

拟婆婆纳的组培快繁技术研究

蒋亚莲¹, 熊丽¹, 吴丽芳¹, 屈云慧¹, 陶磅²

(1.云南省农业科学院花卉研究所, 云南 昆明 650205; 2.云南省农业科学院园艺研究所, 云南 昆明 650205)

摘要: 用拟婆婆纳幼嫩茎尖作为外植体获得了无菌植株, 研究了培养基成分对拟婆婆纳增殖和生根的影响。结果表明, MS+BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是理想的诱导培养基, MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是适宜的增殖培养基, 繁殖系数在 20 d 后可达 4.3, 平均苗高可达 1.5 cm, 且叶色油绿; MS+NAA 0.3 mg/L+IAA 0.1 mg/L 是有效的生根培养基, 其生根率在 20 d 时可达 100%。将已生根的瓶苗置于室外自然光线下培养 7 d 后移栽过渡, 在腐殖土:珍珠岩比例为 3:1 时, 成活率可达 96%。

关键词: 拟婆婆纳; 组织培养; 培养基; 外植体

Research on tissue culture technique of *Hebe*

JIANG Ya-lian¹, XIONG Li¹, WU Li-fang¹, QU Yun-hui¹, TAO Pang²

(1. Flower Research Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Kunming 650205, China; 2. Horticultural Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Kunming 650205, China)

Abstract: Bacteria-free plants were obtained using young *Hebe* shoot tip as explants. This studies focus on effect of medium component to propagation and root growth on *Hebe*. The result shows that MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L was suitable medium for propagation, which breeding coefficient and the young plant average height reached 4.3 and 1.5 cm respectively after 20 days, and leaf looks very green. Meanwhile, MS+NAA 0.3 mg/L+IAA 0.1 mg/L was effective medium for root growth, which root growth rate reached 100% after 20 days. Rooting bottle of young plants had been put for 7 days in natural sunshine outside. Living rate of transition was 96% when the proportion of humus soil to perlite was 3:1.

Key words: *Hebe*; tissue culture; medium; explants

拟婆婆纳属玄参科 (Scrophulariaceae) 赫伯木属 (*Hebe*) 多年生常绿小灌木, 原产澳洲, 主要分布于新西兰和澳大利亚东南部, 全属约 100 种, 栽培品种超过 800 个; 由于酷似婆婆纳, 引入中国后称拟婆婆纳, 也称木本婆婆纳。其植株生长迅速, 株高 1~2 m, 冠幅 60 cm 左右。在澳洲和欧洲, 广泛应用于观赏园艺和庭院绿化上。赫伯木属植物依品种不同, 叶片有小叶、长叶之分, 其中, 长叶品种四季叶色常绿, 可作绿篱; 小叶品种可作家庭盆景或广场、庭院绿化盆栽景观。其花期长,

从 6 月直到霜冻前, 花色繁多、颜色艳丽, 有粉、紫、红、白、淡紫等色; 抗逆性强, 能抵抗大多数病虫害; 忍受 0℃ 左右低温^[1, 2]。繁殖方法主要是扦插和直播。近年来, 中国逐步认识和引进拟婆婆纳, 但尚处于试验观察阶段, 国内未见报道。2002 年, 云南省农科院花卉所从国外引入种苗后, 进行了一系列栽培和繁殖试验, 选出了较好单株用于繁殖。

由于拟婆婆纳的繁殖方法主要是扦插和播种, 用扦插的方法虽能保持母本特性, 但速度较慢, 时间长, 繁殖数量有限。用种子繁殖虽可在短期内得到大量幼苗, 但容易产生变异。而采用组织培养的方法, 可解决上述问题并在短期内获得大量再生优

质植株。

1 材料与方 法

1.1 材 料

取云南省农科院花卉所 1 年生、无病虫害、优选单株的幼嫩茎尖,作为组织培养与试验材料,品种为赫伯木维力系列 (*Hebe wiri series*) 中的维力镜像 (*Hebe wiri image*)。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒、灭菌

选取 20 个幼嫩茎尖作外植体材料,用洗衣粉水冲洗干净后,在酒精中消毒 30 s;然后,采用常规灭菌方法,先用 0.1%氯化汞溶液灭菌 20 min,再转至 0.2%的次氯酸钠溶液中灭菌 20 min,最后取出分成 2 组,每组 10 芽在无菌水中漂洗 3 次。

1.2.2 诱导和增殖培养

1.2.2.1 不同培养基的处理

将灭菌后的 2 组外植体,分别接入以 MS 和以 Anderson^[3] 为基本培养基的 MS+BA 1mg/L+NAA 0.1 mg/L 和 Anderson+BA1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 诱导培养基中,每组 10 瓶;为防止灭菌后交叉污染与玻璃化发生,每瓶接入 1 芽;封口膜采用透气膜。以培养基失水时间来决定,20 d 为 1 个培养周期;第二个周期取出切分后,继续用上述 2 种培养基分别进行诱导;3 个周期后观察诱导出的不定芽总数及其生长情况;同时,筛选合适的诱导培养基主要成分,并在后续培养中加以应用。

1.2.2.2 不同激素浓度的处理

在筛选出诱导培养基的基础上,将诱导出的丛生芽在超净工作台上切分为 0.5 cm² 左右的小块,并将切分后的小块分为 3 组,每组 10 瓶,每瓶 10 块,每一瓶为 1 个重复;分别接入不同激素浓度 (BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L、BA 0.3 mg/L+NAA 0.1 mg/L、BA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L) 的增殖培养基中;1 个周期后,观察增殖培养后产生不定芽总数和平均高度,计算繁殖系数;筛选最佳的增殖

培养基激素浓度组合。

1.2.3 生根培养

增殖培养 2 个周期后,从增殖出的不定芽中,切出长 1.5 cm 左右单株粗壮幼苗 500 株分别接入不同激素浓度 (NAA 0.1 mg/L、NAA 0.3 mg/L、NAA 0.5 mg/L、NAA 0.1 mg/L+IAA 0.1 mg/L、NAA 0.3 mg/L+IAA 0.1 mg/L) 的生根培养基中,每组 10 瓶,每瓶 10 株,每一瓶为 1 个重复;1 个周期后观察生根培养效果,统计总生根苗数、开始生根的天数、生根量和生根率,筛选最佳的生根培养基激素浓度组合。

1.2.4 过渡

在生根培养基数达到一定数量时,选取已长出 1~2 mm 根毛的生根苗 20 瓶 (要求每瓶生根苗数不低于 20 株),将其分为 A、B 两组,每组 10 瓶。A 组置于室外自然光线下闭瓶培养;B 组置于室内日光灯光线下闭瓶培养。7 d 后分别取 A、B 两组生根苗,各 150 株,移栽过渡。设计 3 种基质处理 (即净腐殖土;腐殖土+珍珠岩 3:1;净珍珠岩),进行室外过渡试验;10 株为 1 组,重复 5 次;每种基质过渡苗 50 株;水肥管理条件要求基本一致;14 d 后观察、统计各处理成活率、平均株高、根长,以筛选最佳过渡方式和基质。

1.3 培养条件

室内培养条件为光照时间 10~12 h、光照强度 2 000 lx、培养温度 20~25℃、糖 3%、琼脂 5 g/L、pH 值 5.8;室外培养条件为光照时间 12 h、光照强度 4 000~10 000 lx、温度 12~25℃。

1.4 数据整理分析

采用 SAS 数据分析系统 Duncan's 新复极差测验,进行数据多重比较分析,在 F=0.05 水平上,分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 灭菌效果

用常规方法对茎尖外植体进行灭菌,成功率可

表 1 不同培养基对外植体诱导的影响

Table 1 Effect of different medium on explants inducing

处理 Treatments	不定芽数(个) Number of adventitious bud	叶色 Leaf color	芽高 Bud height(cm)	黄化、褐化程度 Extent of changing yellow or brown	生长势 Growth power
MS + BA 1 mg/L + NAA 0.1 mg/L	205	深绿	0.1~0.3	无	强
Anderson + BA 1 mg/L + NAA 0.1 mg/L	62	黄	0.1~0.3	严重	弱

达 100%，表明用常规方法对拟婆婆纳外植体灭菌可行。这可能与拟婆婆纳的植株特性有关，因为拟婆婆纳叶片呈蜡质，茎杆与叶片光滑，不易藏污纳菌，所以灭菌较易成功。

2.2 外植体诱导和增殖效果

从表 1 可以看出，用 MS+BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基对拟婆婆纳茎尖外植体进行诱导培养，诱导的不定芽数和芽长势，明显优于 Anderson 培养基。试验中可观察到茎基部产生明显愈伤组织，侧边也可明显观察到不定芽产生。第二个周期取出切分后，继续用此培养基进行诱导培养，20 d 后，即可观察到基部已诱导产生大量丛生芽，高度在 0.1~0.3 cm；小苗颜色正常、生长势强、增殖数高。相反，以 Anderson 为基本培养基，诱导产生的苗大部分褐化、黄化并死亡，只有极少数不定芽被诱导出来，且质量较差。可见，MS+BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基对拟婆婆纳茎尖外植体诱导培养效果较好，可在今后拟婆婆纳种苗快繁中应用。

2.3 不同激素浓度对外植体生长的影响

从表 2 可以看出，激素浓度是影响不定芽长

高的因素，BA 0.3 mg/L+NAA 0.1 mg/L 和 BA 0.6 mg/L+NAA 0.1 mg/L 处理虽然在不定芽数上优于 BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 处理，但不定芽的生长高度却明显低于 BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 处理。不定芽的高度直接影响到以后继代培养和生根培养的操作，如果不定芽的高度达到 1~2 cm，则可在规模化生产时大大节约切分时的操作时间，减少污染提高接种效率。3 组处理的繁殖系数都在 4.3 以上，都处在正常范围内并达到了组培快繁的高速度^[3]，但值得注意的是 BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 处理不定芽的高度平均在 1.5 cm，明显高于其它 2 个处理，所以 BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 处理对拟婆婆纳的增殖效果最好。

2.4 不同激素浓度对拟婆婆纳生根的影响

从上表 3 看出，当激素浓度达到 NAA 0.3 mg/L+IAA 0.1 mg/L 时，生根效果最好，生根率可达 100%。且在添加了 IAA 的生根培养基中，明显表现出诱导生根优势。其它组合的生根培养基虽然也会长少量的根，但根系大部分向上长并露出培养基，这样的植株在移栽过渡时，将严重影响过渡成活率。

表 2 不同激素浓度对外植体增殖的影响

Table 2 Effect of different hormone concentration on explants growth

处理 Treatments	接种数(个) Numbers of explant	不定芽数(个) Numbers of adventitious bud	不定芽平均高度(cm) Average height of adventitious bud	繁殖系数 Breeding coefficient
BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L	100	432	1.5a	4.3 b
BA 0.3 mg/L + NAA 0.1 mg/L	100	474	0.5b	4.7 ab
BA 0.6 mg/L + NAA 0.1 mg/L	100	505	0.3b	5.0a

注：表中不同小写字母表示在 F=0.05 水平上的差异显著水平。

表 3 不同激素浓度对拟婆婆纳生根的影响

Table 3 Effect of different hormone concentration on root growth of Hebe

处理 Treatments	接种数(个) Numbers of explant	生根苗数(个) Numbers of rooting plantlet	生根 天数(d) Days of rooting	平均单株 生根量(条) Average numbers of root	生根率(%) Rooting rate	评价 Appraise
NAA 0.1 mg/L	100	27	10	1.0c	27d	少,黄,向上长
NAA 0.3 mg/L	100	53	15	2.5c	53c	少,黄,向上长
NAA 0.5 mg/L	100	7	20	1.0c	7e	少,黄,上长
NAA 0.1 mg/L + IAA 0.1 mg/L	100	71	10	4.5b	71b	呈放射状,细、稀、白,向上长
NAA 0.3 mg/L + IAA 0.1 mg/L	100	100	15	7.5a	100 a	呈放射状,细密、白,少数上长

注：表中不同英文小写字母表示在 F=0.05 水平上的差异显著水平。

表4 不同条件对拟婆婆纳过渡效果的影响

Table 4 Effect of different conditions on transition result of *Hebe*

处理 Treatments	移栽数(株) Numbers of remove	成活数(株) Numbers of living	株高 Height of plant(cm)	根长 Length of root(cm)	茎叶色泽 Color of stem and leaf	成活率 Living rate(%)	
A组(室外培养 7d后过渡)	净腐殖土 Pure humus soil	50	39	3.17a	3.44a	叶深绿、茎红	78b
	腐殖土+珍珠岩 humus soil + perlite 3:1	50	48	3.38a	3.61a	叶深绿、茎红	96a
	净珍珠岩 Pure perlite	50	18	3.28a	3.18a	叶深绿、茎红	36c
B组(室内培养 7d后过渡)	净腐殖土 Pure humus soil	50	19	3.22a	3.47a	叶绿、茎绿	38c
	腐殖土+珍珠岩 humus soil + perlite 3:1	50	38	3.28a	3.47a	叶绿、茎绿	76b
	净珍珠岩 Pure perlite	50	5	1.80b	2.92b	叶绿、茎绿	10d

注：表中株高和根长均为各处理平均值；不同英文小写字母表示在 F=0.05 水平上的差异显著水平。

2.5 不同条件对拟婆婆纳过渡效果的影响

从表4看出，在室外自然光线下闭瓶培养的生根苗过渡处理，成活率明显高于室内日光灯下闭瓶培养的生根苗；在株高、根长、茎叶色泽上，除B组净珍珠岩过渡处理外，其余处理无明显差别。因此，综合判定净腐殖土+珍珠岩3:1为最佳过渡基质；在室外自然光线下闭瓶培养一段时间后，再移至室外过渡，可明显提高过渡成活率。

3 讨论

(1) 拟婆婆纳的组织培养在国内尚未见报道，由于它属于木本植物，因此，在试验中采用了木本植物 Anderson 培养基和常规 MS 培养基进行培养，但在使用 Anderson 后造成植株黄化、褐化死亡，且增殖效果不明显。原因可能是由于 MS 和 Anderson 成分有较大差异，Anderson 中 NH_4NO_3 和 KNO_3 含量远低于 MS 母液，而且 Anderson 中不含有 MS 中含有的多种维生素。是否因某些元素缺乏而导致增殖植株黄化、褐化死亡还有待进一步研究。

(2) 即使是最佳生根培养基激素组合，仍会有少数根系向上生长，露出培养基，因此，可认为拟婆婆纳的根系可能具有向气性或趋光性。此外，对拟婆婆纳在黑色生根培养基中的生长效果也可进一步进行研究。

(3) 本试验通过培养基的筛选和过渡移栽条件的摸索，建立起拟婆婆纳优质组培苗工厂化生产程序，为拟婆婆纳组培苗的大规模生产奠定了基础。

(4) 随着社会经济发展和人民生活水平不断提高，生态园林绿化的作用越来越重要。拟婆婆纳作为一种新型园林绿化植物，具有较好观赏价值和市场前景。目前，国内尚未广泛应用的主要原因是引种及繁殖数量少。通过本试验，已初步掌握拟婆婆纳组织培养的技术与方法，可望在短期内生产大量再生优质植株。

参考文献：

- [1] D. Widyatmoko and D. A. Norton. Conservation of the threatened shrub *Hebe cupressoides* (Scrophulariaceae), Eastern South Island, New Zealand [J]. *Biological Conservation*, 1997, 82(2): 193~201.
- [2] Linda E. Noack, Ian J. Warrington, Julie A. Plummer, et al. Effect of low-temperature treatments on flowering in three cultivars of *Hebe* Comm. ex Juss [J]. *Scientia Horticulturae*, 1996 (66): 103~115.
- [3] 邓百万, 陈文强, 高菲菲. 比利时杜鹃的组织培养研究 [J]. *氨基酸和生物资源*, 2002, 24(3): 25.
- [4] 熊丽, 吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产 [M]. 北京: 化工出版社, 2003.