

金叶连翘组培快繁技术的研究

白雅娟¹, 章林², 陈建军², 王晓娜²,
谢鹏², 张大明², 章红³, 房立新³, 章森³, 李宏伟⁴

(1. 双辽市郑家屯苗圃, 吉林四平 130000; 2. 吉林省林业科学研究院, 吉林长春 130033; 3. 辉南县林业局, 吉林通化 135100; 4. 吉林省辉南森林经营局, 吉林通化 135100)

摘要: 本文对金叶连翘的组培快繁技术进行了研究, 结果表明, 取外植体带有腋芽的茎条切段进行组织培养, 以改良 WPM 为基本培养基, 附加不同含量的 6-BA 和 NAA 进行分化诱导, 可以获得丛生无根苗; 以附加不同含量的 NAA 和 IBA 诱导生根, 可以获得再生植株。

关键词: 金叶连翘; 组织培养; 培养基

Quick-propagation technique by tissue culture for *Forsythia koreana* 'SauonGold'

BAI Ya-juan¹, ZHANG Lin², CHEN Jian-jun², WANG Xiao-na², XIE Peng²,
ZHANG Da-ming², ZHANG Hong³, FANG Li-xin³, ZHANG Sen³, LI Hong-wei⁴

(1. Zhengjiatun Nursery of Shuangliao City, Siping 130000, China; 2. Jilin Provincial Academy of Forestry Science, Changchun 130033, China; 3. Forestry Bureau of Huinan County, Tonghua 135100, China; 4. Huinan Forestry Management Bureau of Jilin Province, Tonghua 135100, China)

Abstract: Quick-propagation technique of *Forsythia koreana* 'SauonGold' was studied in the experiment. It shows that fasciculate rootless plants could be obtained under following conditions: Taking WPM as basal medium to make tissue culture for the twiglet (explants with axillary bud), and 6-BA, NAA at proper doses should be added for inducing differentiation; and then bring the regrowths by adding NAA and IBA to induce root initiation. This technique accords with industrial seedling in the rate of extended production.

Keywords: *Forsythia koreana* 'SauonGold'; tissue culture; medium

金叶连翘 (*Forsythia koreana* 'SauonGold') 是具有较高观赏价值的木本花卉, 属于檫科落叶灌木, 丛生, 枝开展且呈拱形下垂, 花期 4~5 月份, 先花后叶, 整个生长季叶色呈金黄色, 叶与

花同样具有较高的观赏价值, 花期后, 其茂盛的枝叶仍可供观赏。同时金叶连翘具有较强的适应能力, 耐寒, 耐干旱瘠薄和一定的耐阴性。金叶连翘对丰富城市绿化植物的种类及色彩有重要的作用。金叶连翘是国外引进树种, 目前, 在国内其种群数量还比较少。为了快速扩大其种群数量, 解决园林绿地大量栽培需要, 我们从

收稿日期: 2005-11-16

作者简介: 白雅娟 (1968-), 女, 吉林双辽人, 助工, 主要从事种苗方面的工作。

2001年起和吉林省林业科学研究合作对其开展了组培快繁技术的研究。经3 a多的努力,已在金叶连翘的组培快繁的配方筛选、工厂化生产技术及工艺方面取得了突破。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

从生长在温室1 a生、生长健壮、无病植株上,选取木质化比较轻的茎条,用带有腋芽的茎条切段作为外植体。

1.2 研究方法

1.2.1 外植体的表面消毒

采回的嫩茎条去叶,先整段用刷子沾适量洗衣粉或者洗洁净认真刷洗后,剪成几大段。然后在超静工作台上用70%酒精浸泡20 s,再在0.1%升汞溶液浸泡12~15 min,并不断搅动,用无菌水漂洗数次,最后分切为1.0 cm带茎切段,用无菌滤纸吸干表面水分进行接种。

1.2.2 试验用的培养基及培养条件(激素含量为 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

在初代培养阶段,选取MS、WPM、改良WPM为基本培养基,附加不同含量的细胞分裂素6-BA、KT、2-ip及生长素NAA。在继代与增殖培养阶段,选取改良WPM为基本培养基,附加不同含量的细胞分裂素6-BA、生长素NAA。在生根培养阶段,选取改良WPM为基本培养基,附加不同含量的生长素NAA、IBA、

IAA。

上述培养基内均含有蔗糖3%,pH值5.8~6.0。高压灭菌20~25 min,培养室温度22℃~25℃,光周期16 h/8 h,光强1 200~1 500 Lx,湿度60%~70%。

2 结果与分析

2.1 初代培养阶段

此阶段的目的是诱导腋芽萌发,形成无菌苗。这里我们初选用MS、WPM两种基本培养基作为参试培养基,并附加6-BA $3.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。它们的特点是MS培养基是目前应用最广的,它的(如钾盐、铵盐、硝酸盐)含量均较高,微量元素也较齐全;而WPM是专门为木本植物组织而设计的一种培养基,为中等无机盐含量培养基,其特点是硝酸盐含量较低,Ca含量较高^[1]。

实验表明,不同的培养基对金叶连翘外植体的启动、褐变、分化反应明显不同,MS对金叶连翘组培不适合,其启动速度慢,褐变率高,分化率低,生长状况极其不好,培养一段时间后甚至有死亡植株。WPM较为适宜,外植体启动快,褐变率低,分化率高,但生长状况一般,丛生芽形成数量不十分多,茎条也较细。我们对WPM进行一些改动(大量元素的Ca、N、P、K及部分微量元素),简称改良WPM,其启动、分化、生长状况都优于WPM。实验结果见表1。

表1 不同培养基对诱导外植体分化的影响

培养基种类	启动速率 (d)	褐变率 (%)	分化率 (%)	生长状况
MS	12	90	20	嫩茎细弱,后期有部分死亡,丛生芽分化较少
WPM	8	4	90	嫩茎细弱,丛生芽分化一般
改良WPM	6	0	100	嫩茎细弱,丛生芽分化多

培养基只能保证培养物的生存与最低的生理活动,只有配合适当的植物激素才能诱导外植体茎条的生长与分化。一般来说,植物的再生过程有三种方式:一是诱导形成大胚状体;二是诱导形成大量不定芽;三是诱导形成丛生芽^[2]。

对金叶连翘,我们采用第三种途径。此途径不会产生变异,能保持该品种的优良特性。根据前人研究的成果^[3,4,5],我们选取不同含量的细胞分裂素6-BA与生长素NAA来诱导分化。由表2可知,能否诱导腋芽,细胞分裂素起到关键作用,这主要是由于一定含量的细胞分

裂素能有效解除顶端优势,使腋芽不断分化与生长。这里 6-BA 和 KT 能很好地诱导腋芽分化,其中 6-BA 的诱导分化速率最快,而 2-ip

诱导分化效果最差。同时由表 2 可知,附加 NAA 的组合,能加快诱导分化速率,改善茎条质量,使茎条长高,变得粗壮。

表 2 不同含量的细胞分裂素与生长素对诱导分化的影响

激素含量与配比 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	诱导分化速率 (d)	诱导丛生芽数量 (个)	诱导丛生芽数量(个) 生长状况
6-BA1.00	6~8	7~11	茎条比较粗壮,茎比较高,叶颜色金黄
6-BA1.00 + NAA0.05	5~7	8~12	茎条粗壮,茎高,茎条基部有少量愈伤组织,但没有分化出不定芽,叶颜色金黄
KT1.00	10~12	8~10	茎条比较粗壮,茎比较高,叶颜色金黄
KT1.00 + NAA0.05	9~10	7~12	茎条粗壮,茎高,茎条基部有少量愈伤组织,但没有分化出不定芽,叶颜色金黄
2-ip1.00	10~15	1~3	茎条细弱,茎矮,叶颜色淡黄
2-ip1.00 + NAA0.05	9~13	2~3	茎条细弱,茎比较矮,叶颜色淡黄

2.2 继代与增殖阶段

此阶段的目的是在短期内获得大量适合生根的嫩茎条。将上一阶段诱导培养的丛生芽切成几个小部分转接到继代与增殖培养基中。实验表明,最初转入增殖时,嫩茎条增加的倍数比

较低,但经过多次继代以后,倍增加大,丛壮苗明显增加。而不同含量的细胞分裂素 6-BA 与生长素 NAA 对继代增殖影响效果是不同的,其实验结果见表 3。

表 3 不同含量的细胞分裂素 6-BA 与生长素 NAA 对继代增殖的影响

激素水平组合 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	每块中间繁殖体可诱导 茎条数量(个)	生长状况
6-BA1.00 + NAA0.01	19~27	茎条较粗壮,茎高 1.5 cm 以上 15~17 条,没有玻璃化苗
6-BA1.00 + NAA0.05	21~27	茎条较粗壮,茎高 1.5 cm 以上 16~19 条,没有玻璃化苗
6-BA1.00 + NAA0.10	18~20	茎条较粗壮,茎高 1.5 cm 以上 15~18 条,没有玻璃化苗
6-BA3.00 + NAA0.01	29~38	茎条较粗壮,茎高 1.5 cm 以上 19~20 条,没有玻璃化苗
6-BA3.00 + NAA0.05	29~37	茎条较粗壮,茎高 1.5 cm 以上 22~25 条,没有玻璃化苗
6-BA3.00 + NAA0.10	22~30	茎条较粗壮,茎高 1.5 cm 以上 25~28 条,没有玻璃化苗
6-BA5.00 + NAA0.01	30~35	茎条较粗壮,茎高 1.5 cm 以上 15~17 条,有少部分玻璃化苗
6-BA5.00 + NAA0.05	28~36	茎条较粗壮,茎高 1.5 cm 以上 16~20 条,有少部分玻璃化苗
6-BA5.00 + NAA0.10	20~31	茎条较粗壮,茎高 1.5 cm 以上 17~25 条,有少部分玻璃化苗
6-BA8.00 + NAA0.05	38~46	茎条细弱,茎高 1.5 cm 以上 0 条,有较多玻璃化苗

由表 3 可知,每块中间繁殖体诱导茎条数量随着 6-BA 含量的增加而增加。但是当 6-BA 高到 $5.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 水平时会导致茎条的质量下降,表现为茎条细弱,伴有玻璃化苗现象,茎高在 1.5 cm 以上的,即适合生根的茎条减少,在其含量 $8.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时下降的最为明显。同时可知,与 6-BA 配合使用的 NAA,其含量在 $0.01 \sim 0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,诱导茎条数量并没有增加,但茎高 1.5 cm 以上的茎条却有所增加,而当其含量达到 $0.10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时会使诱导茎条数量下降。

2.3 生根培养阶段

2.3.1 不同含量的生长素对试管苗生根率的影响

将继代增殖形成的 2~3 cm 的嫩茎条切下后转入生根培养基中,培养 5~15 d 让其生根,结果见表 4。

从表 4 可以看出,用 NAA、IBA 和 IAA 分别诱导生根,NAA 和 IBA 诱导生根,其生根率很相近,都达到了 90.0% 以上,而 IAA 诱导生根,生根率只有 60.0%~70.0%,明显低于前二者。从表 3 还可以看出,NAA、IBA 诱导其生根时,生根率并没有随含量的提高而提高,NAA 随含量的提高反而有下降的趋势,当含量为 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,生根率由含量为 $0.03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 93.5%

降到 92.3%,而 IBA 随含量的提高其生根率始终稳定在 96.0%~97.0% 之间,说明 IBA 的含量在一定范围内对生根率没有明显影响。这个试验结果和李青等研究结果类似。

表 4 不同含量的生长素对生根率的影响

生长素种类	含量 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	生根率 (%)
NAA	0.01	92.9
	0.03	93.5
	0.05	92.3
IBA	0.30	96.1
	0.50	97.4
	1.00	96.2
IAA	0.30	69.1
	0.50	75.1
	1.00	79.8

2.3.2 不同种类的生长素对根的形态及根长的影响

附加不同种类的生长素,在相同的培养时间的条件下,诱导生根的情况各不相同,见表 5。

表 5 不同生长素对根的形态及根长的影响

生长素种类	平均每株生根数 (个)	平均根长 (cm)	生根特征
IBA	5.7	5.6	根细长,有侧根(3条/主根)
IAA	2.3	5.8	根细长、较弱,无侧根
NAA	9.0	0.6	根短而粗,呈放射状,无侧根
NAA0.01 + IBA0.05	6.9	1.7	根较粗壮,有侧根(4条/主根)

NNA 诱导生根,最高达到 9.0 个,但是诱导根平均根长最短,为 0.6 cm;而 IBA 诱导时每株生根数为 5.7 个,平均根长为 5.6 cm;IAA 诱导生根的数量明显比前二者少,只有 2.3 个,根长比 IBA 的略高,为 5.8 cm。

从根的形态和发生方式上看,NAA 诱导生

根,在植株基部形成愈伤组织,继而产生呈放射状排列的短粗型根。这样的不定根在移苗时,根易脱落,成活率极低^[3]。而由 NAA 和 IAA 诱导生根,植株基部不形成愈伤组织,根直接由植株基部生出,所诱导的根为细长型,并具有侧根,在移苗时,根不易脱落,成活率高。综合

NAA 和 IBA 对生根的作用,我们将它们组合,选取二者最适宜的含量共同诱导生根,结果平均每株生根数为 6.9 个,根长为 1.7 cm,根较粗壮,有侧根,较少产生愈伤组织。

3 结论

3.1 在初代培养阶段,以改良 WPM 作为基本培养基,以 $6 - BA1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合最适合金叶连翘外植体诱导分化。

3.2 在继代与增殖培养阶段,以改良 WPM 作为基本培养基,以 $6 - BA3.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合效果最为理想。

3.3 在生根培养阶段,以 $NAA0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合生根效果最好。

3.4 利用细胞分裂素可以促进腋芽的快速形成,从而使嫩茎获得增殖,这是快繁的一个重要

途径。该途径速率较快,繁殖系数较高,遗传性状稳定。

参考文献

- [1]陈建军,陆志民,张林,等.大叶山杨优树组培微繁殖工厂化生产技术的研究[R].长春:吉林省林业科学研究所,1999.
- [2]颜易敬.植物组织培养手册[M].上海:上海科技出版社,1989.
- [3]韦三立.花卉组织培养[M].北京:中国林业出版社,2001.
- [4]段祖安,齐建国,张承庆.金脉连翘的组培快速繁育研究[J].山东林业科技,2000,129(4):22-24.
- [5]谭文澄,观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.

(责任编辑 孙镜明)

集安市紫椴、刺五加育苗已获成功

集安市大路镇特种苗木繁育基地,在集安市科技局的支持下,多年来一直从事长白山区珍贵、濒危树种的育苗、造林等方面的试验研究,现有苗圃 33 000 m^2 ,其中育苗试验基地 10 000 m^2 。

基地负责人杨振全同志,十几年来一直潜心研究珍稀树种的育苗研究,先后攻克了紫椴育苗的种子催芽、苗期管理的关键技术,种子发芽率在 85% 以上,达到国内先进水平。刺五加育苗在技术上也取得了重要进展,2005 年成功培育出健壮成苗。

主要树种苗木介绍:

紫椴是珍贵的阔叶用材树种,又是优良的蜜源植物。大路镇特种苗木繁育基地解决了紫椴育苗的关键技术,大规模培育紫椴苗木,为紫椴人工造林提供了物质基础。紫椴适应性强,在东北地区可大面积推广。造林成活率高,可达 95% 以上,生长速度快,材质好,价格高,是应大力推广的速生丰产造林树种。

刺五加是五加科落叶灌木,是珍贵的药用植物。医学研究证明,刺五加与人参作用类似,能增强机体抵抗力,调节病理过程使其趋于正常化状态,以及具有消炎镇痛作用,目前在医药上有着广泛的应用。由于长期无节制的采挖,野生刺五加资源已濒临枯竭,人工育苗造林可有效补充资源不足,可获得很好的生态效益和经济效益。

目前基地少量苗木出售,价格面议。

联系人:杨振全

联系电话:0435-6712362 13894592352