

何鲁牵牛的组培快繁研究

吕永平, 王燕, 牟豪杰, 汪一婷, 李海营 (浙江省农业科学院病毒学与生物技术研究所, 浙江杭州 310021)

摘要 [目的] 建立何鲁牵牛的组培快繁体系, 为其规模化生产提供理论依据。[方法] 以何鲁牵牛茎段为外植体, 研究何鲁牵牛不定芽增殖和生根的最适培养基。[结果] 何鲁牵牛在 WPM + 0.3 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L NAA + 0.1 g/L 活性炭的启动培养基上成功诱导腋芽抽出, 将腋芽转接到 WPM + 0.3 mg/L 6-BA + 0.1 g/L 活性炭培养基上进行不定芽的增殖, 增殖率达 4.30; 在 WPM + 0.1 mg/L IBA + 0.1 mg/L NAA + 0.1 g/L 活性炭培养基上生根率较高, 可达 90%。[结论] 该研究建立了何鲁牵牛的组培快繁体系, 有利于何鲁牵牛种质资源保护和工厂化生产。

关键词 何鲁牵牛; 组培快繁; 增殖; 生根

中图分类号 S604 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)30-0110-02

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Ipomoea holubii*

LU Yong-ping, WANG Yan, MOU Hao-jie et al (Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Institute of Virology and Biotechnology Hangzhou, Zhejiang 310021)

Abstract [Objective] To establish tissue rapid propagation system of *Ipomoea holubii*, and to provide theoretical foundation for its large-scale production. [Method] Taking the stem of *Ipomoea holubii* as explants, we researched the optimal culture medium for adventitious buds proliferation and rooting of *I. holubii*. [Result] Axillary buds were induced on WPM + 0.3 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L NAA + 0.1 g/L active carbon (AC). The shoots of *I. holubii* were cultured on WPM + 0.3 mg/L 6-BA + 1 g/L AC for multiplication, and the multiplication ratio was 4.30. WPM + 0.1 mg/L IBA + 0.1 mg/L NAA + 0.1 g/L AC was the optimal medium for rooting, and the rooting rate was 90%. [Conclusion] This research establishes the tissue culture and rapid propagation system of *I. holubii*, which is helpful to the germplasm protection and industrial production of *I. holubii*.

Key words *Ipomoea holubii*; Rapid propagation; Multiplication; Rooting

何鲁牵牛 (*Ipomoea holubii*) 为旋花科番薯属植物, 原产于博茨瓦纳和纳米比亚等地^[1]。何鲁牵牛叶片细长如柳叶, 深粉色喇叭形花, 且具有大型的球状块根, 其表面石化呈黄褐色, 观赏价值很高, 是一种珍贵的多肉植物。在自然条件下, 何鲁牵牛生长缓慢, 繁殖率低, 数量较少^[1]。此外, 为了保护野生何鲁牵牛植物免遭掠夺性采集甚至灭绝的威胁, 国际多肉植物研究组织 (The International Organization for Succulent Plant Study) 已将多种多肉植物列入《濒危野生动植物种国际贸易公约》(CITES 公约) 附录内, 极大地限制了珍稀多肉植物的引种、推广和应用。利用组织培养技术进行何鲁牵牛的快速繁殖可在短期内获得大量与母株遗传背景一致的优质种苗, 对于满足国内外对何鲁牵牛的市场需求、保护珍稀何鲁牵牛野生资源具有重要意义。目前鲜见何鲁牵牛组织培养的研究。笔者以何鲁牵牛茎段为外植体, 对其组培快繁技术进行了研究。

1 材料与与方法

1.1 材料 何鲁牵牛植株由浙江省农业科学院组培中心温室提供, 取其当年生枝条的茎段作为外植体。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒。 以何鲁牵牛茎段为外植体, 先用饱和洗衣粉溶液浸泡 30 min, 再用自来水冲洗干净, 然后用 70% 乙醇溶液和有效氯饱和度为 1% 的次氯酸钠溶液分别浸泡 40 s 和 7 min, 期间摇晃几次, 最后用无菌水冲洗 3~5 遍, 每

遍 1 min。

1.2.2 腋芽诱导。 将消毒后的外植体在超净工作台中接种至启动培养基上进行腋芽的诱导。启动培养基: WPM + 0.3 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L NAA + 0.2 g/L 活性炭, 30 g/L 蔗糖, 7 g/L 琼脂, pH 5.8。

1.2.3 不定芽增殖。 待腋芽抽出且具有 3~5 片子叶时将其切下转至增殖培养基上培养, 增殖培养基: WPM + 30 g/L 蔗糖 + 7 g/L 琼脂, 添加不同浓度的 6-BA (0.1、0.3、0.5 mg/L) 及活性炭 (0.0、0.1、0.2 g/L), pH 5.8 (表 1)。每瓶接种 4 个, 每组 5 瓶, 35 d 后观察不定芽的增殖情况并统计增殖率。培养条件: 温度 (23 ± 2) °C, 光强强度 60 μmol/(m² · s), 光照时间为 12 h/d。

1.2.4 生根及移栽。 将不定芽丛分割成单株后转接至生根培养基上培养, 生根培养基: WPM + 30 g/L 蔗糖 + 7 g/L 琼脂 + 0.1 g/L 活性炭, 添加不同浓度的 NAA 和 IBA, pH 5.8 (表 2)。每瓶接种 4 个, 每组 5 瓶, 35 d 后观察不定根的诱导情况并统计生根率。培养条件: 温度 (23 ± 2) °C, 光照强度 30~60 μmol/(m² · s), 光照时间 8~10 h/d。将生根植株从培养基中取出并清洗后移栽至基质中栽培, 先在幼苗上覆盖薄膜并遮阴, 炼苗 2~4 d 后逐渐揭开薄膜使幼苗适应外界环境^[2]。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对不定芽增殖的影响 消毒后的茎段培养 28~34 d 后有腋芽抽出, 培养 42~49 d 后具有 3~4 片叶片。待腋芽伸长后将其切下转接至添加不同浓度 6-BA 和活性炭的 WPM 培养基上进行增殖培养 (图 1)。培养 35 d 后, 何鲁牵牛的增殖情况见表 1。由表 1 可知, 在不添加活性炭培养基 A 上增殖时, 不定芽增殖率为 2.35, 植株生长状态不佳, 叶片呈黄绿色; 而在活性炭浓度为 0.1 mg/L、6-BA 浓度为

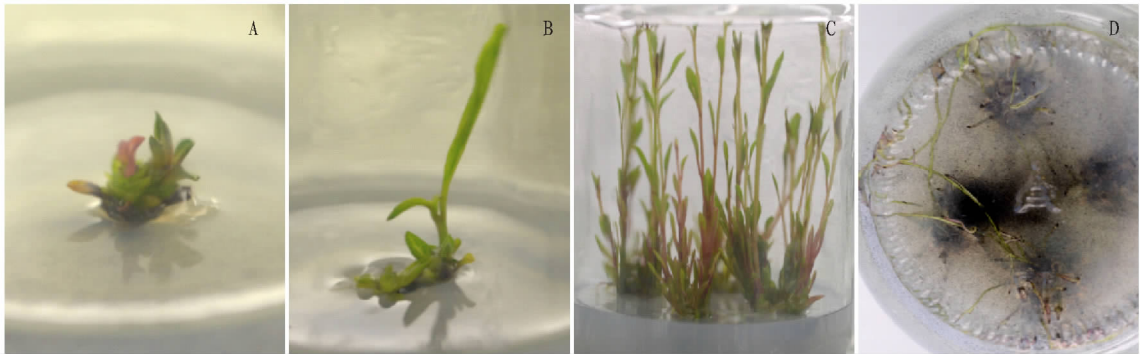
基金项目 国际先进农业科技技术计划 (948) 项目 (2011-G31); 浙江省农业科学院青年人才培养项目 (2015R21R08E08)。

作者简介 吕永平 (1977-), 男, 浙江杭州人, 助理研究员, 从事植物组培产业化研究。

收稿日期 2016-08-31

0.3 mg/L 的培养基 B 上,植株生长健壮,叶片为绿色,增殖率为 4.30;随着培养基 C 中 6-BA 浓度的升高,何鲁牵牛的生

殖率达 6.45,但不定芽较为细弱。由此可知,培养基 B 是适合何鲁牵牛不定芽增殖的最佳培养基。



注:A.腋芽抽出;B.腋芽伸长;C.不定芽增殖;D.不定芽生根。

Note:A. Induction of axillary bud; B. Elongation of axillary buds; C. Multiplication of adventitious bud; D. Rooting of adventitious bud.

图 1 何鲁牵牛组培快繁体系的建立

Fig. 1 Establishment of tissue culture and rapid propagation of *I. holubii*

表 1 不同培养基对何鲁牵牛不定芽增殖的影响

Table 1 Effects of culture medium on the adventitious bud multiplication of *I. holubii*

培养基 Culture medium	6-BA 浓度 6-BA concentration mg/L	活性炭浓度 AC concentration g/L	芽接种数 Number of inoc- ulated buds//个	增殖芽数 Number of pro- pagated buds//个	增殖率 Proliferation rate	生长情况 Growth situation
A	0.1	0	20	47	2.35 ± 0.74 c	叶片较黄
B	0.3	0.1	20	86	4.30 ± 1.19 b	叶绿,植株健壮
C	0.5	0.2	20	129	6.45 ± 1.21 a	叶绿,植株细弱

注:同列不同小写字母表示不同培养基间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences between culture media ($P < 0.05$).

2.2 不同植物生长调节剂对不定芽生根的影响 将在培养基 B 中增殖的不定芽丛分割成单株后转接至 3 种生根培养基上培养,35 d 后何鲁牵牛不定根的诱导情况见表 2。由表 2 可知,何鲁牵牛不定芽苗在 IBA 为 0.2 mg/L 的培养基 D

中生根率为 70%,而在 NAA 为 0.2 mg/L 的培养基 E 中生根率为 55%,但两者不定芽平均生根条数差异不显著。不定芽在同时添加 0.1 mg/L IBA 和 NAA 的培养基 F 中生根率为 90%,平均根数为 4.15 条,2 个指标均高于培养基 D 和 E。

表 2 不同植物生长调节剂对何鲁牵牛生根培养的影响

Table 2 Effects of different hormones on the rooting of *I. holubii*

培养基 Culture medium	IBA 浓度 IBA concen- tration mg/L	NAA 浓度 NAA concen- tration mg/L	芽接种数 Number of inoculated buds 个	生根数 Rooting number 条	生根苗数 Number of rooting seedlings 株	生根率 Rooting rate %	平均根数 Average root number 条
D	0.2	0	20	41	14	70	2.05 ± 0.48 b
E	0	0.2	20	36	11	55	1.80 ± 0.37 b
F	0.1	0.1	20	83	18	90	4.15 ± 1.15 a

注:同列不同小写字母表示不同培养基间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences between culture media ($P < 0.05$).

3 结论与讨论

前人对于番薯属植物的组织培养研究主要集中在甘薯类作物上^[3-5],对于何鲁牵牛的组织培养鲜见报道。对于观赏植物的种苗快繁而言,确保种苗与母株遗传背景的一致性极为重要。该研究通过以芽繁芽的方式建立了何鲁牵牛的快速体系。结果显示,WPM + 0.3 mg/L 6-BA + 0.1 g/L 活性炭是适合何鲁牵牛的快速培养基,不定芽增殖率可达 4.30,且生长健壮。活性炭的添加有利于何鲁牵牛的正常生长,推测活性炭可能吸附了何鲁牵牛分泌的某些有毒害作用的植物次生代谢产物。

何鲁牵牛增殖不定芽在 WPM + 0.1 mg/L IBA + 0.1 mg/L NAA + 0.1 g/L 活性炭培养基上生根效果最好。生长素组合使用的诱根效果优于单一种类生长素培养,相似的现象在可可茶、非洲菊、月季等的生根诱导中也有报道^[6-9]。将生根植株从培养瓶中取出并清洗后移栽至基质中,先在幼苗上覆盖薄膜并遮阴,炼苗 2~4 d 后逐渐揭开薄膜使幼苗适应外界环境,移栽成活率可达 90%。该研究建立了何鲁牵牛的组织培养快速体系,有利于何鲁牵牛的种质资源保护和工厂化生产。

(下转第 199 页)

产品的质量,因此基于产品功能,畜产品企业可以把畜产品品牌的核心价值提炼为“生态”“安全”等,并利用网络信息传播优势,通过网页多宣传畜产品的功能性价值,多提供能体现畜产品品牌“生态”“安全”相关的信息,如畜产品的来源地、养殖环境、养殖过程、加工过程等,获得消费者对畜产品品牌的认同。

消费者选择品牌的主要驱动力除了功能性利益,还有情感性和自我表现性利益^[6]。因此畜产品企业可以基于消费者的情感和消费者的自我表现提炼自身畜产品品牌的核心价值。畜产品企业基于消费者的情感提炼畜产品品牌的核心价值时应考虑目标消费群体能认同的优良的个性特征,如真诚、热情、正直、可信赖等。因为消费者愿意选择同自我个性一致的或与自己所崇尚或追求的个性一致的品牌^[7]。品牌的个性与消费者的个性越接近,或者与他们所崇尚或追求的个性越接近,越容易被消费者所接纳和认同^[8]。特定品牌具有的个性能否得到目标消费群体的认同、得到多大程度的认同是影响品牌忠诚的决定要素^[5]。

消费者在消费畜产品的过程中也看重如体现自我形象、品位等^[6]非实用性价值。畜产品企业可以将品牌定位于无任何污染的高档产品,基于自我表现可以把畜产品核心价值提炼为追求健康、追求生活品质,使企业畜产品特色、消费趋势与品牌个性提倡的生活方式和价值理念相吻合^[9]。因为品牌形象与消费者个性形象一致时能提升消费者个性形象,消费者对品牌的认同感也较高,最终可以发展成为忠诚的顾客^[10]。

3 品牌满意

消费者的满意对其行为倾向有影响^[11],并且可以正面影响消费者的忠诚度。因此电子商务环境下畜产品企业通过获得消费者对品牌的满意,使消费者持续喜欢品牌,可以增加品牌忠诚度。

随着生活水平的不断提高,消费者对畜产品的需求不断发生变化,因此畜产品企业提供的产品也应随之变化。在电子商务环境下,畜产品企业通过网络能较容易收集到消费者需求变化相关的数据,如购买地点、购买产品种类、数量、品牌等,通过对这些数据的分析,可以及时了解到消费者不断变化的需求和偏好,依据这些变化可以提供给消费者更符合他们期望和偏好的畜产品,增加消费者对畜产品品牌的满意度^[12]。

由于畜产品本身的特点,销售畜产品过程中遇到问题的可能性比别的食品大很多。在电子商务环境下,畜产品企业

可以利用与消费者的交流和沟通方便的网络优势,专门开设消费者对畜产品和服务的评价反馈栏,积极鼓励消费者反馈信息,并时时关注消费者对企业畜产品和服务的评价。对销售过程中出现的问题,畜产品企业应积极地与消费者进行沟通交流,并尽全力及时解决。尤其是畜产品的物流服务和售后服务,将直接影响消费者的满意度。畜产品企业通过消费者的参与和互动,不仅可以拉近与消费者间的距离,还可以不断改进畜产品和服务品质,增加消费者对畜产品品牌的满意度和忠诚度。

4 结语

该研究从对畜产品品牌的消费者理性认知和消费者情感的角度,从品牌信任、品牌认同和品牌满意3个层次分析了在电子商务环境下畜产品企业可以采取的品牌策略。从消费者理性认知的角度,畜产品企业可以利用树立消费者口碑、建立实体店和逐渐形成区域品牌的方式,建立和提高消费者对畜产品品牌的信任,减少消费者所感知的购买风险。从消费者情感的角度,畜产品企业通过获得消费者对品牌的认同和对品牌的满意,使消费者持续喜欢品牌,最终增加消费者对畜产品品牌的忠诚度。

参考文献

- [1] 全世文,曾寅初,刘媛媛.消费者对国内外品牌奶制品的感知风险与风险态度:基于三聚氰胺事件后的消费者调查[J].中国农村观察,2011(2):2-15.
- [2] 黄文彦,劳陈峰.网络口碑质量对顾客感知价值和购买意愿的影响研究[J].消费经济,2013,29(5):48-53.
- [3] 夏曾玉,谢健.区域品牌建设探讨:温州案例研究[J].中国工业经济,2003(10):43-48.
- [4] 廖建起.区域品牌与企业品牌的关系[J].中国科技信息,2006(12):201-202.
- [5] 金立印.基于品牌个性及品牌认同的品牌资产驱动模型研究[J].北京工商大学学报(社会科学版),2006,21(1):38-43.
- [6] 张俊妮,江明华,庞虢.品牌个性与消费者个性相关关系的实证研究[J].经济科学,2005(6):103-112.
- [7] SIRGY M J. Self-concept in consumer behavior: A critical review[J]. Journal of consumer research, 1982, 9(3): 287-300.
- [8] SCHOUTEN J W. Selves in transition: Symbolic consumption in personal rites of passage and identity reconstruction[J]. Journal of consumer research, 1991, 17(4): 412-425.
- [9] 赵红,张晓丹.基于品牌个性维度的品牌定位诊断方法及实证研究[J].管理学报,2010,7(7):1039-1045.
- [10] GRAEFF T R. Using promotional messages to manage the effects of brand and self-image on brand evaluations[J]. Journal of consumer marketing, 1996, 13(3): 4-18.
- [11] 白琳.顾客感知价值、顾客满意和行为倾向的关系研究述评[J].管理评论,2009,21(1):87-93.
- [12] 李玉萍,胡培.顾客网络购物满意度影响因素研究[J].商业研究,2015(1):160-165.
- [1] 张军云,张钟,张建康,等.紫甘薯组织培养快繁技术研究[J].中国农学通报,2014,30(4):96-100.
- [2] 叶创兴,朱念德,黄伟结.不同浓度及组合生长素对于可可茶插穗愈伤组织及根产生的促进作用[J].生态科学,1992(1):93-103.
- [3] 戴云新,张健,李敏,等.NAA和IBA对非洲菊组培苗生根的影响[J].安徽农业科学,2009,35(19):8845-8847.
- [4] 李磊,牛艳婷,徐榕雪,等.生长素对丰花月季硬枝扦插生根的影响[J].安徽农业科学,2012,40(29):14209-14210.
- [5] 陆飞,唐燕梅,韦鹏霄,等.不同激素组合对罗汉果‘桂青1号’生根诱导的影响[J].中国园艺文摘,2013,29(7):3-5.

(上接第111页)

参考文献

- [1] MATIS J. Ipomoea holubii[J]. British cactus & succulent society, 1988, 6(4):108.
- [2] 牟豪杰,徐刚,汪一婷,等.多浆植物组培苗移栽技术初探[J].浙江农业科学,2005(6):450-451.
- [3] 董新玉,谢凤琦,张金莲,等.甘薯组培苗简易生产技术[J].云南农业科技,2015(2):32.
- [4] 张宝红,丰嵘.甘薯组织培养高效植株再生体系的建立[J].西北农业学报,1992,1(4):51-56.