

# 澳蜡花 ‘Snow Flake’ 的组织培养试验研究

娄利华, 曾 静, 蒋海燕, 晏 巧, 王正春

(重庆市林业科学研究院, 三峡库区森林生态保护与恢复重庆市市级重点实验室, 重庆 400036)

**摘 要:** 澳蜡花 (*Chamelaucium uncinatum*) ‘Snow Flake’ 作为新一代木本切花, 具有较高的观花、观叶及经济价值。本试验通过对澳蜡花 ‘Snow Flake’ 组培技术的研究, 为其进行工厂化繁育奠定基础。结果表明, 用 0.1%  $HgCl_2$  进行外植体消毒最佳时间为 7 min;  $MS1 + 6 - BA1.0 \text{ mg} \cdot L^{-1} + IBA0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1} + KT0.5 \text{ mg} \cdot L^{-1}$  为最佳初代培养基; 最适继代培养基为  $WPM1 + 6 - BA0.5 \text{ mg} \cdot L^{-1} + IBA0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1} + GA3 2.5 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ , 增殖系数 4.2, 增殖倍数 3 倍 ~ 6 倍; 最适生根培养基为  $1/2MS2 + IBA0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1} + 0.1 \text{ mg} \cdot L^{-1} \text{ GGR}$ 。

**关键词:** 澳蜡花; 组织培养; 增殖; 生根

中图分类号: S731

文献标识码: A

文章编号: 1003-5508(2014)02-0034-03

## An Experimental Study of Tissue Culture of *Chamelaucium uncinatum* ‘Snow Flake’

LOU Li-hua ZENG Jing JIANG Hai-yan YAN Qiao WANG Zheng-chun

(Chongqing Academy of Forestry, Chongqing Key Laboratory of Three Gorges Area Forest Ecology Protection and Restoration, Chongqing 400036, China)

**Abstract:** As a new generation of woody cut flowers, *C. uncinatum* ‘Snow Flake’ has a high ornamental and economic value. Based on the study of tissue culture of ‘Snow Flake’, the aim of this experiment was to lay the foundation for Industrial production of ‘Snow Flake’. The results showed that 7 minutes were the best time to sterilize explants by using 0.1%  $HgCl_2$ .  $MS1 + 6 - BA1.0 \text{ mg} \cdot L^{-1} + IBA0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1} + KT0.5 \text{ mg} \cdot L^{-1}$  was the optimum primary culture medium, the best subculture medium was  $WPM1 + 6 - BA1.0 \text{ mg} \cdot L^{-1} + IBA0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1} + GA3 1.5 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ , multiplication coefficient was 4.2, multiplication was 3 ~ 6. The most suitable rooting medium was  $1/2MS2 + IBA0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1} + 0.1 \text{ mg} \cdot L^{-1} \text{ GGR}$ .

**Key words:** *Chamelaucium uncinatum*, Tissue culture, Proliferation, Rooting

澳蜡花 (*Chamelaucium uncinatum*) ‘Snow Flake’ 为桃金娘科 (Myrtaceae) 植物, 多年速生常绿灌木, 耐旱, 耐瘠薄, 适应性强。原产于澳大利亚西部地区, 为澳大利亚最重要的乡土野生木本花卉品种<sup>[1]</sup>和主导性的出口商品花卉。作为新一代木本切花, 澳蜡花 ‘Snow Flake’ 常用做高档鲜切花、绿化景观树、观赏盆景、香精萃取等, 具有较高的观花、观叶及经济价值。但澳蜡花 ‘Snow Flake’ 果实小, 播种困难且实生苗易产生变异, 目前主要繁殖方式为扦插繁殖<sup>[2]</sup>。但扦插繁殖慢且生根率低, 采用组织

培养进行繁殖, 可缩短生产周期和扩大生产规模。

本次试验通过澳蜡花 ‘Snow Flake’ 无菌体系的建立, 对澳蜡花增殖培养及生根技术进行了研究, 筛选出澳蜡花 ‘Snow Flake’ 组织培养最佳增殖及生根培养基。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验地点

重庆市林业科学研究院生物技术研究中心。

收稿日期: 2013-12-04

基金项目: 国家林业局 948 项目“新优木本花卉淘金彩梅及其相关高新技术的引进”(2011-4-36)

作者简介: 娄利华 (1967-), 女, 教授级高级工程师, 主要从事土壤植物营养与花卉苗木培育等方面的研究工作。

## 1.2 外植体材料

从澳大利亚引进栽培的澳蜡花 'Snow Flake' 2 a 生植株, 摘取当年生健壮的半木质化嫩枝, 取顶端的嫩芽(除去嫩芽上的部分叶片)作为外植体, 长度为 1 cm 左右。

## 1.3 试验方法

将剪好的嫩芽放入组培瓶中, 加入少量洗衣粉和水振荡 2 min ~ 3 min, 再用纱布罩住瓶口, 用自来水冲洗 30 min, 瓶内留少量水备用。

用镊子将冲洗好的外植体放入三角瓶内, 先用 75% 的酒精消毒 30 s 后, 再用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  溶液消毒 6 min、6 min30 s、7 min、7 min30 s、8 min, 然后用无菌水冲洗 5 遍 ~ 6 遍, 后接种在初代培养基  $\text{MS1} + 6 - \text{BA} 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  上, 每个处理接 20 瓶, 每瓶接种 5 个顶芽, 培养 20 d 后观测污染率和死亡率。

## 1.4 培养基

1.4.1 初代培养基(每升培养基中加糖 15.0 g, 卡拉胶 9.0 g, pH 5.8)

(1)  $\text{MS1} + 6 - \text{BA} 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;

(2)  $\text{MS1} + 6 - \text{BA} 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;

(3)  $\text{MS1} + 6 - \text{BA} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

将外植体接种在上述 3 种初代培养基上, 每个处理接种 20 瓶, 每瓶 5 个顶芽, 30 d 后统计不同培养基上 45 个无菌外植体的分化情况。

1.4.2 继代培养基(每升培养基加蔗糖 30.0 g, 卡拉胶 10.0 g, pH 5.8)

(1)  $\text{MS2} + 6 - \text{BA} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA3} 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

(2)  $\text{MS2} + 6 - \text{BA} 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA3} 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

(3)  $\text{MS2} + 6 - \text{BA} 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA3} 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

(4)  $\text{WPM1} + 6 - \text{BA} 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA3} 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

(5)  $\text{WPM1} + 6 - \text{BA} 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA3} 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

(6)  $\text{WPM1} + 6 - \text{BA} 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA3} 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

将初代培养中产生的不定芽转入不同的增殖培养基中进行增殖, 每个处理 6 瓶, 每瓶 5 个不定芽,

培养 30 d 后, 观测不定芽的增殖和生长情况。

1.4.3 生根培养基(每升培养基加蔗糖 30.0 g, 卡拉胶 10.0 g, pH 值 5.8)

(1)  $1/2\text{MS2} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{GGR}$

(2)  $1/2\text{MS2} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

(3)  $1/2\text{MS2} + \text{IBA} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

(4)  $1/2\text{MS2} + \text{NAA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

将高度为 2.0 cm 的生长健壮的不定芽接种在生根培养上进行生根, 30 d 后观测根系形成情况。

## 1.5 培养条件

初代培养前一周进行暗培养。其他培养是在室温为  $24 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , 光照强度  $2000 \text{ lx} \sim 3000 \text{ lx}$  的培养条件下培养, 光照时间  $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同消毒时间对外植体存活情况的影响

由于所用外植体为嫩芽, 在消毒剂确定的情况下, 消毒时间的长短对外植体污染和存活影响极大。由表 1 可以看出, 消毒时间为 8 min 的嫩芽污染率最低, 为 31.2%, 但该处理的外植体有 12.5% 死亡, 其成活率为 56.3%; 消毒时间为 7 min 的嫩芽污染率为 38.1%, 但未见外植体死亡, 该处理的成活率最高, 为 61.9%。因此, 采用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  作为消毒剂的最佳消毒时间为 7 min, 其次为 6 min30 s。

表 1 不同消毒时间对澳蜡花 'Snow Flake' 污染及存活情况的影响

Table 1 Effects of different sterilization time on survival and pollution of 'Snow Flake'

消毒时间 Sterilization time	接种数(瓶) Inoculation No. (Bottle)	污染率(%) Contamination rate	死亡率 (%) Death rate	成活率 (%) Survival rate
6 min	20	41.2	—	58.8
6 min30 s	20	40.0	—	60.1
7 min	20	38.1	—	61.9
7 min30 s	20	44.4	—	45.6
8 min	20	31.2	12.5	56.3

### 2.2 不同激素浓度对澳蜡花 'Snow Flake' 不定芽诱导的影响

澳蜡花 'Snow Flake' 顶芽在接种 13 d 后开始萌动, 25 d 后直接分化产生不定芽, 在吲哚乙酸为  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、激动素为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的培养基中, 芽分化情况根据加入的 6-BA 浓度的差异而表现不同, (1) 号培养基为对照组中芽分化率最高, 为 91%,

(3)号培养基和(2)号培养基的芽分化率较(1)号低。(1)号培养基中6-BA为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , (2)号和(3)号分别为 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度偏高或偏低,因此澳蜡花‘Snow Flake’最适初代培养基为MS1+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KTO $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表2 不同培养基对澳蜡花‘Snow Flake’诱导的影响

Table 2 Effect of different mediums on induction of ‘Snow Flake’

培养基 Medium	接种芽数(个) Incubated buds	芽分化数(个) No. of buds differentiation	芽分化率(%) Bud differentiation rate
(1)	45	41	91
(2)	45	26	57.7
(3)	45	32	71.1

2.3 不同培养基对澳蜡花‘Snow Flake’丛生芽增殖的影响

从表3可以看出,细胞分裂素和生长素浓度相同,基本培养基为MS2的(2)号培养基和基本培养基为WPM1的(4)号培养基比较,看出(4)号和(2)号培养基的增殖系数差异不明显,为4.2和4.1,只是芽的长势有差异,说明基本培养基对澳蜡花芽增殖没什么影响。

表3还可以看出,(1)、(2)和(3)号培养基的增殖系数比较,(2)号培养基最高,说明6-BA有利于不定芽的增殖,浓度过高则抑制不定芽的增殖。从表3还可以看出,一定浓度的GA对芽增殖影响不大,但具有壮苗的作用,过高则会使苗木变卷曲而畸形,(4)号培养基的幼苗比(2)号培养基幼苗壮,叶色更浓,(5)号培养基GA浓度较低,幼苗比(4)号培养基弱,(6)号培养基GA浓度过高,幼苗叶片卷曲呈畸形。因此从增殖效果和苗木长势综合表现得出,最佳培养基为(4)号(见图1)。

表3 不同培养基对澳蜡花‘Snow Flake’丛生芽增殖及生长情况的影响

Table 3 Effects of different medium on proliferation of axillary buds and growth of ‘Snow Flake’

培养基 Medium	接种芽数 (个) Incubated buds	丛生芽数 (个) Axillary buds	增殖系数 Multiplication coefficient	生长情况 Growth
(1)	30	65	2.2	缓慢、弱、大部分芽黄化
(2)	30	123	4.1	正常、苗弱、叶色浅绿
(3)	30	75	2.5	弱、少量芽黄化
(4)	30	125	4.2	苗壮、叶色深绿
(5)	30	121	4.0	苗弱、叶色浅绿
(6)	30	119	4.0	苗卷曲、叶色浅绿



图1 (4)号增殖培养基下生长的澳蜡花‘Snow Flake’  
Fig.1 ‘Snow Flake’ cultured on NO.4 subculture medium

2.4 生根培养

接种10d后开始生根,通过对4种培养基植株生根情况比较可以看出,(1)号培养基生根情况最好,生根率为86.7%,20d根基本全部形成,一般每株3条~5条白色根,多的有5根~8根,长度1cm~1.5cm。(2)号培养基生根率较(1)号低16.7%,这说明适当的生根粉对‘Snow Flake’生根具有促进作用。(3)号培养基与(2)号比较,其生根较差,说明适当浓度的IBA对‘Snow Flake’生根具有促进作用,浓度太高则抑制生根。在浓度相同、生长素不同情况下,添加IBA的培养基(2)号较添加NAA的培养基(4)号其生根率较高,叶色深绿、幼苗健壮,(4)号培养基叶色卷曲、有少量玻璃化现象。因此(1)号培养基是最佳生根培养基(见图2)。



图2 (1)号培养基生根的澳蜡花‘Snow Flake’  
Fig.2 ‘Snow Flake’ cultured on NO.1 rooting medium

2.5 炼苗移栽

移栽前将生根的瓶苗不开口移到自然光照下强化锻炼3d~5d,待其茎逐步变为褐红后,即可移栽到无纺布轻基质里,轻基质比例为草炭土:珍珠岩=4:1,用塑料薄膜保湿;每7d~10d用浓度800倍~

(下转第56页)

## 4 讨论

生物入侵的发生是一个滞后和缓慢的过程,外来种成为入侵种,受到多种因素的影响,其过程极其复杂。外来物种风险性分析也是一项复杂的系统工程,其信息的模糊性和不确定性给有害生物风险综合评价增加了难度。本次重庆地区香根草入侵风险评价体系构建和指标赋值参照了已有的研究成果,在赋值和计算方法上属于初级评估手段,风险分析权重的确定有待于进一步研究,另外,香根草在重庆地区引入的时间不长,对其生物学、生态学、检疫和防治技术等方面的了解还比较有限,本项研究的风险分析结果只是一个初步结果,还有待于进一步调整和完善的。

### 参考文献:

[1] 万方浩,郭建英,王德辉,等.中国外来入侵生物的危害与管理对策[J].生物多样性,2002,10(1):119~125.

- [2] 夏汉平.关于香根草及其资源和利用的研究.国外畜牧学—草原与牧草,1998,(2):1~5.
- [3] 徐汝梅.生物入侵数据集成、数量分析与预警[M].北京:科学出版社,2003:4~8,179~190.
- [4] 田家怡.山东外来入侵有害生物与综合防治技术[M].北京:科学出版社,2004:64~66.
- [5] Gossett L, Lester J, Gonzalez L. Galveston Bay Invasive Species Risk Assessment Final Report [R]. USA: Environmental Institute of Houston University & Houston Advanced Research Center, 2004:10~17.
- [6] 欧健,卢昌义.厦门市外来植物入侵风险评价指标体系的研究[J].厦门大学学报(自然科学版),2006,45(6):883~888.
- [7] 赵忠琼,杨利波.生物入侵的监测与风险评价[J].环境科学导刊,2010,29(增刊2):11~15.
- [8] 闫淑君,洪伟,吴承祯.生物入侵的评价与预警研究[J].安全与环境学报,2007,7(3):71~74.
- [9] 谢九祥,刘绍羽,王咏,等.园林引种生物入侵风险评价——以五叶地锦为例[J].防护林科技,2008,(3):19~21,28.
- [11] 蒋青,梁忆冰,王乃杨,等.有害生物危险性评价指标体系的初步确定[J].植物检疫,1994,8(6):331~334.
- [12] 向言词,彭少麟,等.植物外来种的生态风险评价和管理[J].生态学杂志,2002,21(5):40~48.

(上接第36页)

表4 不同培养基对澳蜡花‘Snow Flake’生根情况的影响  
Table 4 Effects of different medium on rooting condition of ‘Snow Flake’

培养基 medium	接种不定芽 Incubated buds	不定芽生根数 Shoot rooting No.	生根率(%) Rooting rate	根量(根·株 <sup>-1</sup> ) Root No.	根长(cm) Root length	其他 Other
(1)	30	26	86.7	3~8	1~1.5	根乳白色
(2)	30	21	70	3~5	1.2	根乳白色
(3)	30	17	56.7	1~3	1.1	根乳白色
(4)	30	10	33.3	1~3	0.9	少量根粗、偏绿

1 000倍的多菌灵或托布津喷药一次,以防止菌类孳生,20天后待其开始萌发时揭开塑料薄膜,移栽在大棚里面。

## 3 结论与讨论

通过0.1% HgCl<sub>2</sub>对澳蜡花‘Snow Flake’外植体的不同消毒时间处理比较表明,消毒时间为7 min的外植体成活率最高,为61.9%;消毒时间太短,污染率高,成活率低;消毒时间太长,污染率低但死亡率高,成活率也低。

激素浓度和不同培养基配比对澳蜡花‘Snow Flake’的诱导、增殖及生根具有显著影响。分析表明,最适宜的初代培养基为MS1+6-BA1.0 mg·

L<sup>-1</sup>+IBA0.2 mg·L<sup>-1</sup>+KTO.5 mg·L<sup>-1</sup>;根据增殖倍数及幼苗长势综合表现,最佳继代培养基为WPM1+6-BA0.5 mg·L<sup>-1</sup>+IBA0.2 mg·L<sup>-1</sup>+GA3 1.5 mg·L<sup>-1</sup>,增殖系数4.2,增殖倍数3倍~6倍;根据根系生长情况分析,最佳生根培养基为1/2MS2+IBA0.2 mg·L<sup>-1</sup>+0.1 mg·L<sup>-1</sup>GGR。

澳蜡花‘Snow Flake’具有较高的观赏价值,本次试验为推动澳蜡花工厂化生产提供了依据。

### 参考文献:

- [1] 孟会,李青,潘会堂.澳蜡花‘Snow Flake’外植体消毒方法的研究[J].中国农学通报,2010,26(23):271~274.
- [2] 周玉珍,史骥清,滕士元,等.澳洲植物—蜡花的引种栽培和繁殖[J].中国城市林业,2006,4(5):51~52.