

南程慧,薛晓明,伊贤贵,等.迎春樱组培快繁体系研究[J].江苏农业科学,2019,47(1):48-52.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.01.011

# 迎春樱组培快繁体系研究

南程慧<sup>1</sup>,薛晓明<sup>1</sup>,伊贤贵<sup>2</sup>,王贤荣<sup>2</sup>,汤庚国<sup>2</sup>

(1.南京森林警察学院,江苏南京 210023; 2.南京林业大学,江苏南京 210037)

**摘要:**以 MS+0.1 mg/L NAA 为基本培养基,迎春樱无菌初代培养材料于 2~4 mg/L 6-BA 诱导 10 d 后转接于 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA 培养基上,增殖系数为 5.9~10.7;壮苗培养以 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA+1.0 mg/L GA<sub>3</sub>+5 g/L 琼脂为宜,材料后期生长旺盛,培养基污染率低,材料于 C<sub>1</sub> 中诱导 10 d 后转接于此培养基,增殖系数为 8.2,丛芽健壮;以 3/4MS 为基本培养基,NAA 浓度为 0.04~0.08 mg/L 时,生根率为 91.5%~100.0%,不定根较多,茎叶健壮;生根苗开瓶后直接移栽于 V<sub>细沙</sub>:V<sub>珍珠岩</sub>:V<sub>蛭石</sub>=1:1:1 组成的基质穴盘中,培养室中生长 20 d 时成活率为 93.8%。

**关键词:**迎春樱;组培;培养基;增殖系数;生根率;快繁体系

**中图分类号:** S685.120.4<sup>+</sup>3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)01-0048-04

迎春樱 (*Cerasus discoidea*) 属蔷薇科 (Rosaceae) 樱属 (*Cerasus*)<sup>[1-2]</sup>,是我国野生樱花资源中的特有种;伞形花序,着花 1~3 朵,花色粉红,2—3 月先叶开放,为早春优质的观赏花木;主要分布于安徽南部、江西东北部、浙江大部等地的山谷林中或溪边灌丛中海拔 200~1 100 m 处。

迎春樱作为华东低海拔山区重要的春花树种,南京、杭州、武汉、南昌、上海、无锡、长沙等地已对其进行园林利用,但多为直接的野外成树移植,这对其野生资源的自然更新造成一定的破坏,科学合理的引种繁育体系鲜见报道<sup>[3]</sup>。野外调查结果显示,由于受人为开发、自然繁殖衰退等因素的影响,野生迎春樱的种群数量有逐渐减少的趋势。为合理保护和开发利用野生迎春樱资源,建立科学快速的无性繁育体系,在前期已获得无菌外植体的基础上,本研究对其组培快繁体系的建立进行了系统的研究,以期对迎春樱的合理开发利用及保护提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

在前期组培无菌外植体研究的基础上,以 0.2 g/L GA<sub>3</sub> 处理过的迎春樱种子为试验材料<sup>[4-5]</sup>,于温度为 15℃、光照度 1 500~2 000 lx、光暗周期 16 h/8 h 的光照培养箱中培养 30 d 左右,以具有 2 张真叶的无菌沙床苗为外植体材料。

### 1.2 试验条件

培养室温度为 (23±2)℃,光照度为 1 500~2 000 lx,每天光照 16 h。

### 1.3 试验方法

1.3.1 丛芽诱导与增殖试验 选用光照培养箱培养 30 d 左

右的迎春樱沙床苗为外植体材料,剪去幼根,无菌水浸洗 3 遍,70% 乙醇浸洗 30 s 后,无菌水浸洗 3 遍,再用 0.2% HgCl<sub>2</sub> 溶液浸洗 3 min 后,无菌水浸洗 5~6 遍,置于灭菌滤纸上吸干材料表面水分后,将每个材料剪成带子叶和真叶的茎段接种于 MS+1 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA 的启动培养基上;培养室中培养 30 d 左右,选择无菌增殖芽进行丛芽的诱导与增殖。丛芽诱导与增殖以 MS 为基本培养基,含 30 g/L 蔗糖、7 g/L 琼脂粉,附加 0.5~6.0 mg/L 细胞分裂素 6-BA、0.05~0.40 mg/L 生长素 NAA,pH 值为 5.8。采用梯度和交叉配比的方法进行目的培养基的筛选试验,30 d 时进行观测统计。

1.3.2 继代壮苗试验 以 MS 为基本培养基<sup>[6-10]</sup>,附加 0.5 mg/L 细胞分裂素 6-BA、0.05 mg/L 生长素 NAA、0.5~2.0 mg/L GA<sub>3</sub>、4~7 g/L 琼脂粉,pH 值 5.8,蔗糖 30 g/L,采用梯度和交叉配比的方法进行壮苗培养基的筛选试验。

1.3.3 生根培养试验 分别以 1/4MS、1/2MS、3/4MS、MS 为基本培养基,附加 0.2~1.0 mg/L 生长素 NAA,采用梯度和交叉配比的方法进行生根培养基的筛选试验。

1.3.4 试管苗移栽试验 选取生根培养 40 d 左右的健壮生根苗,分别采用开瓶炼苗 5 d 后移栽<sup>[11-15]</sup>和开瓶后直接移栽的方法<sup>[12]</sup>进行试管苗的移栽试验,生根苗出瓶时须清水冲洗干净,并用 0.1% 多菌灵蘸根处理;在参考前人试验的基础上<sup>[13]</sup>,选用高温灭菌过的 V<sub>细沙</sub>:V<sub>珍珠岩</sub>:V<sub>蛭石</sub>=1:1:1 组成的基质作为栽培基质,于穴盘中生长 20 d 后观测统计试管苗移栽成活情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素对比对丛芽诱导与增殖的影响

沙床苗转接至 MS+1 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA 初代培养基上,培养 40 d 时增殖系数为 2.2,增殖芽数量少,难以满足组培快繁的需要;在前期的预试验中,高浓度的 6-BA 刺激可诱导丛芽发生,据此笔者在初代培养基上,通过对 6-BA、NAA 的浓度进行梯度和交叉配比的方法来探讨外源激素对迎春樱丛芽诱导与增殖的影响(表 1)。

收稿日期:2017-12-14

基金项目:中央高校基本科研业务经费资助项目(编号:LGZD201506)。

作者简介:南程慧(1982—),男,河南汝州人,博士,讲师,主要从事树木学及植物分类学研究。E-mail:306375895@qq.com。

表1 不同浓度6-BA、NAA 对比对丛芽诱导与增殖的影响

培养基编号	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	接种芽数 (株)	增殖系数	诱导结果
A <sub>1</sub>	0	0.10	45	1.0	淡白色不定根
B <sub>1</sub>	2.0	0.10	45	1.0	紫红色愈伤组织
C <sub>1</sub>	4.0	0.10	45	1.0	紫红色愈伤组织
D <sub>1</sub>	6.0	0.10	45	1.0	紫红色愈伤组织
E <sub>1</sub>	1.0	0	45	2.1	淡绿色丛芽
F <sub>1</sub>	1.0	0.10	45	2.2	淡绿色丛芽
G <sub>1</sub>	1.0	0.20	45	1.7	丛芽及黄绿色愈伤组织
H <sub>1</sub>	1.0	0.30	45	1.2	丛芽及黄绿色愈伤组织
I <sub>1</sub>	1.0	0.40	45	1.1	丛芽及黄绿色愈伤组织
J <sub>1</sub>	0.2	0.05	45	2.7	丛芽
K <sub>1</sub>	0.4	0.05	45	3.8	丛芽
L <sub>1</sub>	0.5	0.05	45	4.1	丛芽
M <sub>1</sub>	0.6	0.05	45	4.4	丛芽
N <sub>1</sub>	0.8	0.05	45	4.8	丛芽
B <sub>1</sub> $\xrightarrow{10\text{ d}}$ L <sub>1</sub>	—	—	45	5.9	丛芽
C <sub>1</sub> $\xrightarrow{10\text{ d}}$ L <sub>1</sub>	—	—	45	10.7	丛芽
D <sub>1</sub> $\xrightarrow{10\text{ d}}$ L <sub>1</sub>	—	—	45	17.1	丛芽
B <sub>1</sub> $\xrightarrow{40\text{ d}}$ L <sub>1</sub>	—	—	45	6.5	丛芽
C <sub>1</sub> $\xrightarrow{40\text{ d}}$ L <sub>1</sub>	—	—	45	5.6	丛芽
D <sub>1</sub> $\xrightarrow{40\text{ d}}$ L <sub>1</sub>	—	—	45	1.0	愈伤组织未生长

根据 A<sub>1</sub>、B<sub>1</sub>、C<sub>1</sub>、D<sub>1</sub>、F<sub>1</sub> 试验观测结果,在 NAA 浓度为 0.10 mg/L 不变的条件下,通过对 6-BA 的浓度进行梯度和交叉配比可知,在培养基中只有外源激素 NAA 的情况下,NAA 起到促进不定根产生的作用,6-BA 在浓度为 1.0 mg/L 时可促进丛芽的产生,随着其浓度的逐渐提高,其作用由促进丛芽产生转变为促进紫红色愈伤组织产生(图 1),从而抑制了丛芽的产生;根据 E<sub>1</sub>、F<sub>1</sub>、G<sub>1</sub>、H<sub>1</sub>、I<sub>1</sub> 试验观测结果,在 6-BA 为 1.0 mg/L 不变的条件下,通过对 NAA 的浓度进行梯度和交叉配比可知,在培养基中只有外源激素 6-BA 的情况下,6-BA 则起到促进丛芽产生的作用,随着 NAA 浓度的逐渐提高,NAA 对迎春樱的影响由 A<sub>1</sub> 中的促进生根转变为促进外植体基部黄绿色愈伤组织的产生,从而抑制了不定根及丛芽的产生。由此可知,6-BA 对迎春樱的影响在于促进其丛芽的产生,NAA 则起到促进其不定根产生的作用,高浓度的 6-BA、NAA 均可促进愈伤组织的产生,从而抑制丛芽和不定根的产生。

图1 C<sub>1</sub>中培养 40 d 的愈伤苗

据 J<sub>1</sub>、K<sub>1</sub>、L<sub>1</sub>、M<sub>1</sub>、N<sub>1</sub> 试验观测结果可知,在 NAA 浓度为 0.05 mg/L 不变的情况下,6-BA 浓度在 0.4~0.6 mg/L 时丛芽生长较好,过低或过高浓度的 6-BA 均不利于迎春樱外植体高生长。外植体于 B<sub>1</sub>、C<sub>1</sub>、D<sub>1</sub> 中刺激 10、40 d 时转接至

L<sub>1</sub> 培养基中,丛芽发生明显;刺激 10 d 时转接的材料随着 6-BA 浓度的提高,丛芽增殖系数逐渐升高,其中外植体于 D<sub>1</sub> 转接至 L<sub>1</sub> 的增殖系数最大,达 17.1,部分单株增殖系数最大可达 49.5,但过高刺激产生的丛芽生长细弱,部分叶片卷缩、枯黄,出现玻璃化现象;刺激 40 d 时转接的材料随着 6-BA 浓度的提高,丛芽增殖系数下降或无从芽产生。由此可知,丛芽诱导与增殖试验时,6-BA 刺激浓度不易过高,时间不易过长,刺激浓度过高时,后期丛芽生长不良,以 2~4 mg/L 刺激浓度为宜;刺激时间过长时,外植体转变为愈伤组织,后期转接生长难以诱导丛芽,以刺激时间 10 d 左右、材料未形成明显的愈伤组织为宜。

## 2.2 继代壮苗

丛芽诱导与增殖试验中 6-BA 刺激浓度过高容易导致丛芽过多,后期生长出现丛芽细弱、叶片卷缩、枯黄、玻璃化等现象,同时丛芽增殖多、生长快需要消耗大量水分,外植体生长一段时间后容易造成培养基失水开裂,出现材料后期生长衰弱的现象;赤霉素具有促进细胞分裂和茎的伸长的作用,琼脂浓度则对培养基软硬具有调节作用,为达到继代壮苗的目的,在附加 GA<sub>3</sub> 的基础上,对 MS 培养基中琼脂浓度进行调节,以筛选出适合迎春樱后期生长的壮苗培养基。每个处理 36 个材料,30 d 后观测统计材料生长情况,具体结果见表 2。

由表 2 可知,A<sub>2</sub>、B<sub>2</sub>、C<sub>2</sub>、D<sub>2</sub> 处理中,材料叶片开展,无叶片卷缩畸形及玻璃化现象,除 B<sub>2</sub> 茎高 1.5~2.5 cm 外,各处理高生长不明显,处理间差别不大,均有少量的生根现象,B<sub>2</sub> 处理材料后期生长最好。据此可知 GA<sub>3</sub> 起到促进迎春樱叶片开展、减少玻璃化的现象,GA<sub>3</sub> 浓度为 1.0 mg/L 时,可起到促进迎春樱叶片开展、茎段伸长的目的。

以 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA+1.0 mg/L GA<sub>3</sub> 为基本培养基,对培养基中琼脂浓度进行梯度交叉配比可知,培养基中琼脂浓度≥5.5 g/L 时,30 d 观测时均有不同程度的开裂现象,其中,琼脂含量为 7.0 g/L 时,开裂率达

表2 不同浓度 GA<sub>3</sub>、琼脂比对继代壮苗的影响

培养基编号	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	GA <sub>3</sub> 浓度 (mg/L)	琼脂浓度 (g/L)	培养基开裂率 (%)	壮苗结果
A <sub>2</sub>	0	0	0.5	7.0	—	叶片开展,叶色墨绿,茎高1.0~1.5 cm,2材料生根
B <sub>2</sub>	0	0	1.0	7.0	—	叶片开展,叶色墨绿,茎高1.5~2.5 cm,7材料生根
C <sub>2</sub>	0	0	1.5	7.0	—	叶片开展,部分叶片中脉枯黄失活,叶色墨绿至黄绿,茎高1.0~1.5 cm,2材料生根
D <sub>2</sub>	0	0	2.0	7.0	—	叶片开展,部分叶片中脉枯黄失活,叶色墨绿至黄绿,茎高约1 cm,2材料生根
E <sub>2</sub>	0.5	0.05	1.0	7.0	73.3	培养基于20 d左右时逐渐开裂,后期生长减弱,新生真叶4~5张
F <sub>2</sub>	0.5	0.05	1.0	6.0	11.8	培养基部分开裂,材料后期生长旺盛,新生真叶6~8张
G <sub>2</sub>	0.5	0.05	1.0	5.5	13.6	培养基部分开裂,污染率为5.5%,材料后期生长旺盛,新生真叶6~8张
H <sub>2</sub>	0.5	0.05	1.0	5.0	0	培养基未开裂,污染率为8.3%,材料后期生长旺盛,新生真叶6~8张
I <sub>2</sub>	0.5	0.05	1.0	4.5	0	培养基未开裂,污染率为10.0%,材料后期生长旺盛,新生真叶6~8张,部分叶片畸形
J <sub>1</sub>	0.5	0.05	1.0	4.0	0	培养基呈流质状,污染率为90.9%,材料后期生长畸形
C <sub>1</sub> $\xrightarrow{10\text{d}}$ H <sub>2</sub>	—	—	—	—	0	丛芽增殖系数为8.2,叶片开展,叶色黄绿,生长健壮

73.3%,材料后期生长减弱;琼脂浓度降低,开裂率随之降低。琼脂浓度 $\leq 5.0$  g/L,30 d观测时培养基无开裂,有不同程度的污染现象;琼脂浓度 $\leq 4.0$  g/L时,培养基呈流质状或液态,接种操作困难,培养基容易污染,后期污染率高达90.9%,材料生长畸形;琼脂浓度为4.5~6.0 g/L时,培养基呈固态,接种操作容易,后期材料生长旺盛,新生真叶6~8张。由此可知,培养基琼脂浓度不宜过低或过高,以30~40 d不开裂为基准,培养基中琼脂浓度为5.0 g/L左右时,可起到继代壮苗的目的。

外植体材料于C<sub>1</sub>中培养10 d后转接至H<sub>2</sub>,30 d时观测丛芽增殖系数为8.2,叶片开展,叶色黄绿,后期生长健壮(图2),起到丛芽诱导增殖及壮苗的双重目的。

### 2.3 生根培养

由丛芽诱导与增殖试验结论可知,NAA具有促进外植体基部产生不定根的作用,依据前人的相关研究通过对MS培

图2 C<sub>1</sub>中培养10 d转入H<sub>2</sub>培养30 d的丛芽

养基中大量元素和NAA浓度进行梯度和交叉配比的方法<sup>[10-13]</sup>,探讨适合迎春樱的生根培养基。40 d时观测生根生长情况,具体配比观测结果见表3、图3。

表3 不同浓度大量元素、NAA 比对生根培养的影响

培养基编号	大量元素	NAA 浓度 (mg/L)	接种芽数 (株)	生根率 (%)	根长 (cm)	生长情况
A <sub>3</sub>	1/4MS	—	45	79.2	0.5~2.5	不定根米黄色,具少量须根;茎高未生长
B <sub>3</sub>	1/2MS	—	45	95.1	1.0~5.0	不定根米黄色,具多数须根;茎高生长1~2 cm
C <sub>3</sub>	3/4MS	—	45	94.7	1.0~7.0	不定根黄白色,具多数须根;茎高生长1~2 cm
D <sub>3</sub>	MS	—	45	96.9	1.0~4.0	不定根黄白色,具多数须根;茎高生长1~2 cm
E <sub>3</sub>	3/4MS	0.02	45	91.7	1.0~7.0	不定根黄白色,较细,具多数须根;茎高生长1~2 cm
F <sub>3</sub>	3/4MS	0.04	45	91.5	1.0~7.0	不定根黄白色,粗壮或较细,具多数须根;茎高生长1~2 cm
G <sub>3</sub>	3/4MS	0.06	45	97.6	1.0~8.0	不定根黄白色,粗壮或较细,具多数须根;茎高生长1~2 cm
H <sub>3</sub>	3/4MS	0.08	45	100.0	1.0~6.0	不定根黄白色,粗壮,具多数须根;茎高生长1~2 cm
I <sub>3</sub>	3/4MS	0.10	45	100.0	1.0~4.0	不定根黄白色,粗壮,具多数须根;茎高生长约1 cm

由表3可知,对MS培养基中的大量元素进行梯度配比,各处理均有不同程度的生根现象,A<sub>3</sub>处理生根率最低,为79.2%,40 d时根长仅0.5~2.5 cm,茎高约1 cm,生长缓慢;B<sub>3</sub>、C<sub>3</sub>、D<sub>3</sub>处理生根率均在90%以上,具不定根1~8条,不定根又具多数须根,米黄色或黄白色,B<sub>3</sub>、D<sub>3</sub>处理根长较C<sub>3</sub>短,茎高1~2 cm,叶色墨绿,生长健壮。据此可知,迎春樱为易

生根植物,MS培养基中不添加任何外源激素的情况下均有不同程度的生根现象;培养基中大量元素过低对迎春樱生根及茎叶健壮生长有不利影响,过高则对其生根造成一定的抑制作用,影响不定根的伸长,以3/4MS培养基生根效果较好,但不定根细弱,移栽容易断根。

以3/4MS培养基为基本培养基,对NAA浓度进行梯度



图3  $F_3$  中培养 40 d 的生根苗

交叉配比可知,随着 NAA 浓度的提高,不定根由细变粗,生根率也逐渐提高,培养基中 NAA 浓度达 0.08 mg/L 时,生根率可达 100.0%;NAA 浓度为 0.10 mg/L 时,生根率虽高,但茎叶生长较弱,40 d 观测时,茎高未生长,茎叶发黄,逐渐失去生长能力;NAA 浓度  $\leq 0.02$  mg/L 时,不定根细弱,NAA 作用不明显。据此可知,以 3/4MS 培养基为基本培养基,NAA 浓度对迎春樱不定根的粗细、健壮有影响,浓度过低不定根细弱,浓度过高不定根粗短,茎叶生长缓慢,NAA 浓度 0.04 ~ 0.08 mg/L 是迎春樱生根培养基的合适浓度,生根率均在 91% 以上,不定根较多,茎叶健壮。

#### 2.4 生根苗的炼苗移栽

选取  $F_3$ 、 $G_3$ 、 $H_3$  培养基中的健壮生根苗进行炼苗移栽试验,采用开瓶炼苗 5 d 后移栽于  $V_{\text{细沙}}:V_{\text{珍珠岩}}:V_{\text{蛭石}}=1:1:1$  组成的基质穴盘中的方法,20 d 时观测生根苗成活率为 9.4%;采用开瓶后直接移栽于  $V_{\text{细沙}}:V_{\text{珍珠岩}}:V_{\text{蛭石}}=1:1:1$  组成的基质穴盘中的方法,将穴盘置于培养室(培养温度、光照等条件同生根培养一致)中培养 20 d 时观测生根苗成活率为 93.8%,新生真叶 2~3 张(图 4)。



图4 生根苗移栽 20 d

据试验观测结果可知,开瓶炼苗 5 d 后培养基开裂,生根苗部分不定根暴露于空气中,干燥失水,失去活力,同时上部叶片失水萎蔫,移栽后成活率低,这种方法不适于迎春樱的炼苗移栽;迎春樱为易生根植物,生根培养不定根良好,采用直接移栽于同等温度、光照条件下炼苗移栽的方法,移栽后缓苗期短,污染率低,植株生长健壮,生根苗成活率达 93.8%,该方法较前一种方法更适于迎春樱的炼苗移栽。

### 3 讨论与结论

在 MS + 0.1 mg/L NAA 为基本培养基的条件下,6-BA 具有促进迎春樱丛芽产生的作用,浓度过高则促进愈伤组织

的产生。在丛芽诱导与增殖试验中,可采取前期高浓度 6-BA 刺激诱导丛芽,后期低浓度增殖生长的方法进行迎春樱的丛芽诱导与增殖;前期刺激 6-BA 浓度以 2~4 mg/L 为宜,刺激时间 10 d 左右,后期转接至 MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L NAA 培养基上,增殖系数为 5.9~10.7,起到丛芽诱导与增殖的目的,转接至 MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L NAA + 1.0 mg/L  $GA_3$  + 5 g/L 琼脂壮苗培养基上,30 d 时增殖系数为 8.2,起到丛芽诱导增殖及壮苗的双重目的。随着继代次数的增多,外源激素在植物体内不断积累,后期丛芽诱导与增殖可适当降低 6-BA 刺激浓度和时间。

在未附加其他外源激素的情况下,对 MS 培养基中大量元素进行梯度配比,40 d 时试管苗均有不同程度的生根现象,说明迎春樱为易生根植物;以 3/4MS 为基本培养基,NAA 浓度对迎春樱不定根的粗细、健壮有影响,NAA 浓度为 0.04~0.08 mg/L 时,生根率为 91.5%~100.0%,不定根较多,茎叶健壮,为迎春樱的合适生根培养基。生根培养 40 d 左右时,将生根苗直接开瓶移栽于  $V_{\text{细沙}}:V_{\text{珍珠岩}}:V_{\text{蛭石}}=1:1:1$  组成的基质的穴盘中,20 d 时成活率为 93.8%,新生真叶 2~3 张,成活率高,生长健壮;45 d 左右进行大田移栽,成活率在 90% 以上。

本研究表明,高浓度的 6-BA 可有效促进愈伤组织的产生,而迎春樱通过愈伤组织获得胚体再生相当困难,植物遗传转化的众多研究已证明,通过愈伤组织再生系统转化率较高。因此,在本研究的基础上,通过愈伤组织开展迎春樱胚体再生体系研究成为开展转基因工作的重要环节<sup>[16]</sup>,是迎春樱组培快繁尚需攻关完善的环节,同时,为使理论更好地应用于生产,迎春樱组培苗大田移栽后,后期成活率高低、生长健壮与否、个体变异情况是后续仍须深入研究的课题。

#### 参考文献:

- [1] 俞德浚,陆玲娣,谷粹芝,等. 中国植物志:第 38 卷[M]. 北京:科学出版社,1986:46-89.
- [2] 王贤荣. 国产樱属分类学研究[D]. 南京:南京林业大学,1997:56-58.
- [3] 南程慧. 迎春樱居群变异与繁殖生物学研究[D]. 南京:南京林业大学,2012:138-155.
- [4] 南程慧,王贤荣,汤庚国,等. 迎春樱组培无菌外植体获得方法初探[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版),2010,28(3):251-255.
- [5] 王沙生,高荣孚,吴贯明. 植物生理学[M]. 2 版. 北京:中国林业出版社,1990:303-306.
- [6] Kris P, Tess A, Jerzy N. Tissue culture propagation of Mongolian cherry (*Prunus fruticosa*) and Nanking cherry (*Prunus tomentosa*) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2005, 82(2):207-211.
- [7] Ning G G, Fan X L, Huang W J, et al. Micropropagation of six *Prunus mume* cultivars through high-frequency axillary shoot proliferation and ISSR analysis of cloned plants[J]. Acta Biologica Cracoviensia, 2007, 49(1):25-31.
- [8] 李勇,方扬辉,郑雪燕,等. 福建山樱花组培快繁技术[J]. 林业科技开发,2015,29(1):20-23.
- [9] 李蒙. 山樱花高海拔居群生态学特征及组织培养[D]. 南京:南京林业大学,2013:70-80.
- [10] 王光萍,黄敏仁. 福建山樱花的组织培养及植株再生[J]. 南京

陈园媛,姚金澳,崔永一. 金线莲一次性成苗技术研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(1):52-55.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.01.012

# 金线莲一次性成苗技术研究

陈园媛<sup>1</sup>, 姚金澳<sup>2</sup>, 崔永一<sup>1</sup>

(1. 浙江农林大学风景园林与建筑学院,浙江临安 311300; 2. 浙江农林大学农业与食品科学学院,浙江临安 311300)

**摘要:**以福建金线莲茎段为试验材料,采用植物组织培养和无土栽培技术相结合的方法,探讨不同基本培养基、植物生长调节物质浓度、栽培基质以及栽培条件对金线莲一次性成苗培养的影响。结果表明,以1/4MS为基本培养基,添加1 mg/L NAA和1.5 mg/L 6-BA的营养液,以树皮为栽培基质,在75%遮阴率、空气流通量大的栽培条件下最有利于金线莲茎段一次性成苗的生长。

**关键词:**金线莲;一次性成苗;营养液;栽培基质;栽培条件

**中图分类号:** S682.310.4<sup>+</sup>3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)01-0052-04

金线莲为兰科开唇兰属多年生草本,素有金草、神药、乌人参等美称,也被称为药中之王,除具有药用价值外,也是一种极具观赏价值的室内观叶植物<sup>[1-3]</sup>。

随着金线莲的药用价值和观赏价值不断被大众所熟知,金线莲的市场需求不断增加。但野生金线莲遭到人为的大量掠夺性采摘,接近灭绝,因此发展金线莲人工育苗,实现其种苗产业化生产势在必行。目前,有较多学者致力于金线莲组织培养研究,如不同基本培养基、外植体、取材部、有机添加物等对金线莲组织培养的影响<sup>[4-6]</sup>。

但是传统植物组织培养存在污染率高、培养流程繁琐、培养周期长、成本高等诸多问题。通过一次性成苗技术获得植株的方法用于植物组培苗生产,具有缩短培养周期、简化培养流程、降低污染、节省种苗生产成本等优势,是优质种苗组培快繁的重要手段<sup>[7]</sup>。一次性成苗是在外植体形成愈伤组织后,不转移到分化培养基上,直接在原培养基上分化,进行继代培养,不需要设置诱导培养基、增殖培养基和生根培养基,直至形成健壮的全苗<sup>[5]</sup>。近年来,菊花、小麦、水稻、大豆、棉花、甘蔗、紫色甘薯以及药用植物霍山石斛等,都有了植物组织培养一次性成苗的报道<sup>[8-15]</sup>。

目前关于金线莲一次性成苗培养以及不同栽培条件对金线莲生长影响的研究较少。江建铭等研究金线莲一步成苗培

养,所用的培养基为1/2MS+2.0 mg/L 6-BA+1.0~1.5 mg/L NAA+0.05 mg/L 芸苔素内酯+100 g/L 香蕉泥<sup>[16]</sup>。朱萍研究一次性成苗培养得出,最优培养基为MS+1.0 mg/L 6-BA+1.5 mg/L NAA+150 g/L 土豆+30 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂+2.0 g/L 活性炭<sup>[17]</sup>。何碧珠等研究多倍体金线莲一次性成苗及移栽得出,最佳培养基为MS+1.0 mg/L 6-BA+1.5 mg/L NAA+150 g/L 土豆+3%蔗糖+0.65%琼脂+0.15%活性炭<sup>[18]</sup>。邵青松等研究不同移栽条件对金线莲组培苗成活率以及生长的影响,得出在1/4MS营养液、泥炭-河沙2:1、种植密度为3 cm×3 cm、遮阴率70%条件下,金线莲生长最好<sup>[19]</sup>。但现行的一次性成苗的研究需要在培养基中进行接种操作,仍存在较高的污染率,而且拟对出瓶苗进行提前炼苗驯化,拟出瓶的组培苗生长速度较慢,成活率偏低,不利于工厂化生产。

本研究采用的一次性成苗技术利用组织培养和无土栽培方法,将茎段放入穴盘液体培养,得到对外部环境有较强适应性的金线莲苗,从而简化组培过程,节省炼苗出瓶的时间,直接栽植。本试验主要探讨不同基本培养基、植物生长调节物质浓度、栽培基质以及栽培条件对一次性成苗生长的影响,为构建金线莲一次性成苗培养体系以及金线莲工厂化生产提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选取长势较为一致的福建金线莲组培苗,取茎段,用自来水清洗黏附的培养基,待用。

### 1.2 试验方法

1.2.1 试验地点 试验在浙江农林大学平山温室进行,温室技开发,2008,22(5):72-75。

[14] 和凤美,朱永平,杨晓红,等. 冬樱花愈伤组织诱导和抑制褐化初探[J]. 中国农学通报,2010,26(12):130-134.

[15] 高新一,王玉英. 植物无性繁殖实用技术[M]. 北京:金盾出版社,2003:319-454.

[16] 谭彬,郭水欢,韩亚萍,等. 毛桃叶片愈伤组织诱导[J]. 江苏农业科学,2017,45(5):37-40.

收稿日期:2017-09-30

基金项目:浙江省新苗人才计划(编号:2016R412047)。

作者简介:陈园媛(1992—),女,浙江衢州人,硕士研究生,从事园林植物良种繁育研究。E-mail:791874968@qq.com。

通信作者:崔永一,博士,教授,从事园林植物与观赏园艺学研究。E-mail:orchidcui@163.com。

林业大学学报(自然科学版),2002,26(2):73-75.

[11] 吕月良,陈璋,施季森,等. 福建山樱花不定芽诱导和植株再生规模化繁殖试验[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2006,30(3):105-108.

[12] 闫道良,王贤荣,钦佩,等. 钟花樱组织培养再生体系的建立[J]. 林业科技开发,2006,20(3):21-24.

[13] 荣冬青,王贤荣. 垂枝早樱“红枝垂”组培快繁试验[J]. 林业科