维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:1001-7380(2008)03-0026-04

花叶络石离体快繁技术研究

王福银,史清云,朱 艳

(江苏农林职业技术学院,江苏 句容 212400)

摘要:花叶络石是攀援、垂直等立体绿化好材料,具有较高观赏价值。通过正交试验等方法对花叶络石茎段组织培养外植体灭菌、玻璃苗预防、增殖培养、根诱导等关键技术进行研究。结果表明:在镇江句容花叶络石的最佳取材时间为4月中下旬,在引进日本种源中筛选优良类型的母株上选取外植体,经过用0.1% $HgCl_2$消毒灭菌10 s,成活率为80.5%;添加3.5%的白砂糖和增加培养容器的透气性,能很好地预防玻璃苗的发生;MS附加TDZ、BA、NAA等植物生长调节剂可有效促进试管芽苗增殖和生长,其中TDZ 0.01 mg/L+BA 2.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L组合最适宜增殖与生长,增殖倍数达5.6,生长高度为2.8 cm;适宜的生根培养基为1/2MS+IBA 0.5 mg/L +NAA 0.3 mg/L+CH 100 mg/L+S 2%,生根率可达95%;经生根的试管苗移栽于蛭石(V):珍珠岩(V):泥炭(V)=6:3:1的混合基质中,控制温度20~30 ℃,相对湿度85%~90%,保湿15~20 d,其间适当遮荫,22 d后成活率91.5%以上。

关键词:花叶络石;组织培养;玻璃苗;快速繁殖

中图分类号:S682.36; Q943.1 **文献标识码**:A

花叶络石(*Trachelospermum jasminoides*'Variegatum')是近年从日本引进的优良彩叶植物。它属于夹竹桃科(Apocynaceae)络石属(*Trachelospermun*)常绿木质藤本,叶椭圆形至卵椭圆形,整个植株叶片由粉色叶、白色叶、白底绿斑叶、绿底白斑叶和绿色叶组成,叶色丰富,色彩斑斓,酷似花,非常漂亮,且观赏期长,是攀援、垂直等立体绿化的好材料。花叶络石常用扦插及压条方式繁育种苗,但繁殖系数低,扩繁速度慢,满足不了生产的需求,而且连续多代扦插易造成性状退化,采用组织培养技术则可以有效地克服这些缺点[1-4]。因此,从日本引进优良种源的花叶络石中,经过初选获得的优良单株,用组织培养的方法繁殖,将保持原植株的优良性状。笔者对花叶络石茎段组织培养中的外植体灭菌、玻璃苗预防、增殖培养、根诱导等关键技术进行了探索,试图加快优良性状花叶络石的繁殖和推广。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2007~2008年在镇江句容进行。母株来自于日本引进经初选的优良单株。

1.2 外植体灭菌

将洗净的外植体用75%的乙醇溶液浸泡杀菌30 s,用无菌水冲洗2~3次,然后置于消毒液中。消毒液分别采用17% H_2O_2、0.1% $HgCl_2$、10% $Ca(ClO)_2$,消毒时间分别采用5,10,15 s和不消毒(对照),采用随机区组排列,表面消毒后用无菌水冲洗3~4次,沥干水后迅速将带腋芽的茎段接到诱导培养基中,每瓶接1个,每次30瓶,每组重复3次,15 d后统计污染率、死亡率和成活率。

1.3 植物生长调节剂正交培养试验

待诱导出的不定芽长至1.5 cm左右,切下接入增殖培养基中进行增殖培养。增殖以MS为基本培养基,选定TDZ(0.01,0.02,0.05 mg/L)、BA(1.0,1.5,2.0 mg/L)、NAA(0.01,0.05,0.1 mg/L)3种植物生长调节剂进行$L_9(3^4)$正交试验[5],接种培养30 d时观测试管芽苗增殖倍数和芽苗生长高度。

1.4 玻璃苗预防处理

在不同质量分数的白砂糖处理预防花叶络石试管苗玻璃化试验中,白砂糖的质量分数分别为3.0%,3.5%,4.0%,4.5% 4个质量分数梯度;在增加培养容器的透气性对试管苗玻璃化影响的试验

收稿日期:2007-12-12;2008-03-26

基金项目:江苏省科技成果转化专项资金项目"常绿彩叶苗木新品种选育及组培快繁技术开发与推广"(BA2007100)研究内容之一

作者简介:王福银(1962-),男,江苏句容人,高级农艺师,大学本科毕业,主要从事彩叶苗木的研究开发。

维普资讯 http://www.cqvip.com

中,采用4孔透气孔封口膜(面积为12 cm×12 cm)与密闭封口膜为材料进行培养,具体试验为:处理Ⅰ:三角瓶封闭式封口材料;处理Ⅱ:三角瓶透气式封口材料。上述试验培养基均为MS(Murashige and Skoog 1962)+TDZ 0.01 mg/+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1mg/L,琼脂用量0.65%,pH 5.8。

1.5 生根培养

芽苗生根培养基筛选试验方法是将生长健壮的花叶络石芽苗,接种在1/2MS附加不同质量浓度的生长素NAA,IBA,以及不同配比水解酪蛋白(CH)的培养基上,进行生根培养。采用正交试验设计$L_9(3^4)$的方案[5],观察根的分化过程、调查生根数、根长、生根率等指标,选择最佳生根培养基。每处理30瓶,每瓶5个芽苗。

1.6 组培苗移栽管理

试管苗移栽试验方法是将已生根的试管小苗,移栽于蛭石(V):珍珠岩(V):泥炭(V)=6:3:1,6:3:3,4:3:3三种配比混合基质中,控制环境温度25~30 ℃,相对湿度85%~90%,保湿、遮荫15~20 d,35 d后统计成活率。

上述除有说明外,所有培养基均加入3%的白砂糖和0.65%卡拉胶,pH值为5.8,培养室温度白天为25~28 ℃,夜晚为20~23 ℃,光照度1 500~2 000 lx,光照时间12 h/d。

2 结果与分析

2.1 花叶络石外植体消毒方法的筛选

消毒剂和消毒时间对外植体的灭菌试验结果表明(见表1):不同消毒剂、不同消毒时间的灭菌效果差异显著。本试验以0.1% $HgCl_2$消毒10 min效果最好,成活率达80.5%。

2.2 植物生长调节剂正交组合对花叶络石试管芽苗生长的影响

植物生长调节剂正交组合对花叶络石试管芽苗生长的影响试验结果(见表2)表明,TDZ与BA质量浓度是决定芽苗增殖的主要因子,由极差数据分析得知,TDZ的作用最大,其极差值为2.9,其次为BA,影响最小的是NAA。组合6的芽苗增殖与生长效果最好,增殖倍数达5.6,生长高度为2.8 cm,且芽苗生长较壮;组合7和组合8,芽苗增殖倍数虽有小幅增加,但其芽苗生长高度大大下降,更为不利的是芽苗生长纤弱,叶片稀少、皱缩,叶形不正常,茎细弱,甚至出现烂心、玻璃苗现象。所以,花叶络石芽苗增殖培养基最佳组合为MS+BA 2.0 mg/L+TDZ 0.02 mg/L+NAA 0.01 mg/L+白砂糖3%。

表1 消毒剂和消毒时间外植体灭菌结果

消毒剂	消毒时间/min	污染率/%	死亡率/%	成活率/%
	0	100	0	0
H_2O_2	5	75.6	0	24.4
H_2O_2	10	62.2	0	27.8
H_2O_2	15	51.1	0	48.9
$HgCl_2$	5	46.6	0	53.4
$HgCl_2$	10	18.3	1.2	80.5
$HgCl_2$	15	12.9	20.4	66.7
$Ca(ClO)_2$	5	86.5	0	13.5
$Ca(ClO)_2$	10	74.4	0	25.6
$Ca(ClO)_2$	15	62.2	0	37.8

表2 植物生长调节剂正交试验结果

组合	TDZ/(mg/L)	BA/(mg/L)	NAA/(mg/L)	增殖倍数	高度/cm	长势
1	0.01	1.0	0.01	2.9	2.9	较弱
2	0.01	1.5	0.10	3.2	3.1	较壮
3	0.01	2.0	0.05	3.7	3.8	粗壮
4	0.02	1.0	0.10	4.8	2.2	较壮
5	0.02	1.5	0.05	4.9	2.7	较壮
6	0.02	2.0	0.01	5.6	2.8	较壮
7	0.05	1.0	0.01	5.7	1.8	很弱
8	0.05	1.5	0.05	5.8	1.9	很弱
9	0.05	2.0	0.10	5.2	2.2	较弱

2.3 花叶络石玻璃苗预防处理

从不同质量分数的白砂糖对花叶络石试管苗玻璃化及其生长的影响(见表3)可看出,当白砂糖的质量分数在3%~4.5%范围内,玻璃化苗发生的频率随质量分数的增加而显著降低,且各处理间的差异显著。白砂糖的质量分数为3%时,玻璃化苗率极显著高于其他处理。可以看出白砂糖质量分数是影响玻璃化苗发生的重要因素,较高质量分数的处理可减少玻璃化的发生,其他差异不显著而且生长情况类似,故可选白砂糖3.5%作为继代培养的质量分数且较为经济。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表3 不同质量分数白砂糖对花叶络石组培苗玻璃化及其生长的影响

白砂糖/%	玻璃化苗率/%	芽苗生长情况
3.0	19.47	玻璃苗多,叶色浅绿,生长快
3.5	6.42	玻璃苗少,叶色浓绿,生长快
4.0	6.36	玻璃苗少,叶色深绿,生长快
4.5	6.98	玻璃苗少,叶色深绿,生长快

玻璃苗率=玻璃化苗数量/总苗数。

培养容器内的湿度和透光率等因素直接影响试管芽苗的生长,封口材料透气性不同造成培养物所处的微环境差异。通过试验发现:处理Ⅰ玻璃化苗率为19.47%,处理Ⅱ为6.42%。说明处于封闭状态下,容器内部微环境湿度大,气体缺乏交换,不利试管苗的健壮生长,容器内生长的芽苗细弱,叶色浅。用透气膜为封口材料,由于具有良好的透气性,微环境中的湿度低,利于试管芽苗呼吸交换,容器内生长的芽苗,叶色浓绿、健壮。

2.4 花叶络石试管芽苗生根培养基筛选

将经壮苗培养长至高为2~3 cm的花叶络石试管芽苗,接入生根培养基试验,生根培养7 d后,基部出现愈伤组织,12 d后可见基部分化出许多根点,16 d后则生长出白色小根,30 d后统计结果并直观分析,结果见表4。

表4结果表明,对花叶络石生根影响最大的是IBA,其次是NAA、CH的质量浓度。组合5与6的生根率分别达到95%和90%,但从平均根长和平均根数来看,组合5(1/2MS+IBA0.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L+CH 100 mg/L+白砂糖2%)为最佳生根培养基。

表4 花叶络石生根正交试验结果

组合	NAA/(mg/L)	IBA/(mg/L)	CH/(mg/L)	平均根长/cm	平均根数/条	生根率/%	长势
1	0.05	0.1	100	3.4	2.4	48	细弱
2	0.05	0.5	50	3.9	3.8	59	细弱
3	0.05	1.0	10	2.8	4.9	67	细弱
4	0.3	0.1	10	3.8	5.4	78	较粗
5	0.3	0.5	100	5.9	7.4	95	粗壮
6	0.3	1.0	50	2.1	5.9	90	较粗
7	0.5	0.1	50	3.6	4.9	84	细弱
8	0.5	0.5	10	3.9	3.8	86	细弱
9	0.5	1.0	100	1.9	4.9	89	细弱

2.5 花叶络石组培苗的移栽

移栽试验结果(见表5)表明,在相同条件下,基质对花叶络石试管苗移栽成活有影响。成活所需时间,成活率都有明显差异。蛭石(V):珍珠岩(V):泥炭(V)=6:3:1,成活所需时间22 d,成活率为91.5%,为最佳配比的混合基质。

表5 3种基质对花叶络石试管苗移栽成活的影响

组合	成活所需时间/d	成活率/%
6:3:1	22	91.5
6:2:2	28	86.6
4:3:3	32	79.3

3 小 结

(1)在组织培养中,接种污染率的高低直接影响启动培养的进度。在试验中,经过0.1% $HgCl_2$消毒10 min的组培苗成活率达80.5%。

(2)增殖培养试验结果认为:花叶络石芽苗增殖最佳组合为MS+BA 2.0 mg/L+TDZ 0.02 mg/L+NAA 0.01 mg/L+白砂糖3%。

(3)糖对试管芽苗的作用,主要为其生长提供碳源和调节渗透势,作为ATP的供给者,糖对离体培养物的生长具有重要作用。试验中发现提高白砂糖的质量分数对控制玻璃化有促进作用,但并不能完全抑制组培苗玻璃化现象的发生,过高的白砂糖质量分数会抑制试管芽苗的生长,说明玻璃化苗的产生不仅是由于能量的不足,可能与代谢紊乱有关。通过不同封口材料培养试验表明,试管芽苗生长效果的差异是由于透气状况不同引起的。其原因与较高质量分数的细胞分裂素类物质导致苗玻璃化的原

维普资讯 http://www.cqvip.com

因类似,可能在封闭状况下,较高质量浓度的BA加快了试管苗生长速度,芽苗呼吸作用大大增强,需要在培养的微环境中进行气体交换(水蒸气、氧气、二氧化碳、乙烯等)[6-11]。在封闭状况下,容器内外气体得不到有效的交换,无法满足试管芽苗生长需求,导致组培苗玻璃化。采用透气类型的封口膜,改善了通气状况,促进了呼吸,使ATP供给较为丰富,满足了芽苗对ATP以及呼吸代谢产物的要求,试管植株生长健壮。

(4)生根培养试验结果表明,对花叶络石生根影响最大的是IBA质量浓度,其次是NAA,CH的质量浓度。从平均根长和平均根数来看,1/2MS + IBA 0.5 mg/L + NAA 0.3 mg/L + CH 100 mg/L + 白砂糖2%为最佳生根培养基。

(5)花叶络石组培苗移栽基质以V(蛭石):V(珍珠岩):V(泥炭)=6:3:1较好。温度控制在20~25 ℃之间,湿度在移栽前后3~5 d控制在95%以上,7 d后控制在85%~95%左右,22 d即可成活,成活率达91.5%。

参考文献:

[1] 李玉巧,吴 纲,梁珍海,等.立体绿化花卉优良品种栽培选择试验[J].江苏林业科技,2002,29(4):16-19.

[2] 马 跃,王红娟.攀缘植物及其在城市中的应用[J].西南园艺,2005,33(2):25-26.

[3] 李根有,屠娟丽,哀建国,等.山体断面绿化植物的选择配置及种植措施[J].浙江林学院学报,2002,19(1):95-99.

[4] 房 用,朱宪珍,孙成南,等.山东几种藤本植物的特性与评价研究[J].山东林业科技,2005(2):12-15.

[5] 李春喜,王志和,王文林.生物统计学[M].北京:科学出版社,2000:149-156.

[6] 蒋泽平,梁珍海,汪有良,等.苦楝优良无性系试管苗玻璃化的影响因素[J].浙江林学院学报,2006,23(4):420-423.

[7] 梁海曼,周菊华.试管苗玻璃化现象的生理生化和机理探讨[J].武汉植物学研究,1994,12(3):281-288.

[8] 王哲之,胡正海.槐树组织培养中超度含水态苗发生与防治研究[J].应用与环境生物学报,1998,4(3):227-231.

[9] 及 华.刺槐玻璃苗愈伤组织分化再生正常植株[J].河北林学院学报,1994,9(2):102-104.

[10] 钟士传,曹帮华.控制毛白杨新无性系试管苗玻璃化的研究[J].山东林业科技,2000(2):17-19.

[11] Matthieu. Falque, Daniel Compan & Rose Galzy. A method for the study of CO_2 exchange in vitro cultured Vitis rupestris plantlets [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 1991, 27: 175-181.

欢迎刊登广告

《江苏林业科技》为国内外公开发行的综合性的林业科学技术刊物(双月刊),读者遍及国内外,期刊发行量大,多次获国家、华东地区以及江苏省优秀期刊奖,在中国期刊网等多家网站上运行。为加强经济与市场信息的传播力度,为企、事业单位树立良好形象,宣传名、优、特新产品,本刊欢迎农、林业等企业(林场)、事业单位刊登广告,展示形象,宣传产品等信息。

广告价格如下 元

	封 二	封 三	封 底	插 页	中缝连版
彩色广告	4 000	4 000	5 000	3 000	6 000
黑白广告		1页1 500	1/2页800		

本价目为单次单页价格,长期广告价格可优惠,特殊要求另议。联系人:孙体如,卢义山 电话:025-52744011,52745438
广告经营许可证号:3200004030678