

蓝刺头组培快繁技术的研究

方兆武 傅元本 陈怀良 郑效荣 李继勇 王伟 刘捷

(江西省上饶市水稻良种场 上饶县皂头镇 334116)

蓝刺头 (Broadleaf Globethistle), 又称新疆蓝刺头, 属菊科多年生草本植物。具有很高的药用价值和经济价值。但因蓝刺头不易形成种子, 繁殖率低, 且品种繁多, 极易杂交, 导致种性不纯。因此, 生产上采用营养繁殖的方法生产种苗。近年来, 有关非洲菊和菊花组培的研究报道很多, 但关于蓝刺头的组培快繁研究至今尚未报道。本试验以蓝刺头的幼叶、茎尖和腋芽为外植体, 研究了以 MS 为基础培养基, 不同激素配比的培养基成分对蓝刺头组培增殖及生根的影响, 以筛选出合适的诱导培养基主要成分及最佳增殖和生根培养基植物生长调节剂浓度组合。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料取自上饶县银杏繁育中心引进的优良品种的植株。

1.2 试验方法

分别以刚发的腋芽、幼叶和茎尖作为外植体, 先将材料用洗洁精清洗, 自来水冲洗干净, 再用 70% 酒精消毒 30 秒, 无菌水清洗 2~3 次, 然后用次氯酸钠溶液加少量吐温 80 消毒 5~8 分钟, 无菌水冲洗 6~8 次, 滤纸吸干水分后, 即可用于接种。将幼叶切成 1cm × 1cm 小块, 茎尖切成 1cm 小段, 分别接种于诱导培养基中, 基本培养基为 MS, 附加不同种类和浓度的植物生长调节剂, 蔗糖

30g/L, 琼脂 4.5g/L, pH 值 5.8~6.0。培养室温度设定在 24~26℃, 光照强度 1500~2000lx, 光周期 12 小时 / 天。

1.2.1 丛生芽诱导。丛生芽诱导采用 2 因子 (6-BA、2,4-D)、3 水平 (6-BA 浓度分别为 0.8、1.0、1.2mg/L; 2,4-D 浓度分别为 0.1、0.2、0.5mg/L) 分别研究, 每次接种 25 个, 重复 3 次, 30 天后观察并统计愈伤组织诱导及丛生芽分化的情况。

1.2.2 试管苗继代培养。采用单元素试验设计分别研究 6-BA 和 2,4-D 的最佳浓度。6-BA 浓度分别设 0.8、1.0、1.2mg/L; 2,4-D 浓度分别设 0.2、0.4、0.6mg/L, 每次接种 30 株, 重复 3 次。30 天后观察不同激素浓度对芽苗增殖和质量的影响。

1.2.3 试管苗的生根。将生长健壮的试管苗转入 MS、1/2MS+IBA0.05、1mg/L 的生根培养基中, 每次处理芽苗 30 个, 重复 3 次, 30 天后观察生根情况, 最后炼苗并移栽到温室大棚。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

幼叶和腋芽接种到诱导培养基中 (叶背接触培养基) 在 9 种培养基中未产生愈伤组织。所以蓝刺头采用幼叶和腋芽作为外植体不易产生愈伤组织。

2.2 茎尖丛生芽的诱导

茎尖接种到诱导培养基中, 10 天后开始萌

表 1 茎尖在不同培养基上诱导分化情况

6-BA	2,4-D	接种数 (个)	成活数 (个)	丛生芽数 (个)	分化率 (%)	丛生芽长势
0.8	0.1	25	20	9	45	细、弱
0.8	0.2	25	21	10	47.61	慢、弱
0.8	0.5	25	24	13	54.16	慢、弱
1	1.1	25	25	16	64	较壮
1	0.2	25	24	24	100	健壮
1	0.5	25	24	23	95.83	较壮
1.2	0.1	25	22	18	81.81	慢、较壮
1.2	0.2	25	22	17	77.27	慢、较壮
1.2	0.5	25	23	16	69.56	慢、弱

动,20天左右培养基的切口处长出一团近圆形的愈伤组织块,30天左右分化出丛生芽,其愈伤组织诱导和丛生芽分化情况见表1。

结果显示,6-BA对茎尖丛生芽诱导的影响较大。当6-BA浓度为0.8mg/L时,丛生芽诱导率低;6-BA浓度为1.0mg/L时效果最好,丛生芽平均分化数最高,长势也很好;当6-BA浓度达到1.2mg/L时丛生芽数目明显降低;当6-BA浓度为1.0mg/L、2,4-D浓度为0.2mg/L时,丛生芽诱导率

达到最高达100%。综上所述,培养基MS+6-BA 1.0mg/L+2,4-D 0.2mg/L是茎尖的最佳丛生芽分化培养基。

2.3 试管苗增殖

将诱导出的丛生芽单个切下,转入增殖培养基中,约7天后,芽基部开始形成4~6个丛生芽,同时愈伤组织块周围不断形成大量小芽。30天后观察记录丛生芽的增殖情况。

从表2可以看出,不同培养基的增殖效果及

表2 不同培养基的增殖效果

6-BA	2,4-D	接种数(个)	增值芽数(个)	增值倍数	芽类型及质量
0.8	0.2	30	109	3.63	单芽,颜色清绿
0.8	0.4	30	110	3.66	单芽,颜色深绿
0.8	0.6	30	134	4.46	复芽,纤细
1.0	0.2	30	179	5.96	单复芽各一半,清绿
1.0	0.4	30	235	7.83	单芽较壮,颜色深绿
1.0	0.6	30	160	5.33	复芽,纤细
1.2	0.2	30	123	4.10	单芽,纤细,浅绿
1.2	0.4	30	144	4.80	复芽,纤细
1.2	0.6	30	164	5.46	复芽,纤细

丛生芽的长势等表现均有明显差异,分析显示,最适宜的继代增殖培养基配方为MS+6-BA 1.0mg/L+2,4-D 0.4mg/L。

2.4 生根培养

将高约3cm生长健壮的丛生芽单个切下,转入生根培养基中,7天后芽基部开始出现白色锥状突起,继续培养10天左右根系出现,30天后统计生根率。表3结果显示,将无根苗接入不同生根培养基中,均有根生成。无根试管苗接种在MS培养基上节间迅速增长,生根缓慢,15天左右芽基部出现白色锥状突起,30天后苗高超过10cm,根长不足1cm。而接于1/2MS为基本培养基加浓度为0.5mg/L的IBA为最佳生根培养基配方。

2.5 炼苗移栽

长出根系后苗继续生长至4~5cm,根长1cm时较易炼苗移栽成活。炼苗的方法是当生根试管苗长到4~5cm时打开培养瓶,加少许自来水,在培养室锻炼3~4天,使其适应外部环境条件;后移栽于育苗盆,基质为珍珠岩和腐殖质土(比例3:1)置于温室大棚,前期湿度控制在80%以上,

表3 不同生根培养基的培养效果

基本培养基	IBA (mg/L)	接种数 (个)	生根苗数 (株)	生根率 (%)	平均根数 (条)
MS	0	30	24	80	11
1/2MS	0	30	26	86.66	9
1/2MS	0.5	30	29	96.66	17
1/2MS	1.0	30	23	76.66	7

温度为18~25℃,并辅以遮阴措施,后期逐步接近自然状态下的温湿度条件,成活率可达90%。

3 结论

在本试验中以蓝刺头幼叶和腋芽作为外植体都没有诱导产生愈伤组织,以茎尖为蓝刺头离体快繁的外植体最容易诱导产生愈伤组织。在初代培养过程中,茎尖的最适培养基为MS+6-BA 1.0mg/L+2,4-D 0.2mg/L。在继代培中以MS+6-BA 1.0mg/L+2,4-D 0.4mg/L最适增殖培养基。蓝刺头离体培养茎尖丛生芽诱导率最高达100%,生根率最高达96.66%,完全能够满足离体快繁的需要。

(收稿:2007-09-27)