

凌霄组织培养及快速繁殖的研究

齐雨,李森,刘梦颖,徐娜,姜长阳

(辽宁师范大学生命科学学院,辽宁 大连 116029)

摘要:该文以凌霄的生长点为材料,对生长点的生长、不定芽的分化、试管苗的生根及继代、试管苗的移栽与扦插等进行了研究,完成了凌霄的组织培养,建立起凌霄的无性系。结果证明:1/2MS+IAA0.3mg/L+NAA0.1mg/L是凌霄生长点生长培养的理想培养基;MS+BA1.2mg/L+IAA0.2mg/L+NAA0.1mg/L是凌霄不定芽分化培养的理想培养基;1/3MS+IAA1mg/L是凌霄试管苗生根培养的理想培养基;炉灰渣是凌霄试管苗移栽和扦插的理想基质。

关键词:凌霄;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S723.137

文献标识码:A

文章编号:1002-3356(2008)04-0001-03

凌霄(*Campsis grandiflora*(Thunb.)Schum.)原产于北美,属于紫葳科凌霄属多年生落叶藤本植物^[1]。凌霄的茎、叶可入药,具有活血化瘀、凉血祛风等功效,能治血滞闭经、跌打损伤、湿疹疥癣、血热风痒等疾病^[2,3];同时,其枝干虬曲多姿,翠叶团团如盖,花大色艳,花期甚长,为庭院、花门的良好绿化植物,也是石壁、墙体垂直绿化的好材料。并且凌霄耐寒耐旱、耐盐耐碱、对土壤没有严格的要求,根系非常发达,适应性强^[4]。正是因为凌霄具有上述特点,辽宁南部地区近年来将其作为垂直绿化植物引种。但是,由于在辽宁南部地区栽培的凌霄不易结出种子,而且这种新引进植物材料有限,依赖于常规扦插和埋根的方法进行无性繁殖速度慢、繁殖的苗木数量少,无法满足园林绿化栽培的需要。为此,我们对凌霄进行了组织培养及快速繁殖的研究,以期满足园林绿化对凌霄种苗的大量需求。

1 材料与方法

1.1 材料及灭菌

于2~3月份,选择墙壁上生长较为旺盛的1a生休眠凌霄枝条,将其剪回实验室内,把枝条的下部插到5mg/L(单位下同略)的卡那霉素水溶液中,放到24℃的恒温箱中进行萌动培养,当芽刚刚开始萌动时,剪成具有1个芽的茎段,放到500mL磨口广口瓶中,用自来水冲洗60min左右,然后用0.05%安利洗涤剂振荡洗涤20min,再用自来水洗至没有泡沫时置于超净工作台上,用75%乙醇灭菌20s左右,迅速用无菌水洗3次,接着用0.05%HgCl₂溶液振荡灭菌5min,再加入等体积无菌水。继续振荡灭菌15min,接着用无菌水振荡洗涤5次,即获得无菌材料。

1.2 培养条件

培养基以B5、N6、MS、1/2MS和1/3MS为基本培养基,附加不同浓度的细胞分裂素BA和生长素IAA、IBA、NAA、2,4-D。以N6、MS为基本培养基时,加蔗糖30g/L;以

B5、1/2MS为基本培养基时,加蔗糖15g/L;以1/3MS为基本培养基时,加蔗糖10g/L。培养基胼力强度为180g/cm²9, pH5.8~6.0,培养温度25℃,光照时间12h/d,光照强度2500lx。

2 结果与分析

2.1 不同基本培养基对生长点生长的影响

在无菌的条件下,将刚刚开始萌动的无菌芽,用解剖针和手术刀剥离出0.2cm左右的生长点,接种到附加IAA0.3、NAA0.1的B5、N6、MS、1/2MS和1/3MS培养基上,放到25℃的恒温箱中进行生长点的生长培养。培养15d左右,有的培养基上生长点开始生长,随后迅速生长。培养到50d时进行观察统计(见表1)。由表1可见,在以N6和MS为基本培养基的2种培养基上生长点不能生长,而在以B5、1/2MS和1/3MS为基本培养基的3种培养基上生长点均可生长。从生长点的生长率和平均高两个方面看,在1/3MS培养基上生长率最好为96%,平均高为5.8cm;但在1/3MS上生长芽长势很弱,多数生长芽为无效芽;从生长势上看1/2MS培养基有利于生长点的生长培养,并且在这一培养基上生长点的生长率也达到了92%。在生长点生长培养的4次重复试验中的统计观察均证明,尽管1/3MS为基本培养基的生长点的生长率和生长芽高度好于1/2MS,但从长势等综合观察看,1/2MS培养基对生长点的生长培养效果好。这说明1/2MS+IAA0.3+NAA0.1这一培养基是凌霄生长点生长培养的理想培养基。

表1 不同基本培养基对生长点生长的影响

培养基	外植体个数	生长率/%	生长势	平均高/cm
MS	50	0		
1/2MS	50	92	旺盛	4.1
1/3MS	50	96	很弱	5.8
B5	50	82	弱、缓慢	2.5
N6	50	0		

2.2 不同激素对不定芽分化的影响

把在1/2MS+IAA0.3+NAA0.1培养基上培养的生长芽

切成具有一个顶芽或侧芽的茎段,接种到以 MS+BA1.2 为基本培养基,附加不同浓度的 IAA、NAA、IBA 的分化培养基上,进行分化培养。接种后 15d 可见分化出不定芽,50d 时观察进行统计(见表 2)。由表 2 可见,不同浓度的 IBA 与浓度分别为 0.2、0.4 的 IAA 配合使用,不能诱导分化;浓度为 0.2、0.4 的 IAA 单独使用、不同浓度的 NAA 与浓度为 0.2 的 IAA 配合使用、以及浓度为 0.1、0.3 的 NAA 与浓度为 0.4 的 IAA 配合使用时可以诱导分化。但从分化率、平均分化不定芽数及分化不定芽长势 3 个方面看,以浓度为 0.1 的 NAA 与浓度为 0.2 的 IAA 配合使用效果最好。观察还表明,在这一培养基上培养 30d 左右,就会分化出丛生不定芽,培养到 50d 时,分化苗就会生长成为高 1~3cm 的旺盛丛生不定芽,平均分化不定芽数为 6.6。把在这一培养基上诱导分化的不定芽剪成具有顶芽或侧芽、长 0.5cm 左右的茎段,接种到相同的培养基上进行分化继代培养。连续继代培养了 6 代的观察统计表明,继代培养 45d 为 1 个分化培养周期,而其分化率、平均分化不定芽数及分化不定芽长势保持不变。这说明 MS+BA1.2+IAA0.2+NAA0.1 这一培养基是凌霄不定芽分化培养的理想培养基。

表 2 不同生长素对分化的影响

IAA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	IBA /mg·L ⁻¹	接种数 /个	分化芽数 /个	分化率 /%	平均分化 不定芽数	长势
0.2	0	0	50	10	20	1.2	+++
0.2	0.1	0	50	48	96	6.6	+++
0.2	0.3	0	50	37	74	3.3	++
0.2	0.5	0	50	18	36	2.2	+
0.2	0.7	0	50	3	6	1.3	+
0.2	0.9	0	50	3	6	1	+
0.2	0	0.1	50	0	0	0	
0.2	0	0.3	50	0	0	0	
0.2	0	0.5	50	0	0	0	+
0.2	0	0.7	50	0	0	0	
0.2	0	0.9	50	0	0	0	
0.4	0	0	50	28	56	3.4	+
0.4	0.1	0	50	17	74	3.4	+
0.4	0.3	0	50	12	24	2.0	+
0.4	0.5	0	50	0	0	0	
0.4	0.7	0	50	0	0	0	
0.4	0.9	0	50	0	0	0	
0.4	0	0.1	50	0	0	0	
0.4	0	0.3	50	0	0	0	
0.4	0	0.5	50	0	0	0	
0.4	0	0.7	50	0	0	0	
0.4	0	0.9	50	0	0	0	

注:+++ 为长势好;++ 为长势较好;+ 长势一般

2.3 不同生长素对生根培养的影响

把在 MS+BA1.2+IAA0.2+NAA0.1 这一培养基上分化

培养的高 1cm 以上的不定芽,从基部剪下,接种到含不同浓度生长素 IAA、NAA、2,4-D 的 1/3MS 培养基上,进行生根培养。接种 7d 后有的培养基上形成白色的可见根原基,25d 时观察统计(见表 3)。由表 3 可见,在不加生长素、加不同浓度 2,4-D 的生根培养基中,不能诱导不定芽生根。在加不同浓度的 IAA 和 NAA 的培养基上都能诱导不定芽生根。但是,从生根率、平均生根数和试管苗的长势看,不同浓度的 IAA 对生根的影响明显的好于 NAA。尤其是在浓度为 1mg/L 的 IAA 培养基上,不仅生根率达到了 100%、单株生根数为 5.4,而且试管苗生长旺盛。观察还表明,在这一培养基上所培养的生根试管苗茎粗壮、叶色浓绿,培养到 10d 时所有的培养苗都会生长出数量不等的根,而后试管苗开始迅速生长,培养到 25d 时,所培养的试管苗都会生长成为高 5cm 以上的旺盛试管苗。把在这一培养基上培养的试管苗剪成长 1~1.5cm、至少具有一个顶芽或侧芽的茎段,接种到相同的培养基上进行生根继代培养,20d 即可培养成为高 5cm 以上的旺盛试管苗。用这种生根继代的方法进行快速繁殖,20d 的繁殖系数为 3.6,并且所繁殖试管苗几乎没有无效苗。在进行生根继代培养剪取茎段时,基部保留 1 叶片(实际上是保留 1 个生长点),20d 后又可生长成为 1 株高 5cm 以上的旺盛试管苗。上述说明,1/3MS+IAA1 这一培养基是凌霄试管苗生根培养的理想培养基。

表 3 不同生长素对生根的影响

IAA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	2,4-D /mg·L ⁻¹	接种数 /个	生根数 /个	生根率 /%	平均 生根数	试管苗 长势
0	0	0	50	0	0	0	
0.5	0	0	50	43	86	3.8	+++
1.0	0	0	50	50	100	5.4	+++
1.5	0	0	50	29	58	2.2	++
0	0.5	0	50	33	66	2.8	+
0	1.0	0	50	16	32	1.8	+
0	1.5	0	50	7	14	1.6	+
0	0	0.5	50	0	0	0	
0	0	1.0	50	0	0	0	
0	0	1.5	50	0	0	0	

注:+++ 为长势好;++ 为长势较好;+ 长势一般

2.4 试管苗的移栽与扦插

把生根试管苗从培养瓶中取出后,洗净基部的培养基,移栽到上面分别铺着 5~7cm 厚河沙、炉灰渣、园土和珍珠岩的温室苗床上,移栽后 14d 成活并开始正常生长。观察统计表明,炉灰渣是理想移栽基质。在保持没有直射光、温度为 22℃以上、湿度在 90%以上的条件下,以炉灰渣为移栽基质的试管苗移栽成活率为 95%。把生根试管苗剪成长 2cm 左右、至少具有 2 个生长点的茎段,把下部切口经 90mg/L 的 IAA 处理 5min 后,扦插到以炉灰渣为基质的温室苗床上,在保持与移栽相同的条件下,试管苗扦插的成

活率为91%。扦插苗前期长得较小,2个月后长势与移栽苗没有明显差异。上述说明,炉灰渣是凌霄试管苗移栽和扦插的理想基质。

把在温室中移栽和扦插成活的试管苗于4月中下旬移植到田间,移植成活率几近100%。经过2a的观察表明,移栽、扦插的凌霄试管苗与常规扦插苗相比,具有生长旺盛、长势整齐、秋末落叶晚7~10d、根系增加1倍等突出特点。

3 讨论

虽然现在已多有木本植物组织培养、无性系建立及快速繁殖的报道^[6-10],并有美国凌霄组织培养的报道^[11],但迄今未见凌霄组织培养及快速繁殖的报道。本研究以凌霄的生长点为材料,对生长点的生长、不定芽的分化、试管苗的生根及继代、试管苗的移栽与扦插等进行了研究,完成了凌霄的组织培养,建立起凌霄的无性系。

用不定芽分化继代的方法进行快速繁殖,45d的分化率为6.6。这就是说用这种方法进行快速繁殖,1a可繁殖出6.6¹⁸株试管苗;采用生根继代的方法进行快速繁殖,20d的繁殖系数为3.6。也就是说用这种方法进行快速繁殖,1a可繁殖出3.6¹⁸株试管苗。后者不仅繁殖速度快,而且试管苗生长旺盛、没有无效苗;同时,用这种方法进行快速繁殖时,在进行接种材料剪段时,基部保留1叶片,20d后又可生长成为1株高5cm以上的旺盛试管苗,这种方法在几乎没有消耗的情况下,又使作为接种的材料繁殖系数扩大了1倍。因此,生产上应采用生根继代的方法进行快速繁殖。

移栽、扦插的凌霄试管苗与常规扦插苗相比,具有生长旺盛、长势整齐、秋末落叶晚7~10d、根系增加1倍的特

点。一方面是与选择用于研究的材料是生长非常旺盛的枝条(材料本身具有优良的遗传性)有关,另一方面还与在研究中所使用的培养基添加了生长素,移植到田间后,生长素仍在发挥着后效作用有关。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院植物志编辑委员会. 中国植物志(第六十九卷)[M]. 北京:科学出版社,1990,32-33.
- [2] 田代华. 实用中药辞典[M]. 北京:人民卫生出版社,2003,1604-1607.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海人民出版社,1977,1914-1915.
- [4] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京:中国林业出版社,1990,686-687.
- [5] 姜长阳. 培养基琼脂用量的商榷[J]. 植物生理学通讯,1990,16(2):53-54.
- [6] 张晓红,经剑颖. 木本植物组织培养技术研究进展[J]. 河南科技大学学报(农学版),2003,23(3):66-69.
- [7] 张法勇,刘向东,高秀丽. 木本植物器官发生植株再生研究进展[J]. 河北林果研究,2005,20(3):234-236.
- [8] 吴丽君. 木本植物组织培养在林业科研与生产中的应用与局限[J]. 福州林业科技,2003,30(1):67-69.
- [9] 王进茂,杨敏生,杨文利,等. 我国木本植物组织体细胞发生研究进展[J]. 河北林果研究,2004,19(3):295-301.
- [10] 贾彩凤,李悦. 木本植物组织体细胞胚胎发生技术[J]. 中国生物工程杂志,2004,24(3):26-29.
- [11] 李静,李青,董秀春,等. 美国凌霄组织培养技术研究[J]. 山东林业科技,2007(1):36-37.

防止苹果幼树越冬抽条的措施

姜鑫磊

(围场四合永镇林业站,河北 围场 068400)

苹果幼树抽条是由于幼树抗寒、抗病能力差致使枝条春季干皱枯死。来年由基部重新长出旺枝,造成树形紊乱,果树效益降低。

1 产生的原因

(1)由于幼树发育不充实,保水能力差,冬季受风吹,从尖端向下抽干。

(2)秋季浮尘子树干上产卵,对树皮造成很多伤口,而损失大量水分。

(3)春季气温升高快,土壤化冻迟,根系活动弱,营养、

水分跟不上造成枝条抽干。

2 防止措施

(1)春季覆盖地膜,提高地温,促进根系的活动,增加根部吸水能力;秋季控制土壤水分。

(2)防治浮尘子。在9月下旬至10月中旬喷施菊酯类药物2次或9月下旬树干涂白防治浮尘子在枝条上产卵而危害果树。

(3)早修剪。把不充实和遮光及多余枝条剪掉,减少蒸腾面积。