

临沂市银雀花组织培养技术研究

樊青峰

(临沂市农业科学院,山东临沂 276012)

摘要 以银雀花的茎段为外植体,通过对不同基本培养基、不同植物生长调节剂种类和浓度的筛选,建立银雀花的组织培养再生体系,为银雀花的组织快繁提供技术指导。结果表明,初代培养宜选用培养基 MS+1.2 mg/L 6-BA+0.15 mg/L NAA;最佳增殖培养基为 MS 中添加 0.4 mg/L TDZ,诱导形成 4~5 个丛生芽,将嫩茎接种在添加 0.75 mg/L NAA 的 1/2 MS 培养基中,生根率为 83.0%。

关键词 银雀花;组织培养;再生体系;山东临沂

中图分类号 S688 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2019)12-0103-01

金雀花、银雀花是临沂市两大地方性花卉,也是与金雀山和银雀山地名相匹配的名优特色花卉,与临沂历史文化紧密相连。金雀花、银雀花在临沂市种植历史悠久^[1],但是由于种种原因已濒临灭绝。由于近年来绿色食品和食花文化的兴起,对金雀花、银雀花及其种苗的需求与日俱增,因人为采摘花朵及环境影响等导致其结实率低,而分株和扦插繁殖系数也低,无法满足市场需求。目前,仅对金雀花食用价值、药物成分、栽培管理和组织培养开展了研究^[2-3],但对于银雀花组织培养的报道极少。因此,本文研究不同植物生长调节剂种类和浓度诱导丛生芽,建立银雀花组织培养再生体系,以期实现种苗快速繁育,满足临沂地方花卉产业种苗需求。

1 材料与方法

1.1 试验材料

分别于 2016 年 4 月和 5 月在临沂市农业科学院试验基地多年生的银雀花上采取半木质化枝条作为试材。

1.2 试验方法

1.2.1 材料灭菌。剪取银雀花生长健壮的枝条,流水冲洗 30 min,然后在超净工作台上用 75%乙醇处理 10 s,再用 0.5% 次氯酸钠灭菌 15 min,无菌水冲洗 3~4 次。将材料切成带腋芽的长 1.0 cm 茎段,每个茎段带 1 个腋芽,接种到诱导培养基。

1.2.2 初代培养。试验采用 3 因素 3 水平正交设计,研究基本培养基和植物生长调节剂对初代培养的影响。基本培养基为 MS、WPM 和 LP;植物生长调节剂为 6-BA 0.4、0.8、1.2 mg/L;NAA 0.05、0.10、0.15 mg/L。每个处理接种外植体 10 个,3 次重复,30 d 时统计成活率。成活率(%)=(成活外植体/接种总数)×100。

1.2.3 无菌苗增殖培养。基本培养基为 MS,在培养基中分别添加 TDZ 0、0.2、0.4、0.8、1.0 mg/L,然后均添加 0.15 mg/L NAA,研究不同浓度的 TDZ 对增殖的影响。外植体 10 个,重复 3 次,30 d 时统计增殖系数。增殖系数=增殖后的总芽数/接种芽数。

1.2.4 生根培养。在 1/2 MS 培养基中分别添加 0、0.25、0.50、0.75、1.00 mg/L NAA,研究不同质量浓度的 NAA 对生根的影响。每个处理接种外植体 10 个,先暗培养 7 d 后再转入光下培养。3 次重复,30 d 时统计生根率。生根率(%)=(生根芽数/接种芽数)×100。

培养条件:除生根培养基添加 20.0 g/L 蔗糖外,其余添加 30.0 g/L 蔗糖;均添加 6.0 g/L 琼脂,pH 值 5.6~5.8。光照时

间为 12 h/d,光照强度为 2 000 lx,培养温度为(25±1)℃。

2 结果与分析

2.1 基本培养基和植物生长调节剂对茎段腋芽萌发诱导的综合影响

将材料切成带腋芽的长 1.0 cm 的茎段消毒后接种到不同的诱导培养基上,10 d 后即可萌发,30 d 后统计萌发率。MS 成活率最高,平均成活率为 45.9%,MS 培养基上生长的芽粗壮;在 WPM 和 LP 上的萌发效果基本相同,平均成活率分别为 35.6%和 35.1%,生长后期小叶有黄化脱落现象。从表 1 可以看出,在 MS 培养基添加 0.15 mg/L NAA 和 1.2 mg/L 6-BA 腋芽的成活率最高,为 58.5%,且差异显著。

表1 基本培养基和植物生长调节剂对外植体初代培养的影响

基本培养基	NAA/mg·L ⁻¹	6-BA/mg·L ⁻¹	成活率/%
MS	0.05	0.4	38.6 bc
MS	0.10	0.8	40.6 bc
MS	0.15	1.2	58.5 a
WPM	0.05	0.8	39.8 bc
WPM	0.10	1.2	36.9 bc
WPM	0.15	0.4	33.5 bc
LP	0.05	1.2	27.5 c
LP	0.10	0.4	46.3 ab
LP	0.15	0.8	31.4 c

2.2 不同浓度 TDZ 对增殖的影响

将诱导的腋芽新梢切下,转接到增殖培养基上。试验结果(表 2)表明,无菌苗随着 TDZ 浓度的增加,增殖系数呈上升趋势,并生成了丛生芽;但当 TDZ 浓度达到 0.8 mg/L 时,增殖系数为 4.8,出现玻璃化现象;当 TDZ 浓度达 1.0 mg/L,基部愈合组织多,不定芽生长缓慢。因此,增殖培养基中添加 0.4 mg/L 为 TDZ 最佳浓度。

表2 不同浓度 TDZ 对增殖的影响

TDZ 浓度/mg·L ⁻¹	接种数/个	>0.5 cm 嫩茎数/个	增值倍数
0	30	40	1.3 c
0.2	30	110	3.7 b
0.4	30	136	4.5 a
0.8	30	144	4.8 a
1.0	30	122	4.1 b

2.3 不同浓度 NAA 对无菌苗生根的影响

试验结果(表 3)表明,在 NAA 质量浓度为 0.25~1.00 mg/L 范围内,随着浓度升高,生根率上升;在 0.75 mg/L 时,诱导根系粗壮,平均根数为 3.6 条,差异显著。当 NAA 为 1.0 mg/L

(下转第 105 页)

年生苗在 3.0 万~6.0 万株/hm² 密度范围内,折合产量随密度的增加而增加;五年生苗在 3.0 万~6.0 万株/hm² 密度范围内,折合产量随密度的增加而减少。

对单株产量进行方差分析,结果表明,四年生苗木处理 B₁、B₂、B₃ 之间没有显著性差异,五年生苗木各处理之间差异

显著,说明四年生苗木产量受密度影响较小,五年生苗木单株产量受密度影响较大。这是因为四年生苗木刚进入结果期,单株产量少,受密度影响不明显;而五年生苗木已进入丰产期,若栽培密度高,一方面影响叶片的光合作用,使植株体内的有机物积累较少,另一方面影响圃地的通风条件和植株授

表 2 不同密度对产量的影响

处理	密度 万株·hm ⁻²	四年生苗		五年生苗	
		单株产籽量/g	折合产量/kg·hm ⁻²	单株产籽量/g	折合产量/kg·hm ⁻²
B ₁	3.0	43.5±0.1 a	1 305.0±3.0	75.5±0.3 d	2 265.0±7.5
B ₂	4.5	43.1±0.2 ab	1 941.0±9.0	47.3±0.3 e	2 130.0±12.0
B ₃	6.0	42.8±1.7 abc	2 566.5±100.5	34.2±0.4 f	2 052.0±24.0

粉,导致圃地植株结实量降低,进而影响其产量^[2]。

结果表明,各处理折合产量受密度的影响较大。不同苗龄最佳密度不同,在生产中为减少间苗和节省劳力成本,定植密度以 3.0 万株/hm² 左右最佳。

2.3 平茬试验分析

平茬措施是指从地面或者地面上的一定高度将植株剪平,从而刺激枝条萌发的一项技术手段^[3]。其机理主要是去除顶端优势,使营养集中,同时减少生长抑制剂的含量,解除其抑制作用,从而控制主枝生长,促进侧枝和根蘖萌发,扩大树冠的光合面积,使植株发枝多而整齐^[4]。董利君提出,油用牡丹在种植的第 2 年秋季可以进行 1 次平茬^[5]。本试验于 2017 年 11 月在峰峰北神岗村的凤丹牡丹落叶时,统一在距地面 1 cm 高度处(栽植时已在根茎上 2 cm 高度处封土)进行平茬,2018 年对平茬和不平茬处理的产量情况进行调查,结果如表 3 所示。

表 3 平茬措施对产量的影响

处理	技术措施	枝条数	密度 万株·hm ⁻²	单株产量 g	折合产量 kg·hm ⁻²
C ₁	平茬	6±1	3	105.0±16.0	3 150.0±478.5
C ₂	不平茬	4±1	3	87.5±10.6	2 625.0±318.0

可以看出,平茬组枝条数增加明显,单株产量和折合产量均增加 20%。这是由于凤丹牡丹的顶端优势强,只有顶芽可以开花,下方侧芽不开花,平茬后顶端优势被抑制,一级分枝数和产量明显增加,可提前进入丰产期。平茬措施是促进凤丹牡丹丰产的有效措施,生态效益和经济效益显著。

(上接第 103 页)

时,生根率较高,但基部形成大量愈合组织,生根倍数有所下降,不利于后期生长。

表 3 不同浓度 NAA 对生根的影响

NAA/mg·L ⁻¹	生根率/%	生根倍数
0	6.6 d	1.0
0.25	53.3 c	1.9
0.50	66.7 b	3.4
0.75	83.0 a	3.6
1.00	80.0 a	2.7

3 结论与讨论

银雀花组培快繁过程中,选择合适的培养基是组培快繁成功的关键之一^[6]。本试验结果表明,初代培养以 MS+1.2 mg/L 6-BA+0.15 mg/L NAA 培养基为宜,可以获得较高的成活率。在增殖培养过程中,在一定范围内,TDZ 随着

3 结论与讨论

试验结果表明,核桃与凤丹牡丹间作的效果较好;不同苗龄最适密度不同,4 年以上苗龄定植最适密度为 3 万株/hm² 左右。平茬是一项极其有效的丰产措施,凤丹牡丹平茬后枝条数明显增加,产量可增加 20%,但也不是枝条数越多越好,枝条数多,则果荚数多,籽粒容易干瘪,影响产量。因此,枝条达到一定数量后,应加强修剪。牡丹定植后 2~3 年内应培养主枝,每株选留 3~4 个主枝,在主枝上逐年增加侧枝。成形后的株丛,每株花枝数视生长空间保持 12~15 个,形成适度开张较为牢固的丰产树形^[6]。

本试验的创新性在于针对生产实际提出了当地最适宜的种植模式和最佳种植密度,为当地凤丹牡丹丰产稳产提供了理论依据,对推进当地油用牡丹生产有指导意义。不足之处在于,间作的最佳株行距及平茬的最佳时间和高度等还有待进一步试验研究。

4 参考文献

- [1] 王晓静,马慧丽,郭丽丽,等.种植密度对油用牡丹‘凤丹’形态性状和产量的影响[J].北方园艺,2018(3):101-108.
- [2] 王文文,吴三林,廖鸿.海拔和栽培密度对油用牡丹产量品质的影响[J].南方农业,2017,11(34):73-76.
- [3] 周鸣惊.平茬对牡丹移栽苗生长及生理特性的影响[D].武汉:华中农业大学,2017.
- [4] 吴敬须,张飞鸟.“平茬”措施之我见[J].花木盆景:花卉园艺,1992(6):6.
- [5] 杨静莹.株行距配置及平茬高度对油用牡丹‘凤丹’的影响研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2017.
- [6] 鲁丛平,杨彦伶,陈慧玲,等.‘凤丹’油用牡丹丰产栽培技术[J].湖北林业科技,2015(44):83-84.

浓度的增加,有利于增殖,并较好诱出丛生芽;在 0.4 mg/L 的条件下 TDZ 增殖效果最好,增殖系数可达 4.5;但浓度过高反而抑制芽的再生,导致芽苗玻璃化等现象。生根以 1/2 MS 基本培养基中添加 0.75 mg/L NAA 生根效果最好。

4 参考文献

- [1] 张谦,刘延刚,彭金海,等.临沂市金雀花的植物学特性及盆景制作技术[J].农业科技通讯,2013(5):263-256.
- [2] 李洪文.多功能野生物种:金雀花繁苗用丰产栽培技术[J].耕作与栽培,2003(4):27-28.
- [3] 樊建,赵天瑞,李永生,等.野生金雀花营养成分研究[J].昆明理工大学学报(理工版),2006,31(2):97-99.
- [4] 陈家龙,朱建军,吴秀水,等.金雀花组织培养与快繁[J].浙江农林大学学报,2013,30(4):611-614.
- [5] 马青,唐民科.线叶金雀花的研究进展[J].世界科学技术-中医药现代化,2018,20(6):998-1003.
- [6] 陈家龙,朱建军,陈功楷,等.金雀花花期促成栽培研究[J].上海农业学报,2014,30(4):57-61.