

矾根组培增殖技术研究

朱志国 (芜湖职业技术学院园林园艺学院, 安徽芜湖 241003)

摘要 以矾根(*Heuchera micrantha*)初代培养获得的无菌苗切割成茎段作为外植体,对矾根组织培养增殖技术进行研究。结果表明,采用MS作为基本培养基,通过6-BA和NAA组合进行试验筛选,得到最佳培养基配方是MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L,此时矾根增殖系数为9.76;不同培养方式对矾根增殖影响有明显差异,采用0.2%琼脂培养基增殖效果最好;矾根增殖系数与培养时间呈线性关系,培养时间以40 d较好;采用0.2%琼脂培养基对矾根进行培养时,pH为5.0效果最佳。

关键词 矾根;组织培养;快速繁殖;增殖

中图分类号 S682.1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)04-0042-02

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.04.013



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Multiplication Technology of *Heuchera micrantha*

ZHU Zhi-guo (Department of Landscape Architecture and Horticulture, Wuhu Institute of Technology, Wuhu, Anhui 241003)

Abstract The tissue culture technique was studied by cutting the sterile seedlings obtained from the primary culture of *Heuchera micrantha* into stem segments as explants. The results showed that MS was used as the basic medium, and the optimal medium for tissue propagation of *Heuchera micrantha* was MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L through the combined test of 6-BA and NAA, in which the reproduction coefficient was 9.76. Different culture methods had obvious differences in the propagation of *Heuchera micrantha*. Among them, the 0.2% agar medium close to the fluid state had the best proliferation effect. In addition, the propagation of *Heuchera micrantha* had a linear relationship with the culture time, and the culture time was 40 d; when the culture medium close to the fluid state was used to multiply *Heuchera micrantha*, the effect was best when the pH value was 5.0.

Key words *Heuchera micrantha*; Tissue culture; Rapid reproduction; Proliferation

矾根(*Heuchera micrantha*)又名珊瑚玲,为虎耳草科(Saxifragaceae)矾根属(*Heuchera*)耐寒常绿彩叶宿根花卉^[1],原产美洲中部,在美国园林绿化和景观建设中应用广泛。因其品种繁多,叶色亮丽且丰富多彩,花叶兼美,观赏价值较高,备受人们的关注^[2],近年来引入我国,被广泛应用于地被、花坛、花境、庭院美化和立体绿化等,也可以盆栽观赏^[3-4]。目前,矾根在生产中通常采用播种、扦插和分株的方式进行繁殖。种子繁殖发芽后生长速度很慢,需要半年后才能生长为可移栽的种苗,同时难以保持品种原有特性;扦插因受季节影响,成活率不高,无法满足大规模生产和工厂化生产;而采用分株取材困难,繁殖系数更低。为了提高繁殖系数,笔者以组培诱导的矾根无菌苗为试材,开展矾根组培增殖技术研究,旨在探讨矾根最佳增殖方法,为矾根的工厂化育苗提供借鉴和技术参考。

1 材料与方

1.1 试验材料 供试材料取自芜湖职业技术学院组培实训中心,经过初代培养诱导的无菌苗,切割成带1~2个节的茎段作为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 不同植物激素组合对矾根增殖的影响。将外植体分别接种到不同增殖培养基,增殖培养基配方见表1。

1.2.2 不同培养方式对矾根增殖的影响。将外植体接种到MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L培养基,分别采取不同

培养方式(表2)。

1.2.3 不同培养时间对矾根增殖的影响。将外植体分别接种到接近流体状态的0.2%琼脂增殖培养基:MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L,不同培养时间见表3。

1.2.4 不同培养基pH对矾根增殖的影响。将外植体分别接种到MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L接近流体状态的0.2%琼脂培养基,不同pH试验见表4。

以上试验方法中,培养基中均加入30 g/L蔗糖,每瓶培养基接4个茎段,每处理接20瓶;分别在培养室中培养40 d,每天培养的光照时间16 h,温度(25±2)℃,pH为6.0(不同pH处理试验除外),观察并统计增殖情况,增殖系数=丛生芽增加数/外植体接种数^[5-6]。

2 结果与分析

2.1 不同植物激素对比对矾根增殖的影响 由表1可知,不同植物激素对比对矾根增殖影响差异显著,NAA 1.0 mg/L、6-BA 0.5 mg/L组合的培养基增殖系数最高,达9.76,且苗生长健壮,长势也较一致,叶片较大,叶色正常。不添加植物激素NAA,只添加6-BA 0.5 mg/L培养基的增殖系数次之,达8.94;但在不添加植物激素NAA,仅添加6-BA 1.5 mg/L时,其增殖系数最差,只有5.14,增殖慢,小苗基部产生细弱根系。由此可知,6-BA浓度0.5 mg/L时,丛生芽增殖较多,增殖系数较高;但随着添加6-BA浓度不断增加,矾根增殖数量反而减少,增殖系数越来越小。NAA的浓度超过1.0 mg/L时,增殖系数就会下降,而浓度在0.5~1.0 mg/L时增殖效果相对较好。

2.2 不同培养方式对矾根增殖的影响 由表2可知,不同培养方式对矾根增殖效果差异显著。同样培养条件下,采用接近流体状态的0.2%琼脂培养基增殖效果最好,因外植体及

基金项目 安徽高校省级自然科学基金重点项目基金(KJ2020A0923);芜湖职业技术学院科技创新服务平台培育项目基金(Kjcxpt202007)。

作者简介 朱志国(1976—),男,安徽肥西人,教授,硕士,从事观赏植物繁育与栽培研究。

收稿日期 2021-06-23

其分化形成的丛生芽能充分接触培养基,有利于吸收营养成分,在很短时间内能产生丛生芽,且产生的丛生芽数量多,植株生长快,长势健壮,长势一致,增殖系数最高达 4.63。但随着琼脂浓度的增加,不仅增殖的丛生芽数量减少,植株的长

势还会减弱。当琼脂浓度增加到 0.6% 时,其增殖系数只有 2.28,砧根植株生长缓慢,长势较弱。但如果在培养过程中完全采用液体培养,即在培养基中不添加琼脂,增殖的系数也很低,只有 3.42,但植株生长速度相对较快。

表 1 不同激素组合对砧根增殖的影响

Table 1 Effects of different hormones on proliferation of *Heuchera micrantha*

编号 Number	培养基配方 Medium	增殖系数 Proliferation ratio	生长情况 Growth situation
1	MS+6-BA 0.5 mg/L	8.94 a	生长较好,叶面积较小
2	MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L	8.13 ab	苗弱,偶有少量玻璃苗
3	MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L	9.76 ac	生长健壮,叶片较大,叶色正常
4	MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 2.0 mg/L	6.78 cd	长势一般,
5	MS+6-BA 1.0 mg/L	6.24 ef	长势一般,叶片较小
6	MS+6-BA 1.0 mg/L+ NAA 0.5 mg/L	7.72 bc	长势中等
7	MS+6-BA 1.0 mg/L+ NAA 1.0 mg/L	7.36 cd	芽弱,叶面积小
8	MS+6-BA 1.0 mg/L+ NAA 2.0 mg/L	7.58 ab	长势一般,叶片较小
9	MS+6-BA 1.5 mg/L	5.14 ac	增殖慢,小苗基部产生细弱根系
10	MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L	5.23 cd	增殖慢,小苗基部产生细弱根系
11	MS+6-BA 1.5 mg/L+ NAA 1.0 mg/L	6.12 cd	增殖较慢,芽弱
12	MS+6-BA 1.5 mg/L+ NAA 2.0 mg/L	5.58 de	增殖较慢,小苗基部产生细弱根系

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercases indicated significant difference at 0.05 level

表 2 不同培养方式对砧根增殖的影响

Table 2 Effects of different culture methods on proliferation of *Heuchera micrantha*

培养方式 Culture mode	培养基 Medium	增殖系数 Proliferation ratio	生长情况 Growth situation
液体培养 Liquid culture	MS+NAA 1.0 mg/L+ 6-BA 0.5 mg/L	3.42 a	植株生长较快,长势一般
0.2% 琼脂培养 0.2% agar culture	MS+NAA 1.0 mg/L+ 6-BA 0.5 mg/L	4.63 c	植株生长快,长势健壮
0.4% 琼脂培养 0.4% agar culture	MS+NAA 1.0 mg/L+ 6-BA 0.5 mg/L	3.74 b	植株生长快,长势一般
0.6% 琼脂培养 0.6% agar culture	MS+NAA 1.0 mg/L+ 6-BA 0.5 mg/L	2.28 b	植株生长缓慢,长势较弱

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercases indicated significant difference at 0.05 level

2.3 不同培养时间对砧根增殖的影响 由表 3 可知,培养时间对砧根增殖影响很大,增殖系数与培养时间呈一定线性相关。即随着培养时间的延长,丛生芽数量不断增加,增殖系数逐渐增大。但培养时间过长,玻璃化程度也越来越严重。因此,培养时间不宜过长,培养 40 d 较好,增殖系数达 3.23,试管苗长势健壮。这不仅能保证一定数量的丛生苗,同时又可以避免出现玻璃化现象。

表 3 不同培养时间对砧根增殖的影响

Table 3 Effects of different culture times on proliferation of *Heuchera micrantha*

培养时间 Culture time//d	增殖系数 Proliferation ratio	生长情况 Growth situation
20	2.07 a	植株生长良好
30	2.79 b	植株生长良好
40	3.23 c	植株长势健壮
60	5.06 b	出现玻璃化

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercases indicated significant difference at 0.05 level

2.4 不同 pH 对砧根增殖的影响 由表 4 可知,不同 pH 对砧根增殖的影响明显,当培养基 pH 为 5.0 时增殖效果最好,增殖系数为 1.92,且试管苗生长健壮,植株叶片大。其次是 pH 为 5.5,增值系数为 1.71;增殖效果最差的是 pH 为 6.5,增殖系数只有 1.53,植株个体体积也相对很小。

3 结论与讨论

组培育苗效率通常采用计算增殖系数来衡量,一般情况

下,通过添加一定浓度的细胞分裂素来提高增殖系数,但如果添加的植物激素浓度过高,诱导分化的试管苗容易产生玻璃化现象,使有效芽数减少。研究表明,砧根组培增殖培养中,单独添加 KT 或单独添加 6-BA 增殖效果较好,但在 KT 或 6-BA 中加入适量的 NAA 或 IAA 后,植株的生长状态会更佳^[7-9],这表明植物激素组合使用更有利于增殖培养。该研究中,通过 6-BA 和 NAA 联合试验筛选得到砧根组培增殖最适培养基是 MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L,增殖系数为 9.76,试管苗生长健壮,长势也较一致,叶片较大,叶色正常。NAA 浓度超过 1.0 mg/L 时增殖系数减小。

表 4 不同 pH 对砧根增殖的影响

Table 4 Effects of different pH on proliferation of *Heuchera micrantha*

pH	增殖系数 Proliferation ratio	生长情况 Growth situation
5.0	1.92 a	增殖快,生长健壮,叶片大
5.5	1.71 b	增殖较快,叶片大
6.0	1.67 ab	增殖一般,个体体积小
6.5	1.53 c	增殖少,个体体积小

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercases indicate significant difference at 0.05 level

该试验还比较了不同培养方式对砧根增殖的影响,结果发现采用添加 0.2% 琼脂浓度的培养基增殖效果最好,原因可能是外植体及其分化形成的丛生芽能充分接触培养基,有

(下转第 47 页)

3 结论与讨论

与菊花带芽茎段、叶片、花托等外植体比较而言,花瓣和茎尖的病毒含量较少^[3]。花瓣作为组织培养的外植体具有取材容易的特点^[7],且其变异率高于具有分生组织的外植体且变异主要体现在花色、花径、花型等特性上^[8-9]。该试验以盆栽小菊“子午线”的花瓣作为外植体,研究不同培养基对花瓣诱导愈伤组织的影响,结果表明,6-BA 浓度为 2.0 mg/L, NAA 为 1.0 mg/L 时,愈伤组织的诱导率最高达 98%,分别高于刘兴玉等^[10]和曾凡力^[11]而低于邓丽娟等^[12]诱导花瓣愈伤组织的诱导率,出愈时间较短,培养 10 d 后在花瓣边缘出现绿色的愈伤,颗粒状疏松,无褐化现象。

以小菊愈伤组织为材料,探究不同激素组合对分化不定芽的效果,结果表明,6-BA 浓度为 3.0 mg/L, NAA 浓度为 0.1 mg/L,愈伤组织分化不定芽的分化率最高,达 90.30%,这与以花瓣为外植体进行组织培养中分化率过低和出芽率过低的结果不同^[11-13],可能与菊花的品种不同有关。

植物组织培养过程中通常会出现一些玻璃化现象,植物组培苗的这种生理性病变可能是在高浓度激素以及高湿度的培养条件下形成的^[14],与正常组培苗相比,表现为叶片呈透明、卷曲、条形状^[15],不定芽分化能力差,增殖、生根率低等^[16]。该研究针对不同玻璃化程度的组培苗采用较低浓度的 6-BA 进行缓解玻璃化,结果表明,玻璃化程度轻的组培苗在 6-BA 浓度为 0.2 mg/L 的培养基中培养后发生逆转,得到正常组培苗的数量最多,即转化率最高达 98.36%,但较严重的玻璃化苗没有发生逆转,在培养过程中褐化死亡,这与较严重的玻璃化幼苗即使转移到良好的培养条件中也无法逆转的结论一致^[17],该试验的研究结果将为解决菊花玻璃

化苗提供一定的数据参考。

参考文献

- [1] 吴鑫.小菊品种‘炫彩’和‘紫裳粉霓’的测试及评价[D].武汉:华中农业大学,2016.
 - [2] 沈佳逾.造型菊选育及其配套栽培技术研究[D].南京:南京农业大学,2014.
 - [3] 刘萌萌.盆栽小菊高频再生体系建立与试管开花研究[D].银川:宁夏大学,2017.
 - [4] 王青.盆栽多头小菊株型改良的育种研究[D].北京:北京林业大学,2013.
 - [5] 沈瑶,王晗璇,侯海娟,等.引进盆栽小菊品种观赏价值及园林应用的综合评价[J].广西植物,2021,41(8):1363-1371.
 - [6] 徐士清,杨世湖,倪丹,等.非洲菊试管苗叶片的组培快繁[J].园艺学报,2002,29(5):493-494,504.
 - [7] 刘国华,陈海燕,宋刚,等.非洲菊花瓣的离体培养[J].安徽农业科学,2004,32(2):316-317.
 - [8] 王康才,张雪琼,茅毓英.杭菊花花瓣组织培养[J].中草药,2000,31(8):628-630.
 - [9] 邓年方,吴桂容.菊花花瓣的组培快繁技术研究[J].贺州学院学报,2007,23(3):144-145.
 - [10] 刘兴玉,蒲红.菊花花瓣的组织培养[J].西南农业大学学报,1990,12(2):204-206.
 - [11] 曾凡力.菊花花瓣的组织培养[J].北方园艺,2007(9):207-208.
 - [12] 邓丽娟,万子昱,骆淑媛.激素对菊花组织培养的影响[J].绿色科技,2018(24):177-178.
 - [13] 毛洪玉,李晓辉,刘志刚,等.地被菊幼嫩花瓣组织培养研究[J].沈阳农业大学学报,2005,36(1):68-71.
 - [14] DEBERGH P, HARBAOUI Y, LEMEURE R. Mass propagation of globe artichoke (*Cynara scolymus*): Evaluation of different hypotheses to overcome vitrification with special reference to water potential [J]. *Physiologia plant*, 1981, 53(2): 181-187.
 - [15] 袁佳,胡恒康,方炎明,等.不同培养条件对铁线莲不定芽增殖及玻璃化的影响[J].西北植物学报,2011,31(2):401-406.
 - [16] LIN S Z, ZHANG Z Y, LIN Y Z, et al. Comparative study on antioxidative system in normal and vitrified shoots of *Populus suaveolens* in tissue culture [J]. *Forestry studies in China*, 2004, 6(3): 1-8.
 - [17] 黄宇翔,吴建祖,柯昉,等.组织培养技术筛选香石竹低玻璃化无性系初报[J].中国农学通报,2006,22(8):88-90.
- (上接第 43 页)
- 利于吸收营养成分^[10],在很短时间内即能产生丛生芽,且产生的丛生芽数量多,植株生长快,长势健壮,长势一致,增殖系数最高达 4.63。但完全采用液体营养液培养,分化的芽器官反而很少,增殖系数只有 3.42。同时还发现,砧根增殖系数与培养时间呈线性关系,培养超过 40 d 后,随着丛生芽数量的不断增加,植株生长逐渐减弱,玻璃化程度也越来越严重,因此,培养时间不宜过长,为 40 d 较好。
- 采用接近流体状态培养基对砧根进行培养时,不同 pH 对砧根丛生芽增殖的影响也不同,结果表明,pH 为 5.0 时效果最好,增殖快,数量多,生长健壮,植株叶片大。

参考文献

- [1] 张慧,罗珍珍,孙纪霞,等.砧根组织培养离体快繁生根体系的建立[J].

- 山东林业科技,2020,50(4):26-29.
- [2] 卜顺法,方连明,陆锦明,等.优良地被植物“砧根”组织培养技术及其在景观绿化中的应用[J].上海农业科技,2020(3):73-74.
- [3] 殷丽青,谢苗苗,孙翊,等.彩叶植物砧根的研究进展[J].上海农业学报,2018,34(1):138-143.
- [4] 张德祥,张君艳.新优观叶花卉砧根的栽培管理技术[J].林业实用技术,2014(4):62-63.
- [5] 朱志国.金叶日本冬青组培增殖技术研究[J].安徽科技学院学报,2011,25(6):39-43.
- [6] 朱志国.影响百合试管鳞茎增殖因素的研究[J].热带作物学报,2013,34(10):1961-1965.
- [7] 章志红,曹慧敏,周士景.美洲砧根品种紫官殿组织培养与离体快繁研究[J].江苏农业科学,2011,39(5):69-71.
- [8] 邹清成,马广莹,史小华,等.砧根叶片离体快繁及工厂化生产技术研究[J].分子植物育种,2018,16(9):2920-2925.
- [9] 孙翊,殷丽青,支月娥,等.砧根‘紫色官殿’离体培养与快繁技术研究[J].上海农业学报,2019,35(3):85-89.
- [10] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室,译.植物组织和细胞培养[M].上海:上海科学技术出版社,1978:208.