

# 金边瑞香茎尖外植体快繁技术的研究

李先良

(荆楚理工学院 生物工程学院,湖北 荆门 448000)

**[摘要]** 以金边瑞香茎尖为外植体,探讨了不同培养基对丛生芽的诱导增殖、芽苗生根的影响。结果表明:1)金边瑞香丛生芽的诱导增殖可用培养基 B5 大量无机成分 + MS 微量无机成分 + B5 维生素 + BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 2)丛生芽形成一定高度的芽苗后,接入培养基 1/2B5 + NAA $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  中培养 10 d,然后接入 1/2B5 培养基中可获得最佳生根效果。

**[关键词]** 金边瑞香;丛生芽;诱导;生根

**[中图分类号]** Q945.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-4657(2007)09-0012-04

金边瑞香(*Daphne odora* var. *marginata*)属瑞香科金边瑞香属植物,其叶缘金黄色,花紫白色,香味浓郁,春节前后开放,花期可达3个月,具有较高的观赏价值。此外,金边瑞香的根、茎、叶和花可入药,具有清热解毒、消炎止痛及祛淤散结之功效。从其花和叶提炼的瑞香甙、瑞香油是美容化妆品的理想原料<sup>[1]</sup>。生产上常采用扦插的方法繁殖金边瑞香,但这种方法成活率不高,据笔者在江西和湖北等地的调查,扦插的成活率还不到20%。通过组织培养的方法,可大幅度提高繁殖系数,降低成本,实现金边瑞香的大规模快繁,满足市场需求。

目前,关于金边瑞香快繁的研究报告不多,赵绮等<sup>[2]</sup>以茎段为外植体诱导芽获得了94%的萌芽率,而以叶作为外植体诱导愈伤则没有产生良好的效果。廖雄荣等<sup>[3]</sup>以茎段为外植体诱导形成了芽。茎尖在很多植物的快繁中作为良好的外植体都获得了良好的培养效果,本研究以茎尖为外植体,希望通过丛生芽的方式使茎尖得以增殖,并最终形成可以移栽的小苗。

## 1 试验材料和方法

### 1.1 试验材料

供试材料由荆门市金桂园苗木公司提供。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 外植体的选取和接种

取材时间宜在每年5月,取材前一个星期将供试植株放入经紫外线照射过的房间内。取材时,从植株上取下1~2cm的新芽,去掉叶片,然后用洗衣粉水浸泡2min,再用流水冲洗约40min,然后置于超净工作台准备外植体灭菌,方法如下:75%酒精浸泡约30s—无菌水冲洗2次—0.1%升汞浸泡10min—无菌水冲洗5次。外植体灭菌后,取出放入经高压灭菌的带有滤纸的培养皿中晾干,然后将芽的下端插入培养基中,每瓶培养基接3个芽。

#### 1.2.2 培养程序

1)丛生芽诱导培养:以金边瑞香茎尖为外植体,丛生芽的诱导采用以下培养基:MS + 6-BA(1.0, 2.0, 4.0)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA(0, 0.1, 0.2)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; B5 + 6-BA(1.0, 2.0, 4.0)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA(0, 0.1, 0.2)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;

**[收稿日期]** 2007-06-19

**[项目来源]** 荆楚理工学院科学研究项目(项目编号:2005XYZ05)。

**[作者简介]** 李先良(1976-),男,湖北武汉人,荆楚理工学院讲师,硕士。研究方向:植物细胞工程。E-mail:libusher@sina.com。

B5 大量无机成分 + MS 微量无机成分 + B5 维生素 + 6-BA (1.0, 2.0, 4.0)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA (0.0, 1.0, 2.0)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 总共 27 种培养基, 每种培养基 5 瓶所有培养基均加琼脂 0.7%, 蔗糖 2%, pH 值调到 5.8。

2) 丛生芽增殖培养: 丛生芽诱导成功后, 将丛生芽分开, 接入 B5 大量无机成分 + MS 微量无机成分 + B5 维生素 + BA 2.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  中, 使其增殖。

3) 小芽苗的生根培养: 生根培养的培养基有 6 种, B5 + NAA (20, 50, 100)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 1/2B5 + NAA (20, 50, 100)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 在每一种培养基上培养 5 d、10 d、20 d 后接入 1/2B5 中。每种培养基均加琼脂 0.7%, 蔗糖 1%, pH 值调到 5.8。每次处理 5 瓶培养基。

### 1.2.3 培养条件

所有培养的温度均控制在 25  $^{\circ}\text{C}$ , 丛生芽的诱导培养采用每天 12 h 的光照, 生根培养采用每天 8 h 的光照。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养基对丛生芽形成的影响

不同培养基对形成丛生芽的影响见表 1。

表 1 不同培养基对形成丛生芽的影响

培养基 编号	培养基 基本成分	激素 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )		平均诱导芽数	芽的质量
		BA	NAA		
1	MS	1.0	0	2.6	+++
2	MS	2.0	0	2.9	+++
3	MS	4.0	0	3.0	+
4	MS	1.0	0.1	2.5	++
5	MS	2.0	0.1	2.7	+++
6	MS	4.0	0.1	2.8	+
7	MS	1.0	0.2	2.0	+
8	MS	2.0	0.2	2.4	++
9	MS	4.0	0.2	2.5	++
10	B5	1.0	0	2.7	+++
11	B5	2.0	0	3.5	+++
12	B5	4.0	0	3.2	++
13	B5	1.0	0.1	2.7	++
14	B5	2.0	0.1	3.2	++
15	B5	4.0	0.1	3.3	++
16	B5	1.0	0.2	2.5	+++
17	B5	2.0	0.2	2.6	+++
18	B5	4.0	0.2	2.7	++
19	B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素	1.0	0	3.5	+++
20	B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素	2.0	0	4.2	+++
21	B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素	4.0	0	3.8	++
22	B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素	1.0	0.1	3.5	+++
23	B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素	2.0	0.1	3.6	+++
24	B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素	4.0	0.1	3.7	++
25	B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素	1.0	0.2	3.6	+++
26	B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素	2.0	0.2	3.7	+++
27	B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素	4.0	0.2	3.5	++

注: 表中平均诱导芽数 = 每种培养基诱导出的丛生芽数/每种培养基接入的茎尖数; 丛生芽的质量采用三档次衡量体系: “+++”代表质量最好, 即芽生长健壮, 无玻璃化现象; “++”代表质量一般, 每种培养基有低于 5 个的玻璃化芽; “+”代表质量最差, 有超过 5 个以上的玻璃化芽。

茎尖接入培养基后 30~40 d 开始形成丛生芽,见图 1。从表 1 可看出,培养基基本成分对丛生芽的形成有影响,B5 为基本成分的培养基比 MS 为基本成分的培养基能诱导出更多的丛生芽。WPM 培养基和 Anderson 培养基适合于木本植物的培养<sup>[2]</sup>,它们与 MS 培养基相比一个重要的差别是它们具有较低比例的铵态氮,这说明低比例的铵态氮往往有利于木本植物的茎尖培养,本研究中选用的 B5 培养基表现出较好的培养效果,也可能是因为其具有较低比例的铵态氮。以 B5 大量 + MS 微量 + B5 维生素为基本成分的培养基比 B5 为基本成分的培养基培养效果更好,这可能是因为培养基中加入的是 MS 微量无机成分,MS 微量无机成分具有更全面的微量元素,这更有利于丛生芽的形成。随着培养基中 BA 浓度的升高,丛生芽的数量基本上随之增加,然而,当 BA 增加到  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,诱导出的丛生芽也出现了较多的玻璃化现象,即芽苗中绿色变淡,呈现透明状,玻璃化芽苗一般在增殖培养阶段会表现得更加严重,即使生根后也无法移栽存活。NAA 对芽诱导表现出一定的抑制作用,本研究的结果也体现了这一点。从丛生芽的数量和质量两方面来看,第 20 号培养基都表现出了较好的效果。



图 1 金边瑞香的丛生芽



图 2 金边瑞香生根后的小苗

## 2.2 不同培养基对丛生芽生根的影响

一般而言,对芽诱导表现较好的培养基也会对芽增殖表现出同样较好的效果,故本研究将诱导出的丛生芽分开后接入表 1 第 20 号培养基中,进行一个月的增殖培养,然后将增殖后丛生芽分开,接入生根培养基中培养不同天数后移入 1/2B5 培养基中,30 d 后记录生根情况,发现某些地方出现了生根小苗(图 2)。

表 2 不同培养基及天数对丛生芽苗生根的影响

处理编号	培养基基本成分	激素浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	培养天数 (天)	生根率 (%)	生根质量
1	B5	20	5	0	---
2	B5	20	10	0	---
3	B5	20	20	13.3	+++
4	B5	50	5	40.0	+++
5	B5	50	10	46.7	+++
6	B5	50	20	53.3	++
7	B5	100	5	46.7	+
8	B5	100	10	---	---
9	B5	100	20	---	---
10	1/2B5	20	5	0	---
11	1/2B5	20	10	26.7	+++
12	1/2B5	20	20	26.7	++
13	1/2B5	50	5	53.3	+++
14	1/2B5	50	10	80.0	+++
15	1/2B5	50	20	73.3	++
16	1/2B5	100	5	66.7	++
17	1/2B5	100	10	60.0	+
18	1/2B5	100	20	---	---

注:生根率=(生根的芽苗/接入的芽苗)×100%,生根率中“---”代表接入的芽苗死亡,生根质量中“---”代表无生根,“+++”代表生根较多,平均每个芽苗生根条数在6以上,且根系健壮,“++”代表生根条数在3以上6以下,“+”代表根系在3以下。

从表2可看出,以1/2B5为基本成分的培养基总体上优于以B5为基本成分的培养基,这说明低浓度的基本成分对金边瑞香的生根是有利的。事实上,低浓度的基本成分有利于许多木本植物的生根。NAA浓度增加可以在一定的程度上促进生根,但过高的浓度也可能导致芽苗死亡。高浓度的NAA短时间刺激对生根是有利的,时间增长则会导致芽苗死亡。从生根效率和质量方面考虑,表2中第14处理效果较好,所以,金边瑞香芽苗的生根宜接入培养基1/2B5+NAA50 mg·L<sup>-1</sup>中培养10 d,然后接入1/2B5培养。

### 3 结论

1)金边瑞香的快繁宜选用茎尖作为外植体,并在取下外植体前10 d放入经紫外线灭过菌的室内,有利于减少污染。

2)金边瑞香丛生芽的诱导以B5大量无机成分+MS微量无机成分+B5维生素+BA2.0 mg·L<sup>-1</sup>为好。

3)金边瑞香丛生芽苗宜先在1/2B5+NAA50 mg·L<sup>-1</sup>中培养10 d,然后接入1/2B5培养。

#### [参考文献]

- [1] 刘惠.金边瑞香生物学特性和栽培要点[J].江西园艺,2003,(4):33-35.
- [2] 赵绮,周冬法,周能辉,等.金边瑞香离体培养中芽和愈伤组织诱导初步研究[J].浙江林业科技,2003,(6):20-24.
- [3] 廖雄平,李惠荣.金边瑞香快速的芽增殖和发根[J].宁德师专学报,1994,(6):32-36.
- [4] 朱至清.植物细胞工程[M].北京:化学工业出版社,2003.34-38.

### Study on the Technical System of Tissue Culture and Rapid Propagation in *Daphne Odora* Var. *marginata*

LI Xian-liang

(Jingchu University of Technology, Jingmen, Hubei, 448000, China)

**Abstract:** To find out the best cultural ways to quickly propagate with stem apices as explants, the stem apices were placed onto different media, which effects to inducement of clustering buds can be compared. These clustering buds after proliferation were placed onto different media and cultured for different days, by which rooting effects of different treatment can be observed. The results were as follows: 1) The best medium for inducement of clustering buds was B5 Macroelement + MS Microelement + B5 Vitamin + BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>; 2) The most and best roots can be produced by the treatment that the clustering buds were placed on the medium 1/2B5 + NAA 50 mg·L<sup>-1</sup> for 10 days, then on the medium 1/2B5.

**Key words:** *Daphne odora* var. *marginata*; clustering buds; inducement; root