

珍稀植物鹅掌楸组织培养与离体快繁技术研究

郭治友¹, 肖国学¹, 龙应霞¹, 李永波¹, 饶 辉²

(1. 黔南民族师范学院 生命科学系, 贵州 都匀 558000; 2. 黔南民族师范学院 贵定分院, 贵州 贵定 551300)

摘 要: 鹅掌楸是优良绿化与优质用材的野生珍稀植物之一, 采野生多年生植物的冬芽为外植体, 以春芽、叶片、叶柄、花蕾和果实作对照, 用 MS 为基本培养基, 以 1/2MS 作对比, 研究鹅掌楸的组织培养快繁技术。结果表明, 初代培养最适为: MS + 2.5 mg/L₆ - BA + 1.0 mg/L IBA + 0.2 mg/L KT, 增殖与继代培养最适为: MS + 1.0 mg/L₆ - BA + 0.5 mg/L IBA; 将组织培养苗扦插在有机腐殖质土和珍珠岩(3:1)基质中, 瓶外生根率达 83.3% 以上。

关键词: 鹅掌楸; 组织培养; 离体快繁

中图分类号: Q944

文献标识码: A

文章编号: 1005 - 6769(2006)06 - 0058 - 03

Research on the Technology of Tissue Culture and Vitro Rapid Micropropagation of the Rare Plant *Liriodendron chinense*

GUO Zhi - you¹, XIAO Guo - xue¹, LONG Ying - xia¹, LI Yong - bo¹, RAO Hui²

(1. Department of Life Science, Qiannan Normal College for Nationalities, Duyun 558000, China; 2. Guiding Branch, Qiannan Normal College for Nationalities, Guiding 551300, China)

Abstract: *Liriodendron chinense* is a rare wild plant that is used for fine afforestation and high - quality wood. Winter buds of its perennial plant are taken for the explant. Meanwhile, spring buds, blades, petioles, flower buds and fruits are compared. The MS is regarded as basic medium and 1/2MS is compared. Vitro rapid micropropagation technology of *Liriodendron chinense* is researched. The results showed that best medium for first culture is MS + 6 - BA 2.5mg/L + IBA 1.0mg/L + KT 0.2 mg/L. The best medium for proliferation and inherit culture are MS + 6 - BA 1.0mg/L + IBA 2.0mg/L. The striking root rate outside the bottle of young plant that is cuttaged in admixture (soil of organic humus :pearlite = 3:1) is more 83.3%.

Key words: *Liriodendron chinense*, Tissue culture, vitro rapid Micropropagation

鹅掌楸 *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. 又名马褂木、中国鹅掌楸、鸭脚枫香(螺丝壳), 是古老的残遗树植物, 它在第三纪曾广布于北半球, 由于第四纪冰川的压力, 现在已处于濒危状态。^[1,2] 在 1999 年 9 月国家重点保护名录(第一批)中列为二级保护物种。该物种在贵州都匀市螺丝壳有野外分布, 种群数较大, 环境比较特殊, 受当地居民的干扰甚大。^[1] 它又是优良的绿化树种, 优质木材等。鹅掌楸自身繁殖率低, 生根较难,^[5] 为野生珍稀鹅掌楸种质资源的保护和开发利用, 有必要对其进行组织培养和离体快繁技术研究。据查, 在鹅掌楸的快繁技术方面的研究, 有关于杂交鹅掌楸(鹅掌楸 × 北美鹅掌楸)的研究,^[6] 对鹅掌楸的研究用外植体是以种子发芽后的无菌苗,^[4] 种子(具体说是果)及二年生苗冬芽进行诱导,^[3] 但对多年生植物作为外植体, 且运用瓶外生根技术, 特别首次运用当地产腐殖质(经处理过的)和购买的珍珠岩(3:1)为基质, 来改进快繁技术研究, 尚无报道。因此, 开发利用鹅掌楸资源意义重大。

收稿日期: 2006 - 06 - 25

作者简介: 郭治友(1973 -), 贵州独山人, 黔南民族师范学院生命科学系讲师, 研究方向: 植物分类与植物资源开发。

1 材料与方法

1.1 试验材料^[8,9,10]

试验于 2005 年 11 月 - 2006 年 9 月在都匀市黔南民族师范学院生命科学系黔南州科技局项目专用实验室进行,母株采自都匀市螺丝壳多年生鹅掌楸大树(树高 24 米,胸径 0.83 米)下部冬芽为外殖体,以春芽、叶片、叶柄、花蕾和果实作对照(同一条件,不同时间)进行诱导。

1.2 外殖体灭菌

先用 75% 酒精 5s,后 0.1% HgCl_2 6 - 8min,再用无菌蒸馏水漂洗 3 - 5 次。将冬芽最外层叶剥去,从中轴纵切成四份备用。

1.3 培养基与培养条件

以最常用的 MS 培养基与 1/2MS 为基本培养基,附加外源激素:生长素为 IBA,细胞分裂素为 6-BA,激动素 KT。30g/L 蔗糖,7g/L 琼脂,3g/L 活性炭,pH 为 5.6 - 5.8,28℃,光照 2000LX。

1.4 初代培养

将灭菌处理过的芽接种到设计好的诱导培养基上,每天观察一次,做好各项记录,根据生长情况决定是否转到新的培养基上,还是继续在原培养基上培养。

1.5 增殖与继代培养

将诱导产生的愈伤组织,转接到增殖培养基上继代培养,每 2 天观察一次,做好记录,特别注意分化出丛生芽的时间长短和产生丛生芽数。

1.6 瓶外生根法生根与移栽

选取 2cm 高以上的丛生芽,在室内散射光条件下锻炼 1 周左右,采取逐步打开瓶口的方法,根据芽的大小确定打开瓶口大小。待打开完全后,将丛生苗取出,洗去基部的培养基,用剪刀将丛生苗分出小枝条,用杀菌剂处理半小时后,移入放有由阔叶腐质土和珍珠岩 3:1 的栽培基质的木箱中,浇足水分,用塑料膜盖好木箱,放于室内,室温 25℃ - 32℃,打开室内日光灯,湿度保持在 95% 以上。

2 结果分析

2.1 初代培养诱导愈伤组织情况

根据实验设计配制培养基。在各试验中,由于实验设备条件的不完备,起初的污染达 50% 以上,在改善后,基本上污染能控制在 2% 左右。

实验记录中在 $\text{MS} + 2.5 \text{ mg/L } 6\text{-BA} + 1.0 \text{ mg/L IBA} + 0.2 \text{ mg/L KT}$ 上,培养第 3 天,开始看到冬芽形态上有了明显的变化,发生变形。到 1 周后可在切口处和芽鳞叶上出现颗粒状的结构。20 天以后愈伤组织已明显可见。可转为继代增殖培养。据统计,诱导率达 90.3%。图 1 示诱导出愈伤组织。

后通过春芽、叶片、叶柄、花蕾和果实作为外殖体作对照进行诱导,诱导率情况见表 1。

2.2 继代增殖培养情况

初代培养能否不断增殖并进行继代培养,既是植物组织培养能否成功并实际应用的关键,又是植物离体快速繁殖中第二个阶段的目的,也是最为重要的一个问题。^[8]在实验设计中,主要对附加外源激素的浓度进行调节,以细胞分裂素为主,并添加低浓度的生长素,将增殖系数控制在 3.0 - 5.0 之间,以实现增殖和壮苗的双重目的,一步成苗。^[9]

在继代培养中, $\text{MS} + 1.0 \text{ mg/L } 6\text{-BA} + 0.5 \text{ mg/L IBA}$ 培养基上,愈伤组织增多,1 个月左右出现丛生芽的分化,丛生芽逐渐长大长高。见图 2。

用在 1/2MS 作基本培养基,进行继代增殖培养,与 MS 无明显差异。但培养出来的苗生长缓慢,周期较长。为达到缩短培养周期,有待进一步改善培养条件。

2.3 瓶外生根情况

为提高组培的效益,试验采取瓶外生根的方法,对组培苗丛生芽进行瓶外扦插生根。选择继代培养中 2cm 以上的小枝条,将其直接移入有机腐质土栽培基质中。培养时注意保湿 95% 以上,注意室内温度 25℃ - 32℃,光照强度为室内散射光。通过 2 个月的培养,幼苗生根良好,生根率达 83.3%。

表 1:不同外殖体诱导率情况统计表

	1.5BA + 2.0IBA	2.0BA + 1.5IBA	2.5BA + 1.0IBA	3.0BA + 0.5IBA	3.5BA
冬芽	47.1	73.8	90.3	86.2	85.4
春芽	38.6	84.3	81.5	77.4	62.7
叶片	39.5	85.0	94.0	81.7	77.1
叶柄	0	48.3	49.2	64.2	42.3
花蕾	0	35.4	42.7	0	0
果实	0	32.5	43.4	0	0

注:外殖体均采自同一株大树(树高 24 米,胸径 0.83 米)下部,MS 培养基,单位是 mg/L,加 0.2ZT,诱导率用%



图 1 鹅掌楸愈伤组织



图 2 继代增殖培养

3 讨论

3.1 在实验条件下,以野生鹅掌楸多年生的植株冬芽为外殖体,在附加 ZT 的 MS 培养基上成功诱导出丛生芽枝条,经过继代增殖和瓶外扦插生根后,获得了大量组培苗,从而建立了鹅掌楸组培快繁体系,这在国内外尚无报道。这将为鹅掌楸资源的保护与开发利用提供了有效保障和科学依据。

3.2 野生高山鹅掌楸由于生长在野外,枝条粗壮,灭菌困难,先用 75% 酒精处理 5 秒(注意时间不能过长),0.1% HgCl₂ 消毒 6 - 8min,污染率较低。时间控制要求高,操作技术熟练是保障。

3.3 在外源激素的选择上,运用价格较低,稳定性较好的激素类型,简单易行。琼脂采用条状琼脂,降低成本。在培养过程中不论初代培养,还是继代培养,褐化现象都会出现,因此都必须加活性炭。

3.4 木本植物已有报道利用组培苗生进行瓶外微条扦插生根方法获得成功。^[11,12] 研究利用此方法,在有机腐质土栽培基质上进行瓶外生根也获得成功,其生根率达到 83.3% 以上,有机腐质土在当地很多,从野外采来后,做消毒处理后待用,与市场上购买的进口有机腐质土相比更便宜,因而大大节省了组培用工和成本,也缩短了快繁周期,使鹅掌楸组培快繁技术更为有效实用。

参考文献:

- [1] 郭治友. 都匀市螺丝壳水源林保护区现存珍稀濒危植物鹅掌楸天然分布[J]. 黔南民族师范学院学报, 2003, (3): 34 - 36.
- [2] 刘丹, 顾万春, 杨传平. 中国鹅掌楸遗传多样性研究[J]. 林业科学, 2006, 42(2): 116 - 119.
- [3] 蔡桁, 蒋祥娥. 鹅掌楸组织培养技术研究[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(4): 624 - 626.
- [4] 蒋祥娥, 蔡桁. 鹅掌楸组织培养技术初探[J]. 江西林业科技, 2004, (4): 24 - 26. (下转第 77 页)

济不断发展的今天,民族体育产业开发的口径也随之拓宽。通过“体育搭台,经济唱戏”的思路,黔南布依族苗族自治州体育文化事业局不断引进省内外、国内外各种体育赛事,不断开展民族体育文化活动,从而将展示出良好的民族体育经济发展势头。时值 21 世纪的今天,黔南布依山寨不断开发旅游业,使民族体育文化、原始生态文化与民族经济共同发展。如贵定布依山寨的“金海雪山”和“舒李节”、荔波桐塘布依乡的“梅花节”、都匀斗蓬山的“原始生态游”等等,都将会在不同的层面上,推进传统体育文化的发展。例如,在荔波桐塘布依乡的“梅花节”上,除观赏寒梅外,如能用“梅子”开发出“梅花棋”(五子棋)、“梅花子”(少儿捡子),编创“梅花扇”健身武术套路等民族体育文化活动内容,这将使桐塘乡的民族旅游业和民族体育文化互为双赢。

4.2.2 和谐社会功能。黔南布依民族体育文化依然具有强大的现代社会功能,在其传承的过程中体现出自身的社会价值。黔南布依民族传统体育具有促进人的个体社会化的作用。主要表现在以下几个方面:其一,具有培养和提高基本生活技能的作用;其二,具有培养民族创新和进取精神的独特作用。竞争是布依民族体育文化活动的特征之一,竞技场中的竞争精神通过传承,不仅锻炼身体,提高身体素质,掌握各种技能,而且培养、鼓励人的活跃思想,敢于拼搏,勇于创新,努力超越别人;其三,具有发展人际关系,助人为乐之精神。布依民族传统体育对人的身体和心灵的创建,是在群体活动中、在一定的社会关系中进行的人无法实现的真正的、完整意义的民族体育。因此,在民族传统体育活动的进程中,必须建立起相应的人际关系,使布依民族儿女在活动过程中建立起伙伴、朋友关系,对他们进入社会,乐于助人,发展人际关系具有积极的作用;其四,具有培养布依儿女遵守纪律,形成社会规范的作用。布依民族传统体育活动本身就是有动作规格要求和竞赛与娱乐的规则,对培养布依民族遵守社会生活的各种准则有较好的强化作用。社会之所以得以维持,是因为每个社会都有管理成员行为和指导成员工作的章程。社会通过各种媒介和动因,教导人们遵守社会规范,目的在于促进人们对社会的义务感、责任感,培养个人将来充当社会角色应具备的先决条件。为此,布依民族传统体育活动对和谐社会、稳定社会具有重要的作用。

参考文献:

- [1] 黄义仁. 布依民族史[M]. 贵阳: 贵州民族出版社, 1999: 19.
- [2] 李华. 黔南布依民族苗族自治州志·民族志[M]. 贵阳: 贵州民族出版社, 1993: 20.
- [3] 曹湘君. 体育理论简编[M]. 北京: 教育科学出版社, 1986: 28.
- [4] 周瑾瑜. 黔南民族节日通览[M]. 都匀: 黔南州人民印刷厂, 1986: 1.

(上接第 60 页)

- [5] 季孔庶, 王章荣. 鹅掌楸属植物研究进展及其繁育策略[J]. 世界林业研究, 2001, 14(1): 8-14.
- [6] 田敏, 李纪元, 范正琪. 杂交鹅掌楸离体培养中器官发生的研究[J]. 林业科学研究, 2005, 5(18): 546-550. [7] 朱春艳, 李志炎, 鲍淳松. 云锦杜鹃组培快繁技术研究[J]. 中国农学通报, 2006, (22): 335-337.
- [8] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科技出版社, 1996: 1-334.
- [9] 刘青林, 马伟, 郑玉梅. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 1-246.
- [10] 骆建霞, 孙建设. 园艺植物科学研究导论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 1-371.
- [11] Douglas G C. Propagation Of Eight Cultivars Of Rhododendron In Vitro Using Agar - Solidified And Liquid Media And Direct Rooting Of Shoots In Vivo[J]. Scientia Horticulturae, 1984, (24): 337-347.
- [12] Read P E, Fellman C D. Accelerating Accelerating Acclimation Of In Vitro Propagated Woody Ornamentals[J]. Acta Horticulturae, 1985, (16): 15-20.