

DOI:10.14188/j.ajsh.2020.02.012

桂花非试管快繁技术研究

张丽,艾薇,王友如*

(湖北师范大学 生命科学学院,湖北 黄石 435002)

摘要:以一年生丹桂枝条为材料,探索桂花非试管快速繁殖最佳条件。用不同浓度吲哚乙酸(IBA)浸泡插条基部,对比不同实验组材料的生根率。实验结果显示,200 mg/L的IBA处理的桂花枝条,在定时控制喷雾条件下,插后55 d的生根率和成苗率达100%。本研究对加快桂花培育速度、对深化桂花快繁技术研究具有重要意义。

关键词:桂花;非试管快繁;喷雾;生根

中图分类号: S685.13

文献标识码: A

文章编号: 2096-3491(2020)02-0243-05

Studies on non-test tube rapid propagation technology of *Osmanthus fragrans*

ZHANG Li, AI Wei, WANG Youru*

(College of Life Sciences, Hubei Normal University, Huangshi 435002, Hubei, China)

Abstract: The non-test tube rapid propagation technology system of *Osmanthus fragrans* was studied using the annual Dangui branches as explants. The roots of the cut branches were treated with different concentrations of indolebutyric acid (IBA) to analyse the rooting rates of different explants. Treated *Osmanthus fragrans* branches with IBA at the concentration of 200 mg/L, the results showed that the rooting and seedling survival rate was up to 100% under the cultivation conditions of controlled mist spraying system by the end of 55th day. The results are of great significance for accelerating the cultivation speed of *osmanthus fragrans* and deepening the research on micropropagation of *osmanthus fragrans*.

Key words: *Osmanthus fragrans*; non-test tube rapid propagation; mist spray; rooting

0 引言

桂花(*Osmanthus fragrans*)是我国传统十大名花之一,又名岩桂,木犀科(Oleaceae)常绿灌木或小乔木,成树枝繁叶茂,常年绿色,一般高约3~5 m,最高可达18 m,花期为9月—10月,果期为次年3月^[1~3]。桂花属于阳性植物,不是非常耐寒,对土壤水分要求不高,好潮湿,忌积水或过湿^[4~6]。桂花原产中国,至今已有2 500年的栽培历史,经过长期的自然杂交,品种资源极为丰富。桂花被许多城市确立为市花,很大一部分原因在于它的功能多样化,桂

花不仅能够绿化、美化环境,而且自身散发出来的香气也为人所喜爱;同时,桂花还可运用于食品工业,例如桂花米酒、桂花糕等,是目前极具发展前景的绿化树种^[7];除此之外,现代医学表明,桂花含有丰富的黄酮类物质,在抗肿瘤、抗病毒、抗氧化等方面具有重要作用^[8~12]。但因其嫁接技术要求高,成活率较低,苗木繁育速度慢,极大地限制了优质树种的推广。

近几年来,桂花无性快速繁殖主要通过枝条扦插进行生根繁殖,该方法取材方便,操作简单,可保持母本的优良性状,最大缺点是繁殖系数低,育苗时

收稿日期:2019-12-04 修回日期:2020-02-21 接受日期:2020-04-03

作者简介:张丽(1994-),女,硕士生,主要从事植物分子生物学与基因工程研究。E-mail:1056231426@qq.com

*通讯联系人:王友如(1972-),男,博士,教授,主要从事植物分子生物学与基因工程研究。E-mail:381535837@qq.com

基金项目:湖北省技术创新专项(重大项目)(2019ABA112)

引用格式:张丽,艾薇,王友如.桂花非试管快繁技术研究[J].生物资源,2020,42(2):243-247.

Zhang L, Ai W, Wang Y R. Studies on non-test tube rapid propagation technology of *Osmanthus fragrans* [J]. Biotic Resources, 2020, 42(2): 243-247.

所取插条一般 20~30 cm 的长度,扦插后的管理要求精细,育苗周期长,劳动成本较高^[13,14]。非试管快繁技术就是以含有一叶一芽的枝条为繁殖材料,通过特殊技术处理后插入苗床诱导插条生根,是介于扦插技术与组织培养技术之间的创新型无性快速繁殖技术;该技术用适当试剂处理植物一片叶或一个芽的枝条,利用智能化手段,使实验材料生根后发芽,最终长成苗。该技术繁殖系数高,能高效利用实验材料,缩短生根时间,提高插条存活率,从而实现优质苗木的大规模工厂化生产^[15~18]。为了建立优质桂花的非试管快速繁殖技术体系,本研究以桂花一年生枝条为实验材料,探索桂花非试管繁殖的最优条件,为优质桂花快速繁殖奠定良好的技术基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 插条

选取湖北师范大学校内长势优良、生长健壮、无病虫害的母树一年生枝条。

1.1.2 扦插基质及条件

扦插基质为珍珠岩+沙($m_{\text{珍珠岩}}:m_{\text{沙}}=1:1$),该扦插基质设在温室大棚中,扦插前用 1%KMnO₄对插床进行消毒处理。扦插枝条前先用水将基质充分浸湿。温室大棚内空气相对湿度保持在 60%~80%,避免直射光照射^[3]。实验期间定时喷雾,让插条保持湿润状态。

1.2 实验方法

1.2.1 枝条剪取

选取同一株桂花树上的一年生枝条,用流水冲洗 2~3 次,用修枝剪将枝条剪成均带有一芽的枝节,剪取的枝节应保留至少 1 片叶片,枝节的下端剪成马蹄形,而后捆成数量相同的若干捆,插条剪取的长度要保持基本一致。

1.2.2 不同浓度吲哚丁酸处理实验

选取同一株桂花树上的一年生枝条,剪成长短

相同的插条进行扦插。IBA 浓度设为 50、100、150、200、250 mg/L,用清水作为对照组。将捆好的枝节基部朝下放在容器中,枝节下端基部 2~3 cm 浸入不同浓度的 IBA 溶液及清水中 2 h,每种浓度处理浸泡 50 根插条,做 3 组重复,其他因素保持统一,然后取出插条晾干备用。

1.2.3 扦插方法

将处理后的一年生丹桂插条按浸泡 IBA 浓度相同的分畦扦插,扦插行距为 5 cm×10 cm,扦插深度为插条的 1/3~2/3,插条直插,并将扦插基质适当按压,以保证插条与基质紧密结合,并保持湿润^[3,19]。扦插在上午 10 点之前或者下午 4 点之后,并且需要当天剪当天扦插^[17],否则会导致水分和营养流失,影响成活率和生根率。

1.2.4 扦插后管理

大棚内设有定时喷雾系统,温度保持在 14~30 ℃,湿度保持在 60%~80%。在第二周的实验过程中,每隔 3~4 d 叶片喷施一次 0.3% 的 KH₂PO₄。

1.2.5 定时喷雾实验

以不喷雾作为对照组,实验组设定喷雾时长为 1 min,每天 8:00~20:00,间隔 1 h 定时喷雾。

1.3 统计学分析

对实验统计结果进行方差分析,数据采用 SPSS 分析软件进行方差分析。生根率(%)=生根株数/扦插株数×100%。

2 结果与分析

2.1 不同浓度吲哚丁酸对生根率的影响

观察发现,桂花插条在扦插后 25 d 左右基部开始形成愈伤,35 d 左右部分插条开始长出不定根(如图 1),55 d 后全面翻床进行统计。具体数据见表 1。

由表 1 可以看出,桂花扦插生根率由高到低的 IBA 浓度依次为 200、250、150、100、50 mg/L。200 mg/L IBA 对桂花扦插生根有明显的促进作用,

表 1 不同浓度 IBA 处理对桂花扦插生根的影响

Table 1 Effects of different concentrations of IBA on rooting of *Osmanthus fragrans* cuttings

IBA 浓度/mg·L ⁻¹	处理时间/h	扦插条数	插条生根数			生根平均值	生根率/%
			1 组	2 组	3 组		
0	2	150	6	5	7	6.0	12.0
50	2	150	11	13	9	11.0	22.0
100	2	150	15	18	17	16.7	33.4
150	2	150	20	21	23	21.3	42.6
200	2	150	26	25	28	26.3	52.6
250	2	150	19	23	21	21.0	42.0



图1 1年生枝条所生不定根

Fig. 1 Adventitious root originated from 1 year old branch



图2 一年生插条所生根系

Fig. 2 Root system originated from annual cuttings

生根率52.6%。

对表1中的生根率进行方差分析,结果如表2所示,由表2可知,不同浓度IBA处理对桂花扦插生根的影响差异极显著($F=62.771, F>F_{0.01}$)。

表2 不同浓度IBA处理对桂花扦插生根影响的方差分析
Table 2 Variance analysis of the effects of different concentrations of IBA on rooting of *Osmanthus fragrans* cuttings

差异来源	平方和	自由度	均方	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
组间	836.944	5	167.389	62.771	3.11	5.06
组内	32.000	12	2.667			
总计	868.944	17				

2.2 定时喷雾对生根率的影响

表1为没有定时喷雾的情况下各实验组桂花插条的生根率,表3为定时喷雾情况下各实验组桂花插条的生根率,结合表1和表3可以明显看出,定时喷雾对桂花插条生根具有明显的促进作用。在200 mg/L IBA处理的基础上定时喷雾更有利于插条成活与生根,生根率高达100%,根系十分发达,见图2,所生根均为皮孔处生根。由表4可知,定时喷雾处理对桂花扦插生根的影响差异极显著($F=194.483, F>F_{0.01}$)。

2.3 扦插时间对桂花扦插生根的影响

桂花插条扦插后25 d左右基部开始形成愈伤,35 d左右已有部分插条长出不定根,分别对A、B、C、D、E、F这6个实验组在扦插35 d、40 d、45 d、50 d、55 d、60 d、65 d后的插条生根条数进行统计,结果如图3所示。由图3可知,插条在扦插35 d后生根率呈上升趋势,在55 d时达到最大生根率,而后生根率变化很小,基本趋于稳定。

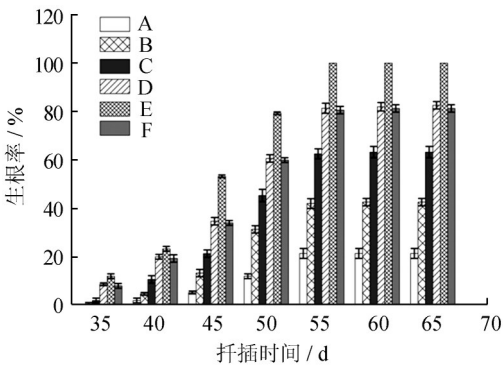


图3 扦插时间对桂花扦插生根的影响

Fig. 3 Effects of cutting time on rooting of *Osmanthus fragrans* cuttings

注:A, 对照; B~F, IBA 浓度分别为50, 100, 150, 200, 250 mg/L, 定时喷雾

Note: A, contrast; B~F, IBA concentration is 50, 100, 150, 200, 250 mg/L respectively, timing spraye

表3 定时喷雾对桂花扦插生根的影响

Table 3 Effect of timing spray on rooting of *Osmanthus fragrans* cuttings

IBA 处理浓度/mg·L ⁻¹	处理时间/h	扦插条数	生根条数			生根平均值	生根率/%
			1组	2组	3组		
0	2	150	10	9	13	10.7	21.4
50	2	150	21	19	23	21.0	42.0
100	2	150	32	33	29	31.3	62.6
150	2	150	39	40	43	40.7	81.4
200	2	150	50	50	50	50.0	100.0
250	2	150	40	39	42	40.3	80.6

表4 定时喷雾对桂花扦插生根影响的方差分析
Table 4 Variance analysis of the effects of timing spray on rooting of IBA on rooting of *Osmanthus fragrans* cuttings

差异来源	平方和	自由度	均方	F	F _{0.05}	F _{0.01}
组间	3 133.333	5	626.667	194.483	3.11	5.06
组内	38.667	12	3.222			
总计	3 172.000	17				

3 结论与讨论

桂花无性快速繁殖技术体系中,提高繁殖系数和插条生根率是无性快速繁殖的关键瓶颈技术。本研究建立了基于喷雾法的非试管快繁技术体系,生根率100%,根系发达,移栽成活率100%,同其他普通扦插法相比,本研究建立的技术体系具有繁殖系数和效率高、生根率高、成活率高等优点。同时本研究快速繁殖的桂花树枝条次年即可开花,开辟了一条以优质桂花树矮化为常年开花行道树的新途径,为优质桂花树香漫行道提供了技术支撑。

影响桂花非试管快速繁殖生根的主要因素是激素浓度和定时喷雾。外源激素的处理对插条生根有一定的促进作用,主要是由于它影响插条内部养分的分配,而且还能促进细胞分裂和生长,促进不定根的形成。根据本实验结果可知:IBA的浓度对桂花扦插生根有很大影响,低浓度时插条生根率随着IBA浓度的升高而升高,IBA浓度在200 mg/L时生根率达到最高,而后随浓度升高生根率降低。

桂花扦插育苗的过程中定时喷雾,不仅能够有效保持空气中的湿度,减轻插条脱水,还可以促进插条积累碳水化合物,为插条伤口愈合和生根所需的能量提供保障,所以在使用200 mg/L IBA处理的基础上定时喷雾更有利于插条成活与生根,并且能大大缩短培育周期。采用定时喷雾的方法可使桂花在扦插后55 d全部生根,生根率高达100%,大大缩短了培育周期,节省了更多的人力物力,具有良好的应用前景。

参考文献

[1] 张丽霞,王毅彰. 桂花的离体快繁技术[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(3): 42-43.
Zhang L X, Wang Y Z. In vitro rapid propagation technology of *Osmanthus fragrans* [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2013, 41(3): 42-43.
[2] 刘友全,梁茂厂,陈跃华. 桂花离体胚的组织培养[J]. 经济林研究, 2008, 26(2): 12-16.
Liu Y Q, Liang M C, Chen Y H. Embryo culture of

Osmanthus fragrans Lour. in vitro [J]. Economic Forest Research, 2008, 26(2): 12-16.
[3] 宋会访,葛红,周媛,等. 桂花离体培养与快速繁殖技术的初步研究[J]. 园艺学报, 2005, 32(4): 738-740.
Song H F, Ge H, Zhou Y, et al. Primary study on in vitro culture and micropropagation of sweet *Osmanthus* [J]. Horticulture Journal, 2005, 32(4): 738-740.
[4] 李琳. 10个常见桂花品种耐干热能力研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2013.
Li L. Evaluation on drought and high-temperature resistance of ten cultivars of *Osmanthus fragrans* [D]. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2013.
[5] 王爱东. 桂花快速繁育技术[J]. 现代农业科技, 2008 (17): 93, 95.
Wang A D. Rapid breeding technology of *Osmanthus fragrans* [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2008(17): 93, 95.
[6] 杨建明. 桂花繁殖技术[J]. 现代农业科技, 2012(2): 194-195.
Yang J M. *Osmanthus fragrans* propagation technology [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2012 (2): 194-195.
[7] 鄢洪星,黄义林,周传涛,等. 桂花经济价值及其繁育技术[J]. 现代农业科技, 2009(1): 62-63.
Yan H X, Huang Y L, Zhou C T, et al. Economic value of *Osmanthus fragrans* and its breeding technology [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2009 (1): 62-63.
[8] 王丽梅. 桂花有效成分合成转化规律与药学研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2009.
Wang L M. The synthesis regularity of active components and pharmaceutical research of *Osmanthus fragrans* Lour [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2009.
[9] Mao S Q, Wang K D, Lei Y K, et al. Antioxidant synergistic effects of *Osmanthus fragrans* flowers with green tea and their major contributed antioxidant compounds [J]. Sci Rep, 2017, 7: 46501.
[10] Zhou F, Zhao Y J, Li M Q, et al. Degradation of phenylethanoid glycosides in *Osmanthus fragrans* Lour. flowers and its effect on anti-hypoxia activity [J]. Sci Rep, 2017, 7: 10068.
[11] Wang L, Tan N N, Hu J Y, et al. Analysis of the main active ingredients and bioactivities of essential oil from *Osmanthus fragrans* var. thunbergii using a complex network approach [J]. BMC Syst Biol, 2017, 11: 144.
[12] Xiong L N, Mao S Q, Lu B Y, et al. *Osmanthus fragrans* flower extract and acteoside protect against dgalac-

- tose-induced aging in an ICR mouse model [J]. J Med Food, 2016, 19(1): 54-61.
- [13] 李三成, 员军现. 生根剂处理对桂花扦插繁殖育苗成活率的影响[J]. 河南林业科技, 2016, 36(3): 16-17, 44.
- Li S C, Yuan J X. Effect of rooting agent treatment on survival rate of *Osmanthus fragrans* cutting propagation [J]. Henan Forestry Science and Technology, 2016, 36(3): 16-17, 44.
- [14] 陈少卿. 浅谈桂花的快繁技术[J]. 华章, 2011(29): 360.
- Chen S Q. Talking about the fast propagation technology of *Osmanthus fragrans* [J]. Huazhang, 2011(29): 360.
- [15] 张智慧, 万少侠, 王彩云, 等. 金桂花树苗的扦插繁育技术[J]. 绿色科技, 2012(7): 79, 81.
- Zhang Z H, Wan S X, Wang C Y, *et al.* Cutting propagation technology of golden *Osmanthus* saplings [J]. Green Technology, 2012(7): 79, 81.
- [16] 华庆路, 吴艳玲. 园艺种苗非试管快繁关键技术的发展[J]. 北京农业, 2013(36): 70.
- Hua Q L, Wu Y L. Development of key techniques for non-*in vitro* rapid propagation of horticultural seedlings [J]. Beijing Agriculture, 2013(36): 70.
- [17] 王兆玉, 林敬明, 徐增富. 药用及能源植物小油桐的非试管快繁技术研究[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(8): 1285-1286.
- Wang Z Y, Lin J M, Xu Z F. Efficient and rapid non-test tube cloning of *Jatropha curcas* [J]. J South Med Univ, 2007, 27(8): 1285-1286.
- [18] 付超, 周雪玲, 张彦生, 等. 植物非试管高效快繁技术试验研究[J]. 新疆农业科技, 2005(3): 19-20.
- Fu C, Zhou X L, Zhang Y S, *et al.* Experimental research on non-test tube efficient and rapid propagation technology of plants [J]. Xinjiang Agricultural Science and Technology, 2005(3): 19-20.
- [19] 李虹. 浅谈桂花树扦插繁殖技术[J]. 农业装备技术, 2014, 40(5): 50-52.
- Li H. Talking about the cutting propagation technology of *Osmanthus* tree [J]. Agricultural Equipment and Technology, 2014, 40(5): 50-52.

□

(编辑: 杨晓翠)