

铁线莲组培快繁技术研究

李丽容, 金开正 (杭州万向职业技术学院, 浙江杭州 310023)

摘要 [目的]研究不同激素浓度对铁线莲诱导、增殖和生根的影响,建立铁线莲组培快繁技术。[方法]以铁线莲茎段为外植体,在MS培养基中加入不同浓度的6-BA、NAA和IBA,研究不同激素浓度对其腋芽诱导分化、诱导芽增殖和继代苗生根的影响。[结果]铁线莲腋芽诱导效果以MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L为最佳;增殖培养以MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.50 mg/L为最佳;继代苗生根培养以MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 2.0 mg/L最佳。[结论]建立了铁线莲组培快繁技术体系,为其规模化生产提供理论依据。

关键词 铁线莲;组织培养;诱导;增殖;生根

中图分类号 S604.3⁺3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)15-138-02

Study on the Tissue Culture Rapid Propagation Technique of *Clematis florida*

LI Li-rong, JIN Kai-zheng (Hangzhou Wangxiang Polytechnic, Hangzhou, Zhejiang 310023)

Abstract [Objective] The aim was to study effects of different hormone concentration on induction, proliferation and rooting of *Clematis florida*, to establish tissue culture rapid propagation technique of *Clematis florida*. [Method] With *Clematis florida* stem segments as explants, adding different concentrations of 6-BA, NAA, IBA growth hormone in MS culture medium, effects of different hormone concentration on induction differentiation, bud proliferation, and rooting culture of successive seedling were studied. [Result] *Clematis florida* axillary bud induction effects in MS + 6-BA 1.0mg 0.2 mg/L way was the best; proliferation cultured in MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L treatment was the best; successive generation of rooting culture in process S3: MS + 6-BA 1.5 mg/L + IBA 2.0 mg/L was the best. [Conclusion] The tissue culture rapid propagation technique system of *Clematis florida* is established, which can provide theoretical basis for large-scale production.

Key words *Clematis florida*; Tissue culture; Induction; Proliferation; Rooting

铁线莲(*Clematis florida* Thunb.),别名铁线牡丹,为毛茛科铁线莲属植物,多数为落叶或常绿草质藤本,享有“藤本花卉皇后”之美称,花期4~9月,是一种近2年国内新兴花卉,因其花色繁多、千姿百态、繁花似锦而深受人们喜爱,成为庭院、阳台装饰中造型造景不可或缺的新元素^[1]。目前,铁线莲常见的繁殖方式有播种、压条、嫁接、分株或扦插,但由于播种、压条、扦插等繁殖成活率低且繁殖系数小,难以实现工厂化生产。随着科学技术水平的提高,植物组培繁殖是较理想的繁殖方式,因材料来自单一的个体,遗传性状一致且繁殖系数大,能够迅速满足市场需求。笔者研究了不同激素浓度对铁线莲腋芽诱导、增殖、生根培养等的影响,以期对铁线莲的大规模生产提供理论依据。

1 材料与方

1.1 试验材料及处理 外植体选择铁线莲茎段(半木质化)^[2]。将采集后的铁线莲茎段,剪去多余的叶片,剩余的茎段具有隐芽,放入玻璃器皿中,用少量洗衣粉冲洗20 min后,用流水冲洗1~2 h^[3],置于超净工作台上备用。

1.2 培养基 试验培养基是在MS培养基中加入不同浓度的6-BA、NAA、IBA及蔗糖30 g/L、琼脂粉6.8 g/L,pH 5.8,灭菌后备用^[4]。

1.3 试验方法

1.3.1 腋芽诱导培养。培养基设Y1:MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,Y2:MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,Y3:MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L,Y4:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L,Y5:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L,Y6:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L,Y7:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,Y8:

MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,Y9:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L,共9种处理,每种处理接种外植体30个,定期观察腋芽的诱导情况。

诱导率 = 诱导数/接种数 × 100%

1.3.2 增殖培养。培养基设Z1:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L,Z2:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L,Z3:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L,Z4:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,Z5:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,Z6:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L,共6种处理,每种处理接种诱导芽30个,定期观察腋芽的增殖情况。

1.3.3 生根培养。将在继代培养中的铁线莲壮苗分别接种至附加不同浓度6-BA、NAA的MS培养基上进行生根培养,30 d后观察增殖情况。

生根培养培养基设S1:MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L,S2:MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 1.0 mg/L,S3:MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 2.0 mg/L,共3种处理,每种处理接种壮苗30株,定期观察壮苗的生根情况。

1.4 培养条件 光照时间12 h/d,温度(25±2)℃,相对湿度60%,光照强度1 000 lx。

2 结果与分析

2.1 不同激素浓度对腋芽诱导的影响 将铁线莲外植体用75%乙醇30 s+0.1%氯化汞8 min+吐温2滴消毒后^[5],分别接种至腋芽诱导的9种培养基中,接种14 d后,观察其腋芽诱导情况^[6],结果见表1。由表1可知,处理Y2、Y3、Y4、Y5对铁线莲的诱导分化有较强的促进作用;处理Y1、Y6、Y9对铁线莲的诱导分化作用较弱;而处理Y7和Y8对铁线莲的诱导分化表现出一定的抑制作用。方差分析结果表明,处理Y2对铁线莲腋芽的诱导分化较其他8个处理有极显著的促进作用;处理Y3、Y4对铁线莲腋芽的诱导分化较处理Y5、

作者简介 李丽容(1983-),女,浙江温州人,实验师,从事植物遗传育种和植物配置方面的研究。

收稿日期 2016-04-16

Y1、Y6、Y7、Y8、Y9 具有极显著的促进作用;Y5、Y1、Y6、Y7、Y8、Y9 处理对铁线莲腋芽的诱导分化有一定差异,但未达显著水平。

表 1 不同激素浓度对腋芽诱导的影响

Table 1 Effects of different hormone concentration on induction of *Clematis florida* axillary buds

处理 Treatment	接种数 Inoculation quantity	诱导腋芽数 Induction axillary buds	诱导率 Induction rate // %
Y1	30	33.0cdC	110.0
Y2	30	51.7aA	172.2
Y3	30	45.7bB	152.2
Y4	30	42.0bB	140.0
Y5	30	34.0cC	113.3
Y6	30	33.0cdC	110.0
Y7	30	29.3dC	97.8
Y8	30	29.70dC	98.9
Y9	30	31.0cdC	103.3

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示处理间差异极显著($P < 0.01$)。

Note: Different lowercases in the same column stand for significant difference ($P < 0.05$), different capital letters stand for extremely significant difference among treatments ($P < 0.01$).

2.2 不同激素浓度对增殖培养的影响 将在诱导培养基中诱导出的不定芽分别接种至不同浓度 6-BA、NAA 的 MS 培养基上进行增殖培养,30 d 后观察增殖情况^[7],结果见表 2。由表 2 可知,处理 Z2 和 Z3 对铁线莲不定芽的增殖有较强的促进作用;其他处理 Z1、Z4、Z5、Z6 对铁线莲不定芽的增殖有较强的抑制作用。方差分析结果表明,处理 Z2 和 Z3 较其他 4 个处理对铁线莲不定芽的增殖有极显著的促进作用;处理 Z4 与 Z1、Z5 差异未达极显著水平,但与处理 Z6 差异达极显著水平;处理 Z1、Z5、Z6 对铁线莲不定芽增殖的影响差异不显著。

表 2 不同激素浓度对增殖培养的影响

Table 2 Effects of different hormone concentration on proliferation culture

处理 Treatment	接种数 Inoculation quantity	增殖个数 Proliferation number	增殖率 Proliferation rate // %
Z1	30	24.0bcBC	80.0
Z2	30	38.3aA	127.8
Z3	30	40.3aA	134.4
Z4	30	27.0bB	90.0
Z5	30	23.3cBC	77.8
Z6	30	22.0cC	73.3

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示处理间差异极显著($P < 0.01$)。

Note: Different lowercases in the same column stand for significant difference ($P < 0.05$), different capital letters stand for extremely significant difference among treatments ($P < 0.01$).

2.3 不同激素浓度对生根培养的影响 将在继代培养中的壮苗分别接种至附加不同浓度 6-BA、IBA 的 MS 培养基上进行生根培养,30 d 后观察增殖情况,结果见表 3。由表 3 可知,处理 S3 和 S2 对铁线莲的生根有较强的促进作用,处理 S3、

S2 的生根率分别达 83.3% 和 70.0%。方差分析结果表明,处理 S3 与 S1 差异极显著,与 S2 差异显著。

2.4 驯化移栽 将培养室的铁线莲试管苗转移至半遮阴的自然光下进行锻炼,铁线莲试管苗在自然光下恢复植物体内叶绿体的光合作用,并打开培养瓶的瓶盖注入少量的水使幼苗逐渐降低温度,慢慢转向有菌,这样幼苗周围的环境逐步与自然环境中相似。

表 3 不同激素浓度对生根培养的影响

Table 3 Effects of different hormone concentration on rooting culture

处理 Treatment	接种数 Inoculation quantity	生根数 Rooting number	生根率 Rooting rate // %
S1	30	17.3	57.8
S2	30	21.0	70.0
S3	30	25.0	83.3

在移栽过程中应着重考虑栽培基质,是铁线莲组培苗能否存活、正常生长的关键。适宜的基质应是保水性和透气性均较好,使用树皮、泥炭土与珍珠岩混合基质,以 1:2:1 最为适宜^[8]。

3 结论

3.1 不同激素浓度对铁线莲芽诱导分化的影响 该试验结果表明,在 MS 培养基中加入不大于 1.5 mg/L 6-BA 和不大于 0.5 mg/L NAA 处理组合对铁线莲的芽诱导具有较强的促进作用,其中,以 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L (Y2) 的诱导效果最佳,其次为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L (Y3);而 2.0 mg/L 6-BA 处理对铁线莲的诱导分化表现出一定的抑制作用。

3.2 不同激素浓度对铁线莲不定芽增殖生长的影响 该试验结果表明,对铁线莲不定芽增殖有较强促进作用的处理方式以 MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L (Z3) 为最佳,其次为 MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L (Z2)。而 Z1、Z4、Z5、Z6 处理对铁线莲不定芽的增殖有较强的抑制作用。

3.3 不同激素浓度对铁线莲继代苗生根的影响 该试验结果表明,MS + 6-BA 1.5 mg/L + IBA 2.0 mg/L (S3) 对铁线莲继代苗生根的促进作用最佳,其次为 MS + 6-BA 1.5 mg/L + IBA 1.0 mg/L (S2)。

参考文献

- [1] 吴荣. 铁线莲里昂城的组织培养研究[J]. 现代农业科技,2013(17): 186-188.
- [2] 李丽容,金开正. 兔眼蓝莓的快繁试验[J]. 中国南方果树,2010(1):72.
- [3] 刘洪进,杨艳萍,钱仁卷,等. 铁线莲粉香槟的组培快繁研究初报[J]. 浙江农业科学,2013(5):557-558.
- [4] 袁佳,胡恒康,方炎明,等. 不同培养条件对铁线莲不定芽增殖[J]. 西北植物学报,2011,31(2):401-406.
- [5] 盛璐,杨迎杰,季孔庶. 短柱铁线莲愈伤组织培养及褐化抑制[J]. 分子植物育种,2015,10(13):2380-2387.
- [6] 王清连. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2002:261.
- [7] 李丽容,金开正,赖联森. 玉米素对蓝莓增殖生长的影响研究[J]. 安徽农业科学,2013,41(30):11961-11962.
- [8] 张铁. 金线莲组织培养研究进展[J]. 文山学院学报,2013,26(6): 11-15.