

野生柱穗醉鱼草组培快繁技术体系的研究 (I) 外植体的诱导培养*

陈 贤, 杨 德, 关文灵**

(云南农业大学园林园艺学院, 云南 昆明 650201)

摘要: 对野生柱穗醉鱼草离体诱导培养进行了探索, 分析了 6-BA 和 NAA 浓度及升汞消毒时间对野生柱穗醉鱼草组培快繁技术体系的影响。结果表明: 外植体消毒用 0.1% 升汞液浸泡 7 min 效果较好, 最佳外植体培养基是 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.02 mg/L。

关键词: 柱穗醉鱼草; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S 687.9.035.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X (2008) 01-0019-03

Study on the Fast Propagation System of *Buddleja cylindrostachya* in Tissue Culture (I) the Explants Culture

CHEN Xian, YANG De, GUAN Wen-ling

(Faculty of Landscape and Horticulture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: The preliminary study was carried out on the explants culture of *Buddleja Cylindrostachya*, through analyzing the effects of 3 factors (the concentration of 6-BA and NAA and the disinfection time with mercuric chloride to the system). The results showed that the disinfection method that the explants were marinated with 0.1% mercuric chloride for 7 min had the optimal effect. The optimal media applied to culture explants were MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.02 mg/L.

Key words: *Buddleja cylindrostachya*; tissue culture; fast propagation

柱穗醉鱼草 (*Buddleja cylindrostachya*) 是马钱科醉鱼草属的野生观赏植物^[1], 集中分布于滇中、滇南海拔 1 300 ~ 2 700 m 的干旱山坡上, 常绿灌木, 高可达 5 m, 紫红色或粉红色小花组成总状聚伞花序, 密集成圆柱形, 长 15 ~ 40 cm, 花期 11 月至翌年元月, 花期长, 花序大而色泽幽雅, 清香扑鼻; 其叶和嫩枝密被白色星状毛和金黄色腺点, 颇有观赏价值。目前国内外开发出的醉鱼草品种都在夏秋开花, 柱穗醉鱼草却是该属植物中少有的在冬季开花的类型, 极具开发前景。国内对醉鱼草属植物的研究较晚, 近年来只有少数如皱叶醉鱼草的引种栽培等报道, 而对柱穗醉

鱼草繁殖、引种驯化和开发方面的研究国内外少见报道, 本研究对这一野生观赏植物的组培快繁技术体系的构建进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

材料采自滇中哀牢山区的柱穗醉鱼草母株, 外植体选取秋季饱满嫩芽。

1.2 方 法

按多因子试验^[2]进行, 培养基为 MS 培养基, 蔗糖 30 g/L, 琼脂 6.5 g/L, pH 5.8, 培养温度 (23 ± 2) °C, 日光灯辅助照明每天 12 h, 强度约

收稿日期: 2007-03-12 修回日期: 2007-05-10

* 基金项目: 云南农业大学青年基金项目 (A2002002)

** 通讯作者

作者简介: 陈贤 (1972-), 男, 云南思茅市人, 硕士, 讲师, 主要从事园林园艺植物遗传育种、苗木生产和试验统计的教学与研究。E-mail: cx7201@sina.com

20 000 lx, 处理因子为 MS 培养基中的细胞分裂素 6-BA 的浓度 (A 因子, 3 水平)、生长素 NAA 的浓度 (B 因子, 3 水平) 和外植体的升汞消毒时间 (C 因子, 3 水平), 因子水平如下 (见表 1):

表 1 试验因子水平的汇总表

Tab. 1 The general table of the levels of factors of the experiment

水平 level	A 因子 factor A 6-BA ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	B 因子 factor B NAA ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	C 因子 factor C 升汞消毒时间/min disinfection time with mercuric chloride
	水平 1 level 1	0.1	0
水平 2 level 2	0.5	0.02	7
水平 3 level 3	1	0.1	10

A1: MS 培养基中添加 6-BA 的浓度为 0.1 mg/L;

A2: MS 培养基中添加 6-BA 的浓度为 0.5 mg/L;

A3: MS 培养基中添加 6-BA 的浓度为 1 mg/L;

B1: MS 培养基中添加 6-BA 的浓度为 0 mg/L;

B2: MS 培养基中添加 6-BA 的浓度为 0.02 mg/L;

B3: MS 培养基中添加 6-BA 的浓度为 0.1 mg/L;

C1: 外植体消毒时, 用 0.1% 升汞液浸泡 4 min;

C2: 外植体消毒时, 用 0.1% 升汞液浸泡 7 min;

C3: 外植体消毒时, 用 0.1% 升汞液浸泡 10 min;

试验结合 A 因子、B 因子和 C 因子各 3 水平进行, 为了减少处理数, 增加试验基数 (重复数), 把试验重点集中到重要的处理上, 试验设计采用正交设计 $L_9(3^4)^{[1]}$, 共 9 个处理, 每处理 15 瓶 (处理组合见表 2)。

培养基采用 MS 培养基, 添加不同浓度的细胞分裂素 6-BA (A 因子) 和不同浓度的生长素 NAA (B 因子) 的组合。

试材取好后 24 h 内带回实验室, 先剥掉嫩芽最外叶, 然后用毛笔刷掉嫩芽外叶上的绒毛, 再用洗衣粉液浸泡 15 min, 用清水冲洗干净。

外植体洗净后转移至超净工作台上, 用 75% 酒精中浸泡 30 s, 用无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1% 的升汞液浸泡不同时间 (C 因子), 无菌水冲洗 5 次, 用剥去嫩芽的外叶接种。

2 结果分析

外植体接种 1 周后, 腋芽开始膨大, 萌动, 随后长出叶片, 同时在外植体基部膨大形成愈伤

组织。培养 20 d 后, 对 C 因子 (汞消毒时间) 效果统计, 如表 3 所述, 采用 C2 水平 (外植体消毒时, 用 0.1% 升汞液浸泡 7 min) 效果较好, 既可基本杀死微生物, 又不毒害植物。

表 2 第一阶段试验正交设计的处理组合

Tab. 2 The treatment combinations of the orthogonal design of the No. 1 step of the experiment

处理 treatment	因子及水平 factor & level		
	A 因子 factor A 6-BA/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	B 因子 factor B NAA/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	C 因子 factor C 汞消毒时间/min disinfection time with mercuric chloride
处理 1-1 treatment 1-1	A1 = 0.1	B1 = 0	C3 = 10
处理 1-2 treatment 1-2	A2 = 0.5	B1 = 0	C1 = 4
处理 1-3 treatment 1-3	A3 = 1	B1 = 0	C2 = 7
处理 1-4 treatment 1-4	A1 = 0.1	B2 = 0.02	C1 = 4
处理 1-5 treatment 1-5	A2 = 0.5	B2 = 0.02	C2 = 7
处理 1-6 treatment 1-6	A3 = 1	B2 = 0.02	C3 = 10
处理 1-7 treatment 1-7	A1 = 0.1	B3 = 0.1	C2 = 7
处理 1-8 treatment 1-8	A2 = 0.5	B3 = 0.1	C3 = 10
处理 1-9 treatment 1-9	A3 = 1	B3 = 0.1	C1 = 4

注: 试验采用正交设计 $L_9(3^4)$ 法。

Note: the experiment is from the orthogonal design $L_9(3^4)$.

表 3 不同消毒时间对外植体的消毒效果

Tab. 3 The effects of the different time of disinfection

C 因子 (升汞消毒时间) /min Factor C (The disinfection time with mercuric chloride)	污染率/% rate of pollution	成活率/% survival rate
C1 = 4	100	0
C2 = 7	13	38
C3 = 10	6.6	0

不同浓度的 6-BA 和 NAA 组合, 柱穗醉鱼草的启动受 NAA 影响很大。没有 NAA 存在的情况下, 材料容易形成愈伤组织, 形成少量丛生芽; 当 NAA 浓度为 0.02 mg/L 时, 腋芽萌动最快, 芽粗壮, 颜色浓绿, 分化的节数最多, 经培养 5 周

后, 可达到 4~5 个节, 当 NAA 浓度为 0.1 时, 开始形成腋芽, 随着培养时间的加长, 基部愈伤组织逐渐增多。

较好的处理有: 处理 1-5 (A2B2C2), 处理 1-3 (A3B1C2), 处理 1-7 (A1B3C2), 情形如下 (见表 4):

表 4 对芽分化较好的处理

Tab. 4 The good treatments for the differentiation of buds

处理 treatment	处理 1-5 treatment 1-5	处理 1-3 treatment 1-3	处理 1-7 treatment 1-7
平均分化率/% average rate of differentiation	50	33	22

处理 1-5 诱导产物为丛生芽; 处理 1-3 诱导产物为愈伤组织, 少量丛生芽; 处理 1-7 诱导产物为愈伤组织;

以处理 1-5 (6-BA 浓度为 0.5 mg/L, NAA 浓度为 0.02 mg/L) 效果最好, 腋芽萌动最快, 芽粗壮, 颜色浓绿, 分化的节数最多, 经培养 5 周后, 可达到 4~5 个节, 所以在启动培养基上 6-BA 1.0 mg/L, 生长素 0.02 mg/L 较适合, 诱导培养基以 MS + 6BA 0.5 mg/L + NAA 0.02 mg/L 为宜。

3 结论和讨论

研究表明: 外植体消毒用 0.1% 升汞液浸泡 7 min 效果较好, 既可基本杀死微生物, 又不毒害植物。较适宜的诱导培养基是 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.02 mg/L, 为下一步野生柱穗醉鱼

草的快繁技术体系的研究打下了基础。

用组培方法可以使柱穗醉鱼草达到快速繁殖的目的, 以解决大量园林绿地栽培的需要, 同时由于目前柱穗醉鱼草组织培养少见报道, 本试验研究的进一步深化, 可为丰富园林树种做出贡献。

柱穗醉鱼草的组织培养中, 外植体消毒是一个比较重要的环节, 柱穗醉鱼草处于芽膨大始期, 被表面密被白色星状毛的外叶包裹, 使其消毒不易彻底, 加上柱穗醉鱼草对消毒剂特别敏感, 稍过量便会中毒死亡。

[参考文献]

- [1] 杨德. 试验设计与分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [2] 段新玲, 黄涛. 白花大叶醉鱼草的离体培养和植株再生 [J]. 植物生理学通讯, 2000, 36 (6): 533
- [3] 季蒙. 胡也醉鱼草引种及繁殖栽培技术研究 [J]. 辽宁林业科技, 1996, (4): 5-7.
- [4] 段新玲, 苏雪痕. 蓝花大叶醉鱼草组培快速繁殖的研究 [J]. 林业科技通讯, 1999, (10): 17-19.
- [5] 孔卫邦, 孔繁才. 紫花醉鱼草种子萌发条件的研究 [J]. 种子, 2002, (6): 8-9.
- [6] 关文灵, 陈贤. 醉鱼草观赏植物资源及其利用 [J]. 西南农业学报, 2006, 19 (增刊): 371-374.
- [7] 曾春霞, 孙卫邦. 花叶日本醉鱼草的微型快繁 [J]. 植物生理学通讯, 2004, 40 (2): 199.
- [8] MILLER A. The distribution and ecology of *Buddleja davidii* Fr. in Britain, with particular reference to condition supporting germination and the establishment of seeding [M]. D. Phil. thesis. CNA: Oxford Polytecnic, 1984.
- [9] 孙卫邦, 孔繁才. 云南柱穗醉鱼草观赏植物资源的调查研究 [J]. 园艺学报, 2002, 29 (1): 81-83.