

金钟花的组织培养和快速繁殖

王兴安 (曲阜师范大学生命科学学院, 山东 曲阜 273165)

摘要:以金钟花的幼茎和幼叶为材料进行组织培养和诱导再生实验,利用不同培养基进行愈伤组织诱导培养,继代培养,生根培养,形成胚性细胞团,分化形成无毒器官,并应用于实际生产,以达到快速繁殖的目的。

关键词:组织培养;愈伤组织;器官克隆;金钟花

Tissue culture and rapid propagation of *Forsyihia viridissima* Lind

WANG Xing-An (Life Science College, Qufu Normal University, Qufu 273165, China)

Abstract: Using different culture medium, the stem and the leaf of the *Forsyihia viridissima* were used to induce callus and regenerate plants. Through further inducing, subculture, budding culture and rooting culture, the embryonic cell groups and the nonpoisonous organ was formed. Apply the method into the actual production and make rapid propagation possible.

Key words: tissue culture; callus; organ clone; greenstem forsythia

金钟花 (*Forsyihia viridissima* Lind) 又名 黄金条、迎春花、细叶连翘。为木犀科落叶灌木,分布于江苏、安徽、浙江、江西、福建、湖北、贵州、四川、云南等地区。小枝四棱形,髓呈薄片状。单叶对生,椭圆形长圆形至披针形,长 3~11cm,无毛,上半部具不规则锯齿,有时近全缘。花深黄色,1~3 朵腋生,先叶开放,花冠狭椭圆形,花期 4~5 月。其根、叶、果壳等具有清热解毒、祛湿泻火之效,用于流行性感冒、目赤肿痛、疥疮、筋骨酸痛、颈淋巴结核。

因金钟花的观赏和药用价值,市场需求巨大,常规的栽培技术已经满足不了市场数量和质量的要求,应用植物组织培养和器官克隆对金钟花进行快速繁殖成为一种必要。

1 组织培养条件和设计过程

1.1 培养条件

愈伤组织诱导培养基 MS 培养基 +0.5mg/LBA +0.5mg/LNAA+1mg/L2,4-D; 继代培养基 MS 培养基 +0.4mg/LBA+0.5mg/LNAA+1.5mg/L2,4-D; 生芽培养基 MS 培养基 +1mg/LBA+0.1mg/LNAA; 生根培养基 MS 培养基 +1mg//LIBA+0.2mg/LNAA; 温度 28℃,湿度 95%; 光照强度 2 500Lux; 光照时间 12h/d。

1.2 设计过程

获得无菌材料。取生长旺盛的金钟花的幼茎和幼叶,用清水冲洗 10min,在超净工作台上用 75%酒精浸泡 30s,再用 0.1% HgCl₂ 浸泡 10min,无菌水冲洗 5 次^[1],用滤纸吸干水分,然后用解剖刀切成 0.5cm 长的小段,备用。

愈伤组织诱导培养。把备用材料接种到诱导培养基中,暗培养 5d,转至 2 500lx,12h/d 光照下进行诱导培养,14 天后长出乳白色愈伤组织

继代培养。无菌条件下把培养出的愈伤组织用镊子夹成黄豆粒大小转接到继代培养基中培养 10d 左右。愈伤组织大量增殖,并形成大量丛生芽。

诱导生芽。无菌条件下把继代培养基中的愈伤组织连同芽丛转接到分化培养基上,诱导分化形成幼芽。

诱导生根。当幼芽长到大约 2.5cm 时,将幼芽从愈伤组织上分离,转接到生根培养基上,暗培养 3d,然后转入 2 500lx,12h/d 光照下培养,诱导生根。两周后长出粗而多的根。

炼苗与移栽。将生有根的培养瓶移入阳光充足的温棚中炼

苗一周左右。取出生根苗,洗净附着的培养基,移入育苗钵中,遮阴保湿,两周后移入温棚中培养。

2 分析并讨论培养结果

2.1 不同激素组合对外植体组织培养的影响

将幼茎和幼叶接种在 MS+2mg/L 2,4-D +1mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA +0.8%琼脂的基本培养基上在培养室内培养产生愈伤组织,其诱导率可达 100%。将愈伤组织转接在 MS+1mg/L2,4-D +0.5mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+0.8%琼脂的继代培养基上后,生长旺盛,愈伤组织经多次继代培养后仍可保持分化潜能。将愈伤组织转接在 MS 加不同浓度的 NAA,2,4-D,6-BA 的分化培养基上培养产生不同的分化效果^[2]。结果表明,较适宜的培养基为 MS+0.5mg/L NAA +2mg/L 6-BA +0.8%琼脂,光照培养后可分化出绿色不定芽,并大量生根,形成再生植株,此分化率高达 63.9%,证明此激素配方有利于愈伤组织的分化。

2.2 关于培养结果的几点讨论

2.2.1 细胞全能性

细胞的全能性是指植物细胞具有全套遗传信息,不管是性细胞还是体细胞,在特定的环境下都通过遗传信息的表达而产生一个独立完整的个体。细胞全能性具有完全表达和部分表达的特性,这种设想是 1904 年提出的,这一设想的理论基础是:根据细胞全能性的概念,形成与母体一模一样的植株是细胞中全部遗传特性通过离体培养得到完全表达的结果。按照这个逻辑进行推理,形成与母体一模一样的器官,则应该是细胞中母体全部遗传特性的一部分进行表达的结果。细胞全能性是细胞的一种潜在特性,只有通过外源激素的作用下它才能得到表达,通过变化离体培养中的外源激素的浓度,可以控制细胞中母体的全部遗传特性做完全表达(细胞全能性的完全表达)或部分表达(细胞全能性的部分表达)。完全表达时培养细胞会通过形成胚状体发育成与母体一模一样的植株,部分表达时只能形成与母体一模一样的某种器官或某种组织或某种细胞。金钟花的组织培养和器官克隆正是基于细胞的全能性这一内在因素的。

2.2.2 脱分化和再分化

绝大多数的植物体细胞,只要有一个完整的膜系统和一个有生命力的核,即使是已经高度成熟和分化的细胞也还保持着

文章编号:1003-7853(2006)04-0091-02

中图分类号:S722.7

文献标识码:A

基金项目:黑龙江省科技攻关项目(GC05B114)

假色槭人工驯化生长特性浅析

梁 鸣¹, 李玉芳², 徐海军¹, 孙 波¹, 杨轶华¹

(1. 黑龙江省科学院自然资源研究所, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 山西省晋城职业技术学院)

摘要:通过野生优良绿化树种假色槭的引种驯化和人工繁殖栽培,对其驯化情况、适应程度、生长特点等进行了详细的观测记录和分析研究,提出了相关应用措施和目前存在的问题。

关键词:假色槭; 引种苗; 人工苗; 根系; 高生长

A primary study on growth characteristics of manual domesticated

Acer pseudo-sieboldianum (pax) kom.

LIANG Ming et al (Institute of Natural Resources Heilongjiang Academy of Science, Habin 150040, China)

Abstract:Based on the domestication and manual planting of *Acer pseudo-sieboldianum*, the paper provided detailed observation and accurate analysis about the domestication circes, adaptability extent and growth characteristic, it also put forward current problem and correlated measures.

Key words: *d Acer pseudo-sieboldianum* (pax) kom; omesticated seedling; planting seedling; root system; jumped-up growth

假色槭 (*Acer pseudo-sieboldianum* (pax) kom.) 是槭树科槭树属木本植物, 主要分布在吉林省长白山区, 在黑龙江省仅东南部边缘山地偶有生长, 生于海拔 900m 以下的针阔叶混交林或次生阔叶混交林内或林缘。假色槭多为亚乔木或灌木, 高达 8~9m; 树皮深灰色, 小枝细弱, 嫩枝紫红色或淡红色, 单叶对生, 近圆形, 通常 9~11 掌状分裂, 基部心形, 裂缘有重锯齿, 花期 5~6 月, 果熟期 9~10 月, 双翅果, 其双翅果夹角为锐角。假色槭不仅是细木用材、染料原料和蜜源植物, 而且叶型和秋季的紅葉更具观赏性。我们对假色槭进行了野外引种、人工繁育和栽培的驯化研究, 初步了解和掌握了假色槭的生长特性。

1 实验地自然条件

实验所选地点在哈尔滨市近郊, 位于中温带大陆性季风气候区, 无霜期 140~160d, 年日照时数 2 482.2h, 年平均温度 3.4℃, 年降水量 619.9mm, 春秋两季风沙大, 降水少, 易干旱; 土壤为农用黑壤土。

实验树种假色槭为长白山野生引种苗和人工种子繁育苗木。

2 实验和观察

对野生引种和人工繁育的假色槭苗木, 进行了 5~6 年的驯化研究, 从根、茎、叶等方面作了详细的观测记录和分析。

2.1 材料基本情况

2.1.1 长白山野生引种苗木

2001-04 在长白山林区下, 挖取 3~4 年生假色槭苗 6 千株,

植株高度为 20~65cm, 主干径 0.4~0.6cm, 侧枝数 0 至多个, 主根损伤度 60% 左右, 植株上适度喷水后, 以塑料膜、草席包裹, 由火车运输至实验地。

栽植垄距 40cm, 垄台栽种, 株距 50cm, 以氮素化肥为底肥, 栽后浇水覆土, 几日后补浇水一次, 日常管理, 当年轻度修剪。

由于从林下移植至露地环境, 加之春风大、春旱, 苗木缓苗期相对延长, 当年有极个别植株放叶, 大多数植株始终处于缓苗适应状态。当年秋旱, 又未及时补水, 2001-09 统计, 成活率约为 40%。2002 年春继续引种野生同样树龄的苗木 4 000 株补种, 适时浇水, 正常管理, 秋季统计成活率约为 87%。2005~2006 年冬、春季少雪无雨, 特殊旱年, 苗木生理干旱较严重, 但后期生长正常。

2.1.2 人工种子苗木

在辽宁购买假色槭种子, 于 2002 年春, 进行苗床条播播种。当年小苗平均高度约为 13~16cm, 次年一年生小苗以株行距 20cm×20cm 换床移栽, 日常管理, 缓苗期两月余, 生长正常。

2.2 对根的观测

对引种苗木和种子繁育 1~3 年生苗木, 随机各抽查 10 株, 测量其主根长度、最大根径、侧根数量及最长侧根长度, 得出平均值, 测 5 组, 取最小和最大两个值。6 年中分别在引种驯化初期、中期及后期测量 3 次。人工苗每年夏季测量一次。主要观测根的生长状态和根系整体发育情况 (表 1)。

2.3 茎的观测

恢复到分生状态的能力, 一个已停止分裂的成熟细胞转变为分生状态并形成未分化的愈伤组织细胞的现象叫“脱分化”^[4]。分化形成的愈伤组织细胞在适宜的培养条件下有分化成胚状体, 或直接分化出根和芽等器官形成完整的植株的现象叫“再分化”, 使植物体一部分经脱分化形成愈伤组织, 再经再分化, 器官发生形成芽和根, 最终可以得到预期的结果。

参考文献:

[1] 朱广廉. 植物组织培养中外植体灭菌[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32

(6): 444-449.

[2] 夏海武. 经济植物组织培养[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2000, 9~28.

[3] Lu W L, Wang X J, Kuo C S. Tissue culture and differentiation of organ in tulip[J]. Acta horticulturae Sinica, 1986, (13): 55-60.

作者简介: 王兴安 (1955-), 男, 山东兖州人, 副教授, 主要从事植物生理方面的研究。

(2006-07-06 收稿 X 编辑)