

金边瑞香的组培快繁技术研究

褚芳玲, 邓衍明 (安徽省滁州市农业科学研究所, 安徽滁州 239000)

摘要 以金边瑞香的茎段为外植体, 在 MS 基本培养基中添加不同浓度的 6-BA 和 NAA, 采用侧芽诱导法快速繁殖, 研究了金边瑞香的组培快繁技术。结果表明, 最佳启动培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1~0.2 mg/L, 最佳增殖培养基是 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 最佳生根培养基为 1/2MS+NAA 0.5 mg/L, 生根率 100%, 且根系发达。经过该试验的驯化移栽, 试管苗成活率达 85% 以上。

关键词 金边瑞香; 组织培养; 快繁

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)18-05370-01

Studies on the Tissue Culture and Rapid Propagation of *Daphne odora* Var. Marginata

CHU Fang-ling et al (Chuzhou Agricultural Institute, Chuzhou, Anhui 239000)

Abstract With the stem segments of *Daphne odora* var. marginata as explants, the tissue culture and rapid propagation techniques of *Daphne odora* var. marginata were studied with lateral bud revulsion and adding different concentration of 6-BA and NAA on the MS medium. The results showed that the best initiated medium in culture was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1~0.2 mg/L and the best proliferation medium was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L. The optimum shoots rooting medium was 1/2MS+NAA 0.5 mg/L, with the rooting of 100% and developed roots. The survival rate of test tube plantlets was over 85% after the plantlet acclimation transplanting experiment.

Key words *Daphne odora* var. marginata; Tissue culture; Rapid propagation

金边瑞香 (*Daphne odora* var. marginata) 属瑞香科瑞香属常绿灌木, 其叶有金黄色边缘, 花紫色, 香气浓烈, 以芬芳闻名。除观赏外, 还有较高的药用价值, 是近年来花卉市场很受欢迎的鲜花之一, 市场潜力很大。金边瑞香用常规手段扦插或高枝压条法繁殖, 繁殖系数较低, 而组织培养可大大加快种苗繁殖速度。为此, 笔者进行了金边瑞香组培快繁技术研究。

1 材料与方法

1.1 材料 从花卉市场购买盆栽金边瑞香作为母株, 采取当年生健壮无病的幼嫩茎段作为外植体。

1.2 方法

1.2.1 启动培养。 选择健壮无病的当年生幼嫩茎段, 洗涤后用 70% 酒精消毒 30 s, 无菌水冲洗 3~4 次, 用浓度为 0.1% 升汞(加 2~3 滴吐温-80)消毒 8 min, 无菌水冲洗 6~8 次, 放在灭菌的滤纸上将水分吸干, 切成 5~10 mm 带单芽茎段接种到启动培养基, 每瓶接种 1 个茎段。初期培养时要将无污染的茎段每 3 d 转移到原培养基新的部位上, 连续 2 次, 以减少受伤组织渗出的酚类物质对外植体的毒害。启动培养基分别以 B5、1/2B5、MS、1/2MS 为基本培养基, 添加相同浓度的 6-BA 和 NAA, 以筛选最优的基本培养基。再以最优的基本培养基添加不同浓度的 6-BA 和 NAA, 以筛选最佳的激素配比。培养基加蔗糖 30 g/L, 琼脂 6.5 g/L, pH 值为 5.6。培养条件为温度 (23±1)℃, 光照周期 14 h/d, 光照强度 2 500 lx。

1.2.2 继代增殖培养。 将侧芽诱导获得的 2~4 cm 长的无根苗切下, 切成 1 cm 长带 2~3 片叶的茎段, 接种到增殖培养基上。增殖培养基以 MS 为基本培养基, 以不同浓度的 6-BA 和 NAA 为外源激素。其他同启动培养基。

1.2.3 生根培养。 将增殖培养获得的丛生苗单株切下, 接种到生根培养基诱导生根。生根培养基以 1/2MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 NAA, 其他同启动培养基。每处理接种 30 瓶, 30 d 后调查结果。

1.2.4 驯化移栽。 先于温度为 20~25℃, 湿度为 60%~70% 的培养室内打开瓶口驯化 1 周, 然后取出试管苗, 冲净根部培养基, 栽于温室内洗净的河沙中, 并用塑料膜罩住以保持湿度, 待小苗长到 3 cm 左右, 根系较为发达时可加大通风量, 定期浇水和稀释的营养液, 1 个月后可移栽到土壤中。

2 结果与分析

2.1 最佳启动培养基的筛选 不同基本培养基对金边瑞香的启动培养影响较大, 培养 2 周后 MS 培养基上的外植体萌发率最高, 生长速率最大, 侧芽 1 周左右便可萌发, 4 周左右可长到 2~4 cm 长。1/2MS 培养基上的外植体虽然也萌发但芽细弱。B5 和 1/2B5 培养基上的外植体萌发较少, 长势较弱, 随着培养时间的增加逐渐萎蔫, 最终死亡。启动培养基筛选试验以 MS 为基本培养基, 添加不同浓度的 6-BA 和 NAA, 设 11 种组合, 对金边瑞香外植体进行培养。由表 1 可见, 单独使用 6-BA 或 NAA 对侧芽的诱导率都很低, 长势也不好, 而二者配合使用可大幅度提高诱导率。6-BA 和 NAA 浓度都在 0.1 mg/L 时诱导率低, 长势一般; 当 6-BA 浓度达 1.0 mg/L 时, 相应的在 NAA 的 3 个浓度梯度中都达到了萌发率最高, 长势最好, 尤以 NAA 浓度为 0.1 和 0.2 mg/L 时最好, 2 周后便可见腋芽萌发, 因而确定最佳启动培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1~0.2 mg/L。

表 1 不同浓度的激素对比对金边瑞香启动培养的影响

处理	6-BA mg/L	NAA mg/L	2 周后萌发 率/%	4 周后 长势
①	0	0.5	30.1	能生长
②	0.5	0	31.4	能生长
③	0.1	0.1	49.3	能生长
④	0.1	0.2	58.6	一般
⑤	0.1	0.5	52.7	一般
⑥	0.5	0.1	73.4	良好
⑦	0.5	0.2	76.9	良好
⑧	0.5	0.5	78.5	良好
⑨	1.0	0.1	98.5	旺盛
⑩	1.0	0.2	97.9	旺盛
⑪	1.0	0.5	82.6	良好

注: 接种数均为 20 个。

2.2 最佳增殖培养基的筛选 在金边瑞香增殖培养中, 不

(下转第 5378 页)

作者简介 褚芳玲(1979-), 女, 安徽巢湖人, 助理农艺师, 从事作物组培脱毒和花卉组培快繁技术的研究。

收稿日期 2007-03-22

谱中表现颜色较深,父本谱带(17+18)颜色较浅,编号 22 宁 J210(1,7+9,5+10)/宁春 13 号/(1,17+18,5+10)的 F_1 代中,母本 HMW-GS 谱带(7+9)在电泳图谱中表现颜色较深,父本谱带颜色较浅,认为这是基因的母 2 父 1 的趋势。李保云,刘广田等认为这是母本的 HMW-GS 谱带比父本的强,是倾母现象(其本质也是剂量效应),但与小麦双受精和 3N 胚乳形成时来源于母本和父本的遗传物质比例不同(母本 2/3,父本 1/3),其真正原因有待进一步研究。

2.4 HMW-GS 的遗传畸变和不完全表达 杂交组合的 F_1 籽粒的亚基图谱中,除具双亲共显外,有某些非亲本型条带,即遗传畸变。如编号 27-1188-1/宁春 13 号的组合中 B_1 位点本应表达 17+18,后代图谱中却多了 2 条非父非母的带型 7+9;编号 17-宁春 32 号/宁春 13 号组合中 B_1 位点本应表达 7+8 和 17+18 共 4 条带,后代图谱中却只显了 7 和 1 条介于 8 和 10 之间的非亲本型的 9 号带,同时出现 8、17、18 条带缺失的现象;编号 14-宁春 17 号/宁 J210 的组合中本应表达宁春 17 号 2* 和父本宁 J210 的 1,结果却出现了 1、2* 都缺失的现

(上接第 5370 页)

同浓度激素配比,芽的增殖效果有差异。由表 2 可知,当 6-BA 的浓度过低时,愈伤组织的诱导率低。6-BA 的浓度高,有利于愈伤组织的诱导,当 6-BA 的浓度达 2.0 mg/L 时,愈伤组织诱导率最高,达 90%,愈伤组织上的不定芽分化率也高。NAA 的浓度在 0.1~0.2 mg/L 对愈伤组织诱导无显著的差异。但 6-BA 的浓度不能过高,如处理③,虽诱导率和分化率都较高,但经过 2~3 次继代培养,玻璃化相当严重,对大规模快繁产生影响。综合以上因素,MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 用于金边瑞香的增殖最好。

表 2 不同浓度的 6-BA 和 NAA 对金边瑞香增殖的影响

处理	6-BA mg/L	NAA mg/L	愈伤组织诱 导率//%	不定芽分 化率//%	增殖 系数
①	0.5	0	0	0	0
②	0.5	0.1	10.02	30.22	2.9
③	0.5	0.2	25.37	33.14	3.1
④	1.0	0.1	48.67	62.10	4.3
⑤	1.0	0.2	56.78	59.28	3.9
⑥	2.0	0.1	89.16	86.67	7.9
⑦	2.0	0.2	90.23	90.33	8.5
⑧	3.0	0.2	88.05	89.28	8.4

2.3 最佳生根培养基筛选 将生长健壮的 3 cm 长丛生苗单株切下,接种到生根培养基上进行培养。结果在 1/2MS+NAA 0.5 mg/L 培养基的生根效果最好(表 3),15 d 左右可见茎基部有根生成,30 d 后可生根 2~5 条,生根率 100%,且根系发达。处理①、②生根率虽高,但根系较弱,不易移栽成活。

象,推测可能是在减数分裂的过程中出现不对等造成的。于是结构基因的丢失还是沉默或是试验误差引起的,难以确定。对于出现的非亲本型的亚基,是由遗传畸变引起的,还是由亲本间的亚基重组等引起的其原因也尚待研究。

因此,在亲本选配上,要选择具有优质亚基的材料做亲本,选配组合时应以高蛋白材料作为亲本之一,尤其在杂交亲本选配中要重视母本的优质亚基。同时两亲本正反交时 Glu-1 位点的复等位基因在 F_1 代籽粒中有差异,因此选配组合时有必要进行正反交。

参考文献

- [1] 雷玲,高翔.小麦高分子量谷蛋白亚基遗传规律及其品质效应之研究进展[J].中国农学通报,2005,21(11):56-59.
- [2] 潘幸兰,潘登魁,潘前颖,等.小麦 F_1 籽粒及植株中的遗传畸变[J].麦类作物学报,2002,22(4):28-30.
- [3] 李硕碧,高翔.小麦高分子量谷蛋白亚基与加工品质[M].北京:中国农业出版社,2001.
- [4] 聂琼,徐如宏,张庆勤,等.小麦杂交后代贮藏蛋白的遗传多样性分析[J].贵州大学学报,2002,21(4):235-240.
- [5] 李红霞,魏亦勤,董建力,等.宁夏近 50 年不同时期小麦品种高分子量麦谷蛋白亚基遗传变异分析[J].干旱地区农业研究,2006,24(4):204-209.

表 3 不同培养基对金边瑞香试管苗生根的影响

处理	NAA mg/L	30 d 平均生 根率//%	30 d 平均生 根数//条	平均根长 cm
①	0.1	80	1.9	1.6
②	0.2	85	2.4	1.5
③	0.3	100	3.5	2.1

3 结论与讨论

通过对金边瑞香进行组织培养及快繁技术研究,明确了最佳启动培养基是 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1~0.2 mg/L;在增殖快繁中,最佳激素配比是 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。最佳生根培养基是 1/2MS+NAA 0.5 mg/L。在金边瑞香的增殖快繁中要掌握和控制增殖率和玻璃化问题,二者是一对矛盾。为提高增殖系数可适当增加细胞分裂素 BA 的用量,但浓度的提高会促进玻璃化的产生,所以在增殖继代培养中要特别注意 BA 用量的控制。同时 NAA 的结合使用对其增殖有一定的促进作用。由于在继代培养中增殖系数较高,导致部分试管苗细弱,因此在作生根培养时,要选取长势较好的试管苗用于生根,可适当提高生根率和成活率。组培苗炼苗技术是否适宜对金边瑞香的规模化生产影响较大,该试验的驯化移栽,试管苗成活率达 85% 以上。

参考文献

- [1] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991:340.
- [2] 刘慧.金边瑞香的生物学特性及其栽培要点[J].江西园艺,2003(4):34-36.
- [3] 马宗新,汪茂斌.组培苗的炼苗技术[J].安徽农业科学,2000,28(4):420-421.

本刊提示 文稿题名下写清作者及其工作单位名称、邮政编码;第一页地脚注明第一作者简介,格式如下:“作者简介:姓名(出生年-),性别,籍贯,学历,职称或职务,研究方向”。提供详细通讯地址、联系电话。