

灰毡毛忍冬新品种组培苗生根的研究

王晓明^{1,2*}, 李永欣¹, 易雷琴¹, 宋庆安¹, 聂启英³

(1.湖南省林木无性系育种重点实验室, 长沙 410004; 2.中南林业科技大学;
3.长沙环境保护职业技术学院)

摘要:以灰毡毛忍冬新品种‘金翠蕾’的组培无菌苗为试材, 研究了不同生长素、活性炭、培养温度对组培苗生根的影响。研究表明, 不同生长素、活性炭浓度、培养温度对组培苗生根的影响显著。生根培养的适宜生长素为IBA, 适当低温有利于灰毡毛忍冬组培苗生根, 组培苗生根培养的适宜温度为20℃。适宜的生根培养基是1/2MS+IBA3.0 mg·L⁻¹+活性炭210 mg·L⁻¹。

关键词:灰毡毛忍冬; 组织培养; 生根率

中图分类号: S567.79

文献标识码: A

文章编号: 1003-2630(2006)04-0001-03

Study of rooting on the tissue culture seedlings from new varieties of *Lonicera macranthoides*

WANG Xiao-ming^{1,2}

(1. Trees Clones breeding Technology Key Laboratory of Hunan Province,
ChangSha 410004, China; 2. Central South University of Forestry & Technology)

Abstract: *Lonicera macranthoides* cv. *Jinculei* were used as test materials in this paper. Different auxin and active carbon and temperature were done to investigate their effects on the rooting rate of the tissue culture seedlings. The results indicate that the difference of rooting rate was very distinct. IBA is the optimum auxin in the rooting culture. It was found that lower temperature is advantaged in the regeneration of root and the most favorable temperature is 20℃. The suitable rooting medium was 1/2MS supplemented with 3.0 mg·L⁻¹ IBA and 210 mg·L⁻¹ AC.

Key Words: *Lonicera macranthoides*; tissue culture; rooting;

灰毡毛忍冬, 俗称拟大花忍冬, 是忍冬科忍冬属半常绿植物, 也是西南、中南地区商品金银花的主要品种之一^[1], 它含有挥发油、黄酮类、三萜皂甙、有机酸^[2-4]等, 具有抑菌、抗病毒、消炎解毒、抗艾滋病等作用^[1]。湖南已从灰毡毛忍冬选育出高产、优质花蕾型新品种‘金翠蕾’、‘银翠蕾’和‘白云’, 其花期花冠一直不开裂或半开裂, 深受广大生产者和消费者青睐, 但其常规的无性繁殖困难, 组培苗生根率较低^[5]。为此, 我们在建立灰毡毛忍冬新品种组培无菌体系和丛生芽增殖体系的基础上^[6], 开展了新品种的组培苗生根的研究。

目前, 国内外对金银花组培生根的研究报道不多, 且主要集中在忍冬植物(*L. japonica* Thunb), 国内主要有杨培君、王光金等开展了蒙花忍冬、凤爪金银花、红河金银花等的组织培养与快速繁殖研究, 国外有Karhu ST等开展了植物激素对蓝靛果组

培苗的增殖和生根影响试验^[7]。但至今未见有关灰毡毛忍冬组培苗生根的研究报道。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以金翠蕾(*Lonicera macranthoides* cv. *Jinculei*)为试验材料。将本实验室继代培养的2~3 cm高的丛生芽切成单株后转接在生根培养基种上, 培养时间25d。

1.2 培养基及培养条件

基本培养基为MS, 附加成分6-BA、NAA、IAA、IBA和活性炭等, PH值为5.8, 琼脂7 g·L⁻¹, 蔗糖浓度30 g·L⁻¹。培养基用300ml的广口瓶分装, 每瓶30ml, 封口膜包扎, 在121℃和1.1kg·cm⁻²条件下, 用高压蒸汽灭菌锅灭菌25min。培养温度为(20±1)℃(除温度试验外), 光强度30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间12 h·d⁻¹。

收稿日期: 2006-10-15

作者简介: 王晓明, 在读博士, 研究员, 湖南省林木无性系育种重点实验室, 常务副主任。主要从事经济林育种、栽培与生物技术研究。

1.3 试验设计

随机区组试验设计, 4次重复, 每次重复中各种处理接种10瓶, 每瓶接种10根无菌苗。培养结束后, 调查组培苗生根率、根系等指标, 并观察苗木的叶色及生长是否正常。

1.3.1 不同生长素对组培苗生根的影响试验

生根培养基为1/2MS+活性炭200 mg·L⁻¹, 附加2.0mg/L的不同生长素(IBA、NAA、IAA)。

1.3.2 IBA浓度对组培苗生根的影响试验

设计IBA 0.0、1.0、2.0、5.0、10mg·L⁻¹ 5种浓度, 生根培养基为1/2MS+活性炭200 mg·L⁻¹。

1.3.3 活性炭浓度对组培苗生根的影响试验

设计活性炭0、100、200、300、400、500mg·L⁻¹ 6种浓度, 生根培养基为1/2MS+IBA2.0 mg·L⁻¹。

1.3.4 温度对组培苗生根的影响试验

利用PYX-300G-B光照培养箱进行试验。设计4种温度: 15℃、20℃、25℃、30℃, 温度波动±0.5℃。生根培养基为1/2MS+IBA2.0 mg·L⁻¹+活性炭200 mg·L⁻¹。

1.3.5 不同品种对优化生根培养基的反应试验

供试品种: 金翠蕾、银翠蕾和白云, 优化生根培养基是1/2MS+IBA3.0 mg·L⁻¹+活性炭210 mg·L⁻¹。

2 结果与分析

2.1 不同生长素对组培苗生根的影响

方差分析结果表明, 不同生长素对灰毡毛忍冬组培苗生根的影响极大($F=97.944^{**}$, $F_{0.05}=4.26$, $F_{0.01}=8.02$), 各激素间差异极显著。从表1可以看出, 2.0mg·L⁻¹的IBA处理生根率最高, 达到93.4%, 而经过NAA处理的组培苗, 茎基部形成较多的愈伤组织, 生根率最低, 小苗容易发黄, 掉叶, 而IBA处理的小苗叶色浓绿, 根系好, 须根多。因此, 诱导灰毡毛忍冬组培苗生根最适宜的生长素为IBA。

表1 不同生长素对组培苗生根影响的试验结果

生长素种类	生根率/%	平均根数/条	平均根长/cm
IBA	93.4 A	7	1.4
NAA	65.2 B	3	1.8
IAA	71.4 C	4	1.1

注: 生根率: L.S.D_{0.05}=4.79, L.S.D_{0.01}=6.88

2.2 IBA浓度对组培苗生根的影响

从表2可见, IBA浓度在2~5 mg·L⁻¹的范围内比较适合灰毡毛忍冬组培苗诱导生根, 浓度过高, 生根率反而较低。对试验数据进行曲线估计和

回归分析, 得生根率的回归方程为 $y=35.0721+49.4675x-11.0710x^2+0.6201x^3$, 相关系数 $r=0.9995$ ($r_{0.05}=0.878$, $r_{0.01}=0.959$)。说明IBA浓度对灰毡毛忍冬组培苗生根影响极显著, 随着IBA浓度的升高, 二者的变化曲线呈抛物线状。对本回归方程求一阶导数并令其等于零, 求解极值点, 可得出令生根率取得极大值的IBA浓度为3.0 mg·L⁻¹。这表明灰毡毛忍冬生根的最适浓度是3.0 mg·L⁻¹。

表2 IBA浓度对组培苗生根影响的试验结果

IBA/mg·L ⁻¹	0.0	1.0	2.0	5.0	10.0
生根率/%	34.6	75.4	93.7	83.3	42.7

2.3 活性炭浓度对组培苗生根的影响

有文献报道, 在植物组培生根培养基中添加适量活性炭可促进了不定根的诱导与生根率^[8-10]。对试验数据(表3)进行曲线估计和回归分析, 得生根率的回归方程为 $y=76.7821+0.1280x-0.0003x^2$, 相关系数 $r=0.9634^{**}$ ($r_{0.05}=0.811$, $r_{0.01}=0.917$)。这表明活性炭浓度对灰毡毛忍冬组培苗生根影响极显著, 随着活性炭浓度的升高, 二者的变化曲线呈抛物线状。对回归方程求极值点, 可得出令生根率取得极大值的IBA浓度为210 mg·L⁻¹。从表3也可以看出, 添加适量(100~400 mg·L⁻¹)的活性炭可提高组培苗生根率, 200 mg·L⁻¹的活性炭处理比不加活性炭的生根率高出16.6%。而且添加活性炭以后, 灰毡毛忍冬组培苗的根系和生长状况也比不添加活性炭时要好, 苗木粗壮, 叶色浓绿, 须根较多。这可能与组培苗根系有避光生长的特性有关, 使用活性炭后, 创造了有利于根系生长的黑暗环境, 故能促进根系生长。因此, 灰毡毛忍冬组培苗生根最适合的培养基为1/2MS+IBA3.0 mg·L⁻¹+活性炭210 mg·L⁻¹。

表3 活性炭浓度对组培苗生根影响的试验结果

活性炭/mg·L ⁻¹	0	100	200	300	400	500
生根率/%	77.8	83.3	94.4	88.9	80.6	69.4
根数/条	4	6	8	7	7	3

2.4 温度对组培苗生根的影响

方差分析结果表明, 温度对灰毡毛忍冬生根的影响差异极大($F=81.782^{**}$, $F=0.513$, $F_{0.05}=3.49$)。多重比较结果也表明各处理间差异极显著。从表4可见, 适当低温有利于灰毡毛忍冬组培苗生根, 但温度过低, 生根率较低; 温度过高, 生根率更低, 超过30℃, 生根率明显降低, 而且组培苗出现黄叶及死亡的现象。灰毡毛忍冬组培苗生根的适宜培养温度为20℃。

2.5 不同品种对优化生根培养基的反应

为了探讨灰毡毛忍冬3个新品种对优化生根培养基的表现,进行了不同品种试验(表5)。方差分析

表4 不同温度对组培苗生根影响的试验结果

温度/℃	15	20	25	30
生根率/%	75.6 c	98.7 a	89.2 b	46.3 d
根系数/条	4	7	5	4

注:生根率: $L.S.D_{0.05}=7.74$, $L.S.D_{0.01}=10.847$

结果表明,在优化生根培养基上诱导生根,3个品种之间没有显著性差异($F=3.314$, $F_{0.05}=4.26$, $F_{0.01}=8.02$)。证明该优化生根培养基适合金翠蕾、银翠蕾和白云的生根培养。

表5 不同品种对优化生根培养基的反应结果

品种	金翠蕾	银翠蕾	白云
生根率/%	97.0	96.8	98.5
根系数/条	6	8	7

2.6 组培苗的移栽

生根培养25 d左右的苗高达3 cm以上时,采用独创的“塑料杯单株一步移栽法”,不需炼苗,直接从培养瓶中取出试管苗,洗掉根部培养基,在0.1%瑞毒霉-锰锌(浙江禾本农药化学有限公司生产,58%可湿性粉剂)溶液中浸泡3 min,栽入盛有黄心土、炭化谷壳灰、细砂混合(1:2:2)基质的塑料杯中。以0.1%瑞毒霉溶液淋透基质,再用组培废弃的封口膜封口保湿,置于自动喷雾的塑料大棚中。30 d后,揭开封口膜,40 d后可移入大田,成活率达95%以上。

3 结论与讨论

3.1 不同生长素、活性炭、培养温度对组培苗生根的影响显著。IBA是金翠蕾生根培养的适宜生长素,其适宜浓度为 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;添加适量(200~300

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的活性炭,明显促进组培苗的生根。研究发现,适当低温有利于诱导灰毡毛忍冬组培苗生根,找到了其组培苗生根培养的适宜温度为 20°C 。

3.2 三个灰毡毛忍冬新品种在优化的生根培养基上诱导生根,其生根率没有明显差异,说明筛选的优化生根培养基 $1/2\text{MS}+\text{IBA}3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{活性炭}210 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 具较广的适应性,均适合金翠蕾、银翠蕾和白云生根培养。

参考文献:

- [1]石钺,石任兵,陆蕴如.我国药用金银花资源、化学成分及药理研究进展[J]. 中国药理学杂志, 1999, 34(11)
- [2]王天志,李永梅,王志霄.灰毡毛忍冬花蕾挥发油成分研究[J].中草药, 2000, 31(9): 657-658
- [3]茅青,曹东,贾先生.灰毡毛忍冬化学成分的研究.药学报, 1993, 28(4): 273-278
- [4]周日宝,童巧珍.灰毡毛忍冬与正品金银花的绿原酸含量比较.中药材, 2003, 26(6): 399-400
- [5]王晓明,罗金塔,马社军等.金银花(灰毡毛忍冬)新品种选育.湖南林业科技, 2004, 31(6): 15-17
- [6]王晓明,易霞琴,宋庆安等.灰毡毛忍冬新品种组织培养的无菌体系建立, 2005, (23): 14-16
- [7]王晓明,李永欣,聂启英.金银花组织培养的研究进展[J]. 湖南林业科技, 2006, 33(4): 1-3
- [8]鼓立理,童明控.活性炭在甜樱桃组织培养中的应用[J]. 落叶果树, 2001, 3:7-8
- [9]赖家业,杨振德.活性炭在土柠檬组织培养中的作用[J]. 广西热作科技, 1999, 73(4):10-11
- [10]刘很林,梁珍海,朱军.活性炭在植物组织培养中的作用概述[J]. 江苏林业科技, 2001, 28(5): 46-47

(责任编辑:王团荣)