

鄂报春的组培技术研究*

宋建英^{1,2}, 叶建仁^{1**}, 陈剑勇²

(1. 南京林业大学 森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037; 2. 福建林业职业技术学院 资源环境系, 福建 南平 353000)

摘要:采用鄂报春的嫩叶片进行诱导试验, 结果表明: 被诱导的鄂报春叶片先形成愈伤组织再形成芽; 诱导叶片分化的较理想培养基是: MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L, 其诱导分化率可达 42.11%; 较理想的继代增殖培养基是: MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L, 其有效芽分化系数为 4.27, 平均苗高为 1.5 cm; 较理想的生根培养基为 MS 基本培养基, 平均根条数为 8.6 条, 平均根长为 3.5 cm, 平均苗高为 5.0 cm, 根粗壮, 有利于移栽; 采用培养料体积比为 7:3 混合的新鲜河泥和珍珠岩移栽鄂报春, 成活率可达 98.1%。

关键词:鄂报春; 培养基; 继代繁殖; 生根

中图分类号: S723.132

文献标识码: A

文章编号: 1003 - 7179(2007)02 - 0053 - 04

鄂报春 (*Primula obconica* Hance) 为报春花科报春花属植物, 原产湖北宜昌、湖南、江西、广西、广东、贵州、云南及西藏山南等地。叶椭圆至长圆形, 叶缘有浅波状裂或缺刻, 叶面光滑, 叶背密生白色柔腺毛。伞形花序常着花 1 轮, 具花 10 ~ 15 朵, 花萼高达 30 cm; 原种花小, 淡紫至玫瑰紫色, 喉部黄色; 花径约 2.5 cm, 花冠漏斗型, 于 1880 年在宜昌发现引入西欧, 现代品种花型变大^[1-3]。本试验所用品种为紫色花, 花径约 5 cm, 为冷室冬季早春盆花, 在福建花期为 1 ~ 6 月。由于该品种花期长, 叶型美丽, 深受人们喜爱, 但由于自然界中, 该花所结种子粒小而瘪, 无法进行正常的播种育苗。目前, 各地均采用分株方法进行报春花的栽培。这种方法限制了该花的大面积种植。而采用组培的方法是使其快速繁殖、实现工厂化生产的最佳路线。

1 材料与方 法

1.1 材料来源

试验所用鄂报春种源来自厦门万石植物园。先把引种的鄂报春小苗种在花盆中, 让其生长 90 天左右, 再取其嫩心叶作为外植体材料。

1.2 材料处理与培养基准备

1.2.1 外植体的处理 取报春花的心叶作以

下处理: (1) 将嫩叶的叶柄去除; (2) 将叶片放入洗衣粉溶液中浸泡 3 min, 再用流水冲洗 6 min; (3) 在超净工作台上将叶片用 70% 酒精浸泡 30 s, 捞出用无菌水冲洗 1 遍, 再放入 0.1% 升汞水中浸泡 15 min, 捞出用无菌水冲洗 5 遍; (4) 将嫩叶用无菌滤纸吸干, 切成 0.5 cm × 0.5 cm 的小片备用。

1.2.2 培养基的准备 根据不同要求制备下列不同培养基: (1) 诱导培养基: 以 MS 为基本培养基^[4-8], 6 - BA 取 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/L 4 种浓度水平, NAA 取 0.01, 0.10, 0.50, 1.00 等 4 种浓度水平, 以正交试验法组成 16 种配方。以不添加任何激素的 MS 培养基为对照; (2) 继代培养基: 以 MS 为基本培养基, 外加 6 - BA 浓度为 0.1, 0.5, 1.0 mg/L 及 NAA 浓度为 0, 0.01, 0.05 mg/L, 以正交试验组成 9 种培养基配方。以不加任何激素的 MS 培养基作为对照; (3) 生根培养基: 以 1/2MS 和 MS 作为基本培养基, 外加浓度为 0.01, 0.05, 0.10 mg/L 的 NAA 溶液, 组成 6 种培养基配方, 并以不加任何激素的 1/2MS 和 MS 基本培养基作为对照。以上 8 种培养基中均加入 0.5% 的活性炭。

上述各配方的培养基中, 卡拉胶含量为 7 g/L, 蔗糖为 30 g/L。

1.3 培养方法

将处理好的外植体接种在上述不同培养基

* 收稿日期: 2006 - 10 - 16 ** 为通讯作者

基金项目: 福建省林业厅科技推广项目 [1998 ~ 2002 年第一期林木种苗工程重点项目 3(4)] 资助。

作者简介: 宋建英 (1954 -) 女, 福建莆田人, 副教授, 博士生, 主要从事植物生物技术研究。

上,置于25℃恒温、光照2000 lx、12 h/d条件下进行培养。

2 结果分析

2.1 不同激素浓度对鄂报春叶片诱导分化的影响

鄂报春的叶片接种到以正交试验法组成的16种配方的诱导培养基上培养。接种6天后,在部分不同配方的培养基上,鄂报春的嫩叶切片边缘产生膨大、卷曲状的愈伤组织,叶色转浓绿色。接种15天后,在愈伤组织上出现颗粒状的突起,即鄂报春的芽点。接种45天后,这些芽点分化成芽。鄂报春嫩叶切片在不同培养基上诱导分化的情况(见表1)。

表1 在不同培养基上鄂报春叶片诱导情况

序号	6-BA /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	接种数量 /瓶	无污染、无 干枯数量/瓶	诱导分化 数量/瓶	诱导分 化率/%
1	0.50	0.01	50	20	0	0.00
2	0.50	0.10	50	16	0	0.00
3	0.50	0.50	50	14	1	7.14
4	0.50	1.00	50	25	1	4.00
5	1.00	0.01	50	22	3	13.63
6	1.00	0.10	50	12	1	8.33
7	1.00	0.50	50	28	3	10.71
8	1.00	1.00	50	21	5	23.81
9	2.00	0.01	50	16	4	25.00
10	2.00	0.10	50	23	6	26.09
11	2.00	0.50	50	26	8	30.77
12	2.00	1.00	50	19	8	42.11
13	4.00	0.01	50	15	4	26.67
14	4.00	0.10	50	24	6	25.00
15	4.00	0.50	50	18	3	16.67
16	4.00	1.00	50	11	2	18.18

从表1可见:随6-BA浓度的增高,鄂报春叶片诱导率有明显增加的趋势,当6-BA浓度达到2.00 mg/L时,NAA浓度为1.00 mg/L时,诱导率达到最高,为42.11%。因此,从选用的16种鄂报春叶片诱导培养基配方诱导结果来分析,鄂报春叶片的最佳诱导培养基配方为MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L。

2.2 不同浓度激素对鄂报春继代增殖培养的影响

将诱导45天的外植体在超净工作台上取出,切下诱导出的芽,接种到以正交试验组成的9种配方继代培养基上,原嫩叶切片如无诱导出芽的部分即切除弃去。每种配方的培养基接种50瓶,每瓶接5小丛芽。培养20天后观察统计其继代生长情况,结果见表2。

从表2可见:在作为对照的MS基本培养基上,鄂报春不但可以继代增殖,而且芽可以形成大量的根,平均苗高达到3.5 cm。如果组织培养的目的

只是进行试验或只要提供少量的苗,采用MS基本培养基,即可一次性培养出根芽齐全的鄂报春苗。但如果是要实现工厂化生产,则应在快速繁殖基础上,使鄂报春增殖到一定的数量,再让其生根。从表2还可看出:在6-BA浓度为0.1 mg/L、添加或不添加NAA的MS培养基上,部分鄂报春的芽均能形成根芽齐全的苗。而随6-BA浓度增高到0.5 mg/L及以上时,鄂报春的平均有效芽分化系数逐渐增高,但限制了根的生长。在6-BA浓度达到1.0 mg/L的MS培养基上,平均有效芽分化系数达到5.45,为最高,但平均苗高仅为1.0 cm,这种高度的苗用来生根,不利于移栽。而在MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L上诱导,在细胞分裂素和生长素的共同作用下,虽然鄂报春的平均有效芽分化系数为4.27,比MS+6-BA 1.0 mg/L培养基上培养的鄂报春平均有效芽分化系数(5.45)低了1.18,但苗却长高了0.5 cm,为1.5 cm,且芽的长势正常,有利于生根和移栽。因此,本实验室采用MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L来继代增殖鄂报春,效果良好。

表2 不同浓度激素对鄂报春继代增殖的影响

序号	6-BA /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	平均有效芽 分化系数	平均苗高 /cm	生长状况
0	0.0	0.00	1.65	3.5	形成大量根,叶墨绿,大,苗健壮
1	0.1	0.00	3.13	2.5	部分芽形成根,叶墨绿,苗健壮
2	0.1	0.01	3.13	2.0	部分芽形成根,苗健壮,叶绿色
3	0.1	0.05	2.71	2.5	部分芽形成根,苗健壮,叶绿色
4	0.5	0.00	3.26	1.5	无根的形成,叶绿色
5	0.5	0.01	2.82	1.5	无根的形成,叶绿色
6	0.5	0.05	4.09	1.5	无根的形成,叶绿色,长势一般
7	1.0	0.00	5.45	1.0	无根的形成,叶绿色,长势正常
8	1.0	0.01	3.45	1.5	无根的形成,叶绿色,长势正常
9	1.0	0.05	4.27	1.5	无根的形成,叶绿色,长势正常

2.3 鄂报春生根试验

将继代增殖20天、苗高为1.5 cm的鄂报春小芽接种在1.2.2所述的(3)各种培养基中,20天后统计鄂报春小苗生根情况,见表3。

从表3可见:无论在上述的何种培养基上,鄂报春的芽都可生根。在MS基本培养基上,鄂报春长出的根条数比在添加不同浓度NAA的培养基

上长出的根条数量相对较少,但根相对较粗,有利于移栽.在1/2MS和MS基本培养基上培养的结果显示:(1)在MS基本培养基上,鄂报春的平均根条数为8.6条,比在1/2MS基本培养基上的6.5条多了2.1条;(2)在MS基本培养基上,鄂报春的平均根长为3.5 cm,比在1/2MS基本培养基上的2.5 cm长了1.0 cm;(3)在MS基本培养基上,鄂报春的苗高为5.0 cm,比在1/2MS基本培养基上的3.2 cm高了1.8 cm;(4)在MS和1/2MS两种基本培养基上,鄂报春所长的根均较粗壮,叶色浓绿,有利于移栽.而在添加了NAA的培养基上,随其浓度增高,平均根条数增加显著,且其根系明显增长,但苗高不如在MS基本培养基上生长的.这种根细长且多、叶色淡绿的小苗不利于下地种植,如在下地前将其根系剪短后再种植,不仅增加用工量,还会影响移栽成活率.因此,从节约成本,

提高经济效益的角度出发,选择在MS基本培养基上培养的鄂报春生根苗(见图1A)进行移栽是较为理想的.

表3 鄂报春在不同培养基上生根情况

序号	基本培养基/(mg·L ⁻¹)	NAA	平均根条数/条	平均根长/cm	苗高/cm	生长情况
1	1/2MS	0.00	6.5	2.5	3.2	根粗壮,叶色浓绿
2	1/2MS	0.01	7.8	3.3	2.8	细根多,叶色淡绿
3	1/2MS	0.05	10.2	4.2	3.1	根细长,叶色淡绿
4	1/2MS	0.10	15.6	5.1	3.0	根细长,叶色淡绿
5	MS	0.00	8.6	3.5	5.0	根粗壮,叶色浓绿
6	MS	0.01	9.9	5.3	4.3	根细长,叶色淡绿
7	MS	0.05	14.7	6.1	3.5	根细长,叶色淡绿
8	MS	0.10	16.4	7.9	3.0	根细长,叶色淡绿

2.4 鄂报春的移栽

2.4.1 移栽培养料的准备 将新鲜的河泥与珍珠岩以体积比为7:3的比例混合,装在5×10孔的塑料穴盘内备用.



A 鄂报春在MS基本培养基上生长情况



B 鄂报春组培苗移栽上盆生长情况

图1 鄂报春的生长情况

2.4.2 鄂报春的移栽种植 将生根培养25天的鄂报春组培瓶苗置于自然条件下2~3 d,再打开瓶盖炼苗3~4 d.取出瓶苗,洗净培养基,用稀释800倍的多菌灵浸泡20 min,将试管苗种植在上述培养料的穴盘中.种完后,将多余的多菌灵浸泡液用喷壶喷在鄂报春的叶面及土壤根部,一次性喷水灌透,再用塑料薄膜将穴盘蒙上(穴盘上方用竹片作为支架).每天早晚掀开薄膜透气3~5 min,再盖上.7天后,就可将薄膜全部拆开,按观赏植物正常水肥进行管理.采用这种移栽方式可使鄂报春的移栽成活率达到98.1%.

2.4.3 鄂报春的上盆种植管理 鄂报春是一种典型的暖温带植物,喜气候温凉、湿润的环境和排水良好、富含腐殖质的中性土壤,不耐高温和强烈的直射阳光,亦不耐严寒,不耐霜冻,花期早.

一般组培苗控制在8月底至9月初出瓶,移

植于穴盘30天后,即可装入12~16 cm的盆.2年生老株,盆可适当放大.入盆约120天后,即可在来年1~2月开花上市.盆土且不可带酸性,栽植深度要适中,太深易烂根,太浅易倒伏.须经常施肥.叶片失绿的原因除盆土酸性外,可能因太湿或排水不良.由于鄂报春在年初开花,时值气温较低,若长期将其置于室内,其花色不浓艳,应将其于100天后置于阳光下照射,可保证花色鲜艳(见图1B).但越夏时应注意通风,给予半荫并防止阵雨袭击,采用喷雾、棚架及地面洒水等措施以降温.

3 结论

(1) 诱导鄂报春嫩叶分化较理想的培养基配方是:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L.在此培养基上,鄂报春芽的分化率可达42.11%.

(2) 鄂报春较理想的继代增殖培养基配方是:MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L. 其有效芽分化系数为4.27, 平均苗高为1.5 cm, 苗的长势正常, 有利于生根培养.

(3) 鄂报春较理想的生根培养基为添加0.5% 活性炭的MS基本培养基, 在此培养基上, 鄂报春平均根条数为8.6条, 平均根长为3.5 cm, 平均苗高为5.0 cm, 且根长势粗壮, 叶色浓绿, 有利于移栽.

(4) 移栽鄂报春较理想的培养料体积比为7:3混合的新鲜河泥和珍珠岩. 在此培养料上移栽培养, 成活率可达98.1%.

综合上述影响鄂报春增殖和生根培养的各项因素, 本着既要提高鄂报春的增殖率, 又要降低生产成本的基本原则, 建议在鄂报春增殖快繁中采取如下综合处理措施: (1) 用普通白糖代替蔗糖、用卡拉胶代替琼脂条或代替琼脂粉(其中, 普通白糖的价格为5.0元/kg, 而蔗糖价格为30元/kg; 卡拉胶价格为70元/kg, 而琼脂条价格为140元/kg, 琼脂粉的价格为300元/kg); (2) 采用嫩叶诱导分化出鄂报春的愈伤组织及再分化成芽后, 可对芽进行继代快速繁殖, 待芽增殖培养到一定基数时, 再让其进入生根培养, 以满足工厂化生产的需要.

采取上述措施, 既可保证鄂报春最佳的快繁增殖率, 又可降低生产成本, 有利于提高工厂化生产的经济效益.

【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, 1990: 204 - 207.
- [2] 何国生, 胡启明. 鄂报春(*Primula obconica* Hance)一新亚种[J]. 植物分类学报, 2002, 40(6): 551 - 552.
- [3] 颜海飞, 王小兰, 胡启明, 等. 鄂报春(*Primula obconica* Hance)亲缘地理学的初步研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2005, 13(6): 526 - 532.
- [4] 李凌明. 植物组织培养教程(第2版)[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002: 280.
- [5] 崔德才, 徐培文. 植物组织培养与工厂化育苗[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 33 - 34.
- [6] 梅家训, 丁习武. 组培快繁技术及其应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [7] 宋建英. 西洋百合“卢浮宫”的组培技术研究[J]. 林业科学研究, 2004, 17(3): 346 - 351.
- [8] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 290 - 297.

A Study on Tissue Culture of *Primula obconica*

SONG Jian - ying^{1,2}, YE Jian - ren¹, CHEN Jian - yong²

(1. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing Jiangsu 210037, China;

2. Department of Resources and Environment, Forestry Vocational Institute of Fujian Province, Nanping Fujian 353000, China)

Abstract: A tissue culture experiment with *Primula obconica* was carried out and tender leaves were used as the initial explant to induce differentiation. The result revealed that the induced tender leaves of *Primula obconica* would form callus first and then differentiate into buds. The comparatively suitable medium for young leaf induction was MS + 6 - BA 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L, on which the average inducing rate reached 42.11%. The better medium for successive culture was MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L, on which the average differentiation coefficient for effective buds reached 4.27, and the mean height of young shoots was 1.5cm. Ordinary MS medium was the best for rooting, on which the average number of roots occurred was 8.6, with the average root length as 3.5 cm, and the average shoot height as 5.0 cm. The roots induced by the ordinary medium were strong enough for transplanting. The material for *Primula obconica* transplanting was the combination of river mud and perlite (proportion 7:3), the average survival rate could reach 98.1% in the experiments.

Key words: *Primula obconica*; medium; successive propagation; rooting