重要的实际意义。

参考文献

- [1] 俞德浚. 中国植物志第36卷[M]. 北京: 科学出版社, 1974, 1 - 102
- [2] 高润清. 园林树木学[M]. 北京: 气象出版社, 2001, 3: 91 - 108
- [3] 陆玲娣. 中国绣线菊亚科的演化、分布, 兼述世界绣线菊亚科的分布[J]. 植物分类学报, 1996, 34(4): 361 - 375
- [4] 赵沛基. 椭圆叶绣线菊的组织培养. 植物生理学通讯, 2004, 40(1): 2
- [5] 胡益明, 甘烦远, 彭丽萍, 等. 星花绣线菊的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(3): 235 - 236
- [6] 张立磊, 李保印. 彩叶植物金叶绣线菊组织培养研究[J]. 经济林研究, 2005, 23(1): 47 - 49
- [7] 李瑜明, 那宁馨. 两种绣线菊的组培快繁技术[J]. 中国林副特产, 2005, 8: 15
- [8] 胡益明, 甘烦远, 彭丽萍, 等. 药用植物粉花绣线菊的组织培养[J]. 中草药, 2001, 32(11): 1030 - 1033
- [9] 宋锋惠, 史彦江, 卡德尔. 改进培养方法提高组培快繁技术的初探[J]. 经济林研究, 2003, 21(4): 57 - 59

2008年农业部将启动农产品质量安全保障行动

从2007年12月22-23日召开的全国农业工作会议上获悉, 农业部要求北京、河北、山东、河南等13个省(区、市)启动实施“保质量、保安全、助奥运—农产品质量安全保障行动”, 确保主要农产品质量安全、供应充足, 进一步提升全国农产品质量安全水平。目前, 筹备工作已全面展开。农业部副部长高鸿宾指出, 实施“农业部农产品质量安全保障行动”将强化四项工作: 一是强化产地准出和市场准入管理; 二是加强基地标准化建设; 三是摸清产销基本情况; 四是建立供求信息平台。高鸿宾副部长强调, 此次行动将以供应北京的农产品生产基地建设为重点, 从生产源头推进农业标准化, 从每个生产基地和生产环节开展检查、落实, 建立生产、流通、销售、消费等环节的全程追溯体系, 通力合作, 以探索我国农产品质量安全全程监管的有效模式。

(本刊辑)