

# 猬实休眠芽快速繁殖研究

邓祖丽颖

(郑州幼儿师范高等专科学校, 河南 郑州 450000)

**摘要:** 以珍稀植物猬实的休眠芽为外植体进行快速繁殖研究。结果表明, 诱导丛生芽的最适培养基为 MS+2.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA; 增殖培养最适培养基为 MS+2.00 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA; 生根培养最适培养基为 1/2MS+0.20 mg/L NAA+0.30 mg/L IBA+0.01 mg/L 2,4-D; 生根苗移栽温室 45 d 成活率达 100%。

**关键词:** 珍稀植物; 猬实; 休眠芽; 离体培养; 快速繁殖

**中图分类号:** S685.99      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2014)10-0099-04

## Study on Rapid Propagation of Dormant Bud of *Kolkwitzia amabilis*

DENGZU Li-ying

(Zhengzhou Kindergarten Normal College, Zhengzhou 450000, China)

**Abstract:** The rapid propagation system of dormant bud of endangered plant *Kolkwitzia amabilis* was studied. The results showed that the optimum medium for multiple shoots induction was MS+2.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA; the optimum medium for shoot multiplication was MS+2.00 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA; the optimum medium for rooting cultivation was 1/2MS+0.20 mg/L NAA+0.30 mg/L IBA+0.01 mg/L 2,4-D; the survival rate reached 100% after rooted shoots transferred to greenhouse for 45 days.

**Key words:** endangered plant; *Kolkwitzia amabilis*; dormant bud; *in vitro* cultivation; rapid propagation

猬实(*Kolkwitzia amabilis* Graebn)是忍冬科单属单种植物,也是我国三级稀有濒危物种<sup>[1]</sup>。其树干丛生,植株紧凑,株丛姿态优美;花序紧簇,花色艳丽,开花期正值初夏,盛开时繁花似锦;子房下位,果实密被毛刺,形如刺猬,也因此得名猬实,是一种极具观赏花、果价值的灌木,可用于草坪、角隅、山石旁、亭廊附近列植或丛植,也可盆栽欣赏或作切花,同时,猬实耐寒、耐旱、耐贫瘠土壤,对生态环境要求不严,是一种优良的园林植物,也因此被欧美广为引种,誉为美丽的灌木。

猬实是华北植物区系古老的残遗成分,也是忍冬科残遗属种,起源于古北大陆南部,远在第三纪以前即已形成和发展,成为分类上孤立、形态上特殊的种类,因此它对于研究植物区系、古地理和

忍冬科系统发育具有较高的科学价值。猬实自然分布于我国的山西、陕西、甘肃、河南、湖北、安徽等地,近年来,猬实种群逐渐减少,种群退化。研究发现,猬实种子结实率低,种子质量低劣,有性生殖困难,是造成该物种濒危的重要原因之一。猬实的果实有坚硬的果皮包被,胚乳中含有萌发抑制物质,休眠特性独特,种子结实率低,有活力的种子不足全部果实的 12%,种子的平均发芽率只有 33%左右<sup>[2]</sup>。猬实在自然分布区内未见实生苗,主要依靠根蘖繁殖,因此猬实植株间变异小,后代与亲本具有极高相似性,竞争力下降<sup>[3]</sup>。调查发现,猬实所处群落为旱生的灌丛或疏林带,群落组成简单,物种多样性较低,其所处群落处于演替的初级阶段,稳定性较差<sup>[4]</sup>。而目前猬实主要

收稿日期:2014-03-20

基金项目:郑州市科技攻关项目(074SGYS33205-2)

作者简介:邓祖丽颖(1969-),女,河南郑州人,副教授,硕士,主要从事生物技术方面的研究。E-mail:13938289841@139.com

靠播种、扦插、分株和压条繁殖<sup>[5-6]</sup>。由于獐实的果实有坚硬的果皮包被,休眠特性独特<sup>[7]</sup>,再加上结实率低,播种繁殖具有很大的局限性,而扦插、分株和压条也存在季节性限制、周期长及繁殖系数低等缺点,因此,建立獐实的离体培养及再生体系对獐实的种群繁育和园林绿化具有重大意义。本研究以獐实休眠芽为外植体,通过休眠芽的诱导形成丛生芽,建立离体培养及再生体系,以期为獐实的快速繁殖和工厂化育苗提供技术支持。

## 1 材料和方法

### 1.1 植物材料

取獐实秋季落叶枝条,剪取下部直径为 0.3~0.8 cm 的茎段,放于自来水管下冲洗 4~5 h,去除表面污垢,然后在超静工作台上用体积分数为 75% 的酒精浸泡 2 min,用无菌水冲洗 3~5 次,用质量分数为 1% 的 HgCl<sub>2</sub> 溶液浸泡 12 min,再用无菌水冲洗 3~5 次后备用。

### 1.2 诱导培养

将消毒后的茎段剪切为带节小段,每段含有 1 个休眠芽,接种于诱导培养基中,诱导培养基为 MS 添加 2.00 mg/L 的 6-BA 与 0.50、1.00 mg/L 2,4-D 或 0.05、0.10 mg/L NAA,进行休眠芽的启动诱导培养。培养 30 d 时观察结果,统计丛生芽或愈伤组织的诱导率,由诱导的丛生芽数量和接种总数计算诱导系数。诱导率=诱导产生丛生芽或愈伤组织的外植体数量/接种的外植体数量×100%。诱导系数=诱导产生丛生芽数量/接种的外植体数量。

### 1.3 增殖培养

将诱导的丛生芽分株,接种于添加不同浓度的

6-BA 与 NAA 的 MS 培养基中,进行增殖培养,于培养 30 d 统计不定芽数量,计算增殖倍数。增殖倍数=不定芽数量/接种芽数量。

### 1.4 生根培养

将高 8~10 cm 的不定芽分别接种于 1/2MS 培养基中,培养基中添加不同浓度的 IBA、NAA 或者 2,4-D,进行生根培养,于培养 21 d 和 42 d 统计生根数量及生根长度,并计算生根率。生根率=生根苗数量/接种芽数量×100%。

### 1.5 培养条件

所有培养条件均为温度(25±2)℃,光照强度 2 500 lx,光照时间 12 h/d;所用培养基添加蔗糖 3 g/L、琼脂 8 g/L,pH 值 5.8±0.1。

## 2 结果与分析

### 2.1 休眠芽的诱导培养

在 MS 基本培养基中,不同的激素组合对獐实休眠芽有不同的诱导效果。从表 1 可以看出,添加 6-BA 和 NAA 的组合能够诱导休眠芽形成丛生芽,2.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA 组合诱导率高达 100%,每个休眠芽平均诱导丛生芽为 4.5 个(图 1);2.00 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA 组合休眠芽形成丛生芽的诱导率为 85.05%,每个休眠芽平均诱导丛生芽为 3.8 个;而 6-BA+2,4-D 组合不能诱导丛生芽的发生,而只是在茎段切口处有少量黄绿色愈伤组织,2.00 mg/L 6-BA+0.50 mg/L 2,4-D 组合的愈伤组织诱导率为 35.23%,在 2.00 mg/L 6-BA 浓度条件下,较高的 2,4-D 浓度可提高愈伤组织的诱导率,2.00 mg/L 6-BA+1.00 mg/L 2,4-D 组合愈伤组织的诱导率为 50.46%。

表 1 不同培养基对獐实休眠芽诱导丛生芽的影响

培养基	生长情况	诱导率/%	诱导系数
MS+2.00 mg/L 6-BA+0.50 mg/L 2,4-D	无丛生芽,有少量愈伤组织	35.23	0
MS+2.00 mg/L 6-BA+1.00 mg/L 2,4-D	无丛生芽,有少量愈伤组织	50.46	0
MS+2.00 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA	无愈伤组织,有丛生芽	85.05	3.8
MS+2.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA	无愈伤组织,有丛生芽	100	4.5



图 1 獐实休眠芽诱导出的丛生芽

### 2.2 不定芽的增殖培养

在丛生芽生长到 2 cm 左右时,切去茎段两端死亡的部分外植体,并将丛生芽切割为单芽,接种到增殖培养基中。结果表明(表 2),6-BA 能够促进獐实不定芽的增殖,MS+2.00 mg/L 6-BA 培养基中不定芽增殖倍数为 3.40,同时 NAA 对 6-BA 的增殖效果具有明显的增强作用,MS+2.00 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA 培养基中不定芽的增殖倍数为 8.22(图

2);而当降低 6-BA 的浓度,增加 NAA 的浓度时,增殖倍数明显下降,MS+1.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA 培养基中不定芽的增殖倍数为 6.43;当 6-BA 和 NAA 的浓度继续减少,MS+0.50 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA 培养基中獐实不定芽没有增殖。

表 2 不同培养基对獐实不定芽增殖的影响

培养基	增殖倍数
MS+2.00 mg/L 6-BA	3.40
MS+2.00 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA	8.22
MS+1.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA	6.43
MS+0.50 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA	0



图 2 獐实不定芽的增殖培养

### 2.3 不定芽的生根培养

将株高 6~8 cm 的不定芽分株,接种于 3 种生根培养基中,观察发现(表 3),1/2MS+0.20 mg/L IBA 培养基在一定程度上能够促进獐实不定芽生根,培养 3 周时,生根率为 100%,不定根约 5.2 条,长约 2.1 cm,培养 6 周时,不定根数目没有增加,长度明显增长至 12 cm;1/2MS+0.20 mg/L NAA 培养基没有诱导生根,培养 6 周时生根率为 0;而在 1/2MS+0.20 mg/L NAA+0.30 mg/L IBA+0.01 mg/L 2,4-D 培养中,生根率也为 100%,培养 3 周时,不定根为 10.6 条,长 1.2 cm;培养 6 周时,不定根数目大大增加至 40.3 条,长度为 10.8 cm(图 3)。表明 IBA 具有促进獐实不定芽生根的功能,而 NAA 不具有此功能,当 IBA 配合低浓度的 2,4-D 时生根效果更为明显。

将生根培养后得到的再生苗进行练苗,(25±2)℃ 下生长 3~5 d;然后用流水洗去再生苗根部的培养基,将其移栽到消毒的栽培基质(泥炭土:蛭石=2:1)中培养,45 d 后成活率达 100%。

表 3 不同培养基对獐实不定芽生根的影响

培养基	生根率/%	根数/条		根长/cm	
		21 d	42 d	21 d	42 d
1/2MS+0.50 mg/L IBA	100	5.2	5.4	2.1	12
1/2MS+0.20 mg/L NAA	0	0	0	0	0
1/2MS+0.20 mg/L NAA+0.30 mg/L IBA+0.01 mg/L 2,4-D	100	10.6	40.3	1.2	10.8



图 3 獐实不定芽的生根培养

## 3 讨论

植物离体组织培养及再生技术已经成为一种快速而简便的快速繁殖方法,目前已经广泛应用于濒危物种、花卉、中药材等植物材料的大量获得<sup>[8-10]</sup>。对于獐实这种濒危植物,其离体培养及再生体系方面的研究甚少,宸铁梅等以獐实下胚轴为试验材料,进行愈伤组织和器官分化研究,提出了 6-BA 1~3 mg/L 和 NAA 0.1~0.2 mg/L 配合下能诱导獐实下胚轴愈伤组织分化成芽;0.2 mg/L NAA 或 IBA 可

诱导无根苗生根<sup>[11]</sup>,但并没有建立离体培养的快繁体系。本研究利用獐实茎段上的休眠芽为外植体进行离体培养,可以打破季节的限制,随时取得獐实的离体器官,诱导产生大量丛生芽,再将丛生芽分株增殖培养,直到形成丛生苗和生根苗,大大缩短了繁殖周期,快速获得再生植株。

一般来说,植物的活动芽和休眠芽都受植物内源激素的调控,在一定环境条件下,植物内源激素能够精确调控和诱导芽的发育,形成单生腋芽,而当外源激素打破植物内部的激素平衡,就会诱导芽形成丛生芽。因此合适的激素组合及浓度对比对植物离体培养非常重要。在本研究中发现,6-BA 与 2,4-D 的激素组合能够诱导愈伤组织的形成,而 6-BA 和 NAA 的组合能够诱导休眠芽形成丛生芽;在 2 mg/L 6-BA 浓度条件下,较高的 2,4-D 浓度有利于愈伤组织的诱导,而较高的 NAA 浓度有利于丛生芽的诱导;但是,本试验中诱导的愈伤组织疏松、黄绿色,培养后很快褐化死亡。在增殖培养中发现,6-BA 对獐实不定芽

的增殖起重要作用,在一定的 6-BA 浓度条件下,添加 NAA 能够促进增殖,而当 6-BA 浓度降低时,即使增加 NAA 的浓度,其增殖倍数也下降。在生根培养中,IBA 具有一定的生根作用,而当配合一定浓度的 NAA 和 2,4-D 时,对不定根的数量和长度都有明显的促进作用。

#### 参考文献:

- [1] 国家环境保护局. 中国濒危植物名录[M]. 北京:北京科学出版社,1987:33.
- [2] 高润梅,石晓东,杨鹏. 稀有花卉植物獐实种子特性的研究[J]. 种子,2005,24(7):34-36.
- [3] 李智选,苏建文,王马丽. 稀有花卉獐实在华山地区种群繁育和分布特征[J]. 西北植物学报,2004,24(11):213-217.
- [4] 高润梅,石晓东,杨鹏. 獐实植物群落外貌和物种多样性的研究[J]. 湖北林业科技,2005(4):5-8.
- [5] 郭魏,沈植国,韩健,等. 珍稀园林植物獐实的繁殖栽培技术及其开发利用[J]. 现代农业科技,2007(19):63-64.
- [6] 李智选,杨静,赵大鹏. 珍稀花卉植物獐实物候学观察及栽培技术[J]. 江苏农业科学,2003(5):76-77.
- [7] 何志,唐宇丹,石雷,等. 獐实种子休眠特性研究[J]. 园艺学报,2008,35(10):1505-1510.
- [8] Ma G H, He C X, Ren H, et al. Direct somatic embryogenesis and shoot organogenesis from leaf explants of *Primulina tabacum* [J]. *Biologia Plantarum*, 2010, 54: 361-365.
- [9] Song J Y, Mattson N S, Jeong B R. Efficiency of shoot regeneration from leaf, stem, petiole and petal explants of six cultivars of *Chrysanthemum morifolium* [J]. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2011, 107: 295-304.
- [10] Guo B, Gao M, Liu C Z. *In vitro* propagation of an endangered medicinal plant *Saussurea involucre* Kar et Kir [J]. *Plant Cell Rep*, 2007, 26: 261-265.
- [11] 宸铁梅,王玉国,弓春瑞,等. 獐实下胚轴愈伤组织的生长和器官分化研究[J]. 山西农业大学学报,2000,20(1):45-47.

(上接第 98 页)

#### 4.7 花期调控

4.7.1 温度管理 保持昼温 25~28℃左右、夜温 18~20℃、温差 6~8℃进行低温诱导。当花梗长到 10 cm 左右时,适当增加温度,缩短蝴蝶兰孕育花苞的时间。

4.7.2 光照管理 在蝴蝶兰花芽分化时期要保持充足的光照(一般控制在 20 000~25 000 lx),否则容易造成抽梗率降低,花梗增长缓慢,花期延迟。

4.7.3 湿度管理 在湿度较高的环境下,蝴蝶兰暴露在外的根、茎、叶均可以吸收空气中的水分。所以蝴蝶兰种植温室空气相对湿度一般控制在 60%~80%。浇水时不能喷洒到花朵上。

4.7.4 水肥管理 根据蝴蝶兰气生根的特性和根系的向地性、向水性及向气性等特点,结合基质的保肥、持水能力,充分利用基质中微管水的作用,科学地进行蝴蝶兰的水肥管理。催花之前,换施高磷钾肥,并辅以叶面肥  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  喷施,以提高植株体内 C/N 值,促进花芽分化和以后的花朵着色。花芽分化结束后适当增加氮肥比例,花梗基本停止生长、第 1 朵花即将开放时,停止施肥,靠体内的养分供应其开花所需。

4.7.5 通风管理 蝴蝶兰植株的呼吸作用、光合作

用以及病虫害的防治都依赖于良好的通风管理。可开启窗户、启动排风扇,或在室内安装循环风机。寒冷的冬天,室内外温差较大,换气时不要将冷风直接吹向植株,且风速尽量缓和。

#### 参考文献:

- [1] 王舒黎,吴锦娣,焦雪辉,等. 蝴蝶兰盆花设施标准化生产[J]. 农业工程技术:温室园艺,2010(8):70-72.
- [2] 曾凡景,杨恒,赵惠恩. 国内蝴蝶兰育种与繁殖栽培现状研究[J]. 黑龙江农业科学,2011(11):127-130.
- [3] 王俊,杨书才,杨录军,等. 郑州市蝴蝶兰产业现状、存在问题及发展建议[J]. 河南农业科学,2011(12):17-19.
- [4] 朱志国,黄承钧,陶陶,等. 蝴蝶兰组织培养快速繁殖技术研究[J]. 安徽农业科学,2009(30):14614-14615.
- [5] 伦君,张元国. 国内蝴蝶兰组培研究存在的问题与分析[J]. 农业科技通讯,2011(5):197-198.
- [6] 郑金生,甘惠芳,吉群,等. 不同栽培基质在蝴蝶兰上的应用效果研究[J]. 现代农业科技,2012(21):185-186.
- [7] 杨振华,王四清. 蝴蝶兰栽培基质及矿质营养研究进展[J]. 现代农业科学,2008(4):3-4.
- [8] 杨华庚,陈慧娟. 高温胁迫对蝴蝶兰幼苗叶片形态和生理特性的影响[J]. 中国农学通报,2009(11):123-127.
- [9] 张宇. 蝴蝶兰的栽培管理[J]. 山西农业科学,2010,38(9):100.