

托柄菝葜组织培养技术研究

刘永提¹ 黄成名¹ 姚东艳² 李 林¹ 胡明芬¹

(1 宜昌市林业科学研究所 2 宜昌市夷陵区林业局)

摘 要:以托柄菝葜幼嫩的茎段为外植体,MS、1/2MS、1/4MS、B₅ 为基本培养基,研究了不同植物激素组合对托柄菝葜组织培养快速繁殖的影响。试验结果表明,不同培养阶段的适宜培养基为:(1)启动培养基为 1/2MS + 6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.1 mg/L;(2)继代增殖培养基为 1/2MS + 6-BA 3.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L,月平均芽增殖率可达 177.8%;(3)生根培养基为 1/4MS + NAA 1.5 mg/L + 活性炭 1 000 mg/L,培养 25 d 后生根率可达 93.3%。

关键词:托柄菝葜;组织培养;茎段;外植体;褐化

Tissue Culture of *Smilax discotis* Warb. // LIU Yong-ti, HUANG Cheng-ming, YAO Dong-yan, LI Lin, HU Ming-fen

Abstract: Taking the young stem of *Smilax discotis* Warb. as the explant, using the MS, 1/2MS, 1/4MS, B₅ as the basic culture medium, the effects of hormone combination on callus formation and plantlet regeneration of *Smilax discotis* Warb. were studied in this paper. The results indicated that the suitable culture medium at different culture stages was: (1) Initial medium: 1/2MS + 6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.1 mg/L; (2) Proliferation medium: 1/2MS + 6-BA 3.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L, (3) Rooting medium: 1/4MS + NAA 1.5 mg/L + activated carbon 1 000 mg/L. The monthly average bud proliferation rate could reach 177.8% in proliferation medium, and the rooting ratio could reach 93.3% when cultivated in rooting medium for 25 d.

Key words: *Smilax discotis* Warb.; Tissue culture; Stem segment; Explant; Browning

First author's address: Yi Chang Forestry Institute, 443111, Yichang, Hubei, China

托柄菝葜(*Smilax discotis* Warb.)又名斤八斗,俗称“相思菜”(为宜昌市五峰、长阳等县山区农民的俗称),为菝葜科(Smilacaceae)菝葜属(*Smilax* L.)常绿攀缘状灌木。叶纸质,通常卵状椭圆形,或近椭圆形,长 4~10 cm,宽 2~5 cm,基部心形,下面苍白色;叶柄长 3~5 mm,脱落点位于近顶端,有时有卷须;叶鞘与叶柄等长或稍长于叶柄,宽 3~5 mm,近半圆形或卵形。花单性,雌雄异株,绿黄色,数朵排成伞形花序,生于叶尚幼嫩的小枝上;总花梗长 1~4 cm;雄花;外轮花被片 3,近卵状矩圆形,长约 4 mm;内轮花被片 3,条形;雌花比雄花稍小,具 3 枚退化雄蕊。浆果球形,直径 6~8 mm,成熟时黑色,具粉霜^[1]。根状茎粗短,呈不规则的块状,粗 2~5 cm,茎与枝条疏生刺或近无刺,内含菝葜皂甙类,还含提果皂甙元、鞣质。根状茎入药,具利湿热解毒、健脾胃、利关节之功效,对筋骨拘挛痛、瘰疬、疮疡等疾病具有治愈妙用,另富含淀粉,可制糕点,或酿酒用^[2]。嫩茎叶作蔬菜食用,色、香、味鲜美可口,其蛋白质、维生素及人体所需的多种氨基酸和硒等含量丰富,为无污染无公害蔬菜,纯天然绿色食品,堪称餐桌上的精品——“相思菜”,

而且具有清热解毒的药膳功效,民间早有妙用。

“相思菜”分布于我国甘肃、陕西、河南、安徽、江西、湖南、四川、贵州、云南、湖北等各省区,大多野生于海拔 650~2 100 m 的林下、灌丛中或山坡阴处。近几年来,这一野生资源由于人们过度挖掘,目前日益减少;加之在繁育特性上主要靠自然分蘖或天然播种,一般每株一年只能分蘖 1~3 个蘖芽,播种繁殖的发芽率较低,仅有 20%,扦插和嫁接更难于成活,若长期下去,该植物资源将会面临枯竭境地。因此,为保护开发和利用这一野生植物资源,发展城乡经济,开发绿色食品,保障人民身体健康,从 2003 年起,我们对托柄菝葜的组培快繁技术进行了初步探讨与研究,现总结报道如下。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 试验材料

托柄菝葜(“相思菜”)幼嫩茎条均从湖北省五峰县长乐坪、壶平山等林区采集,部分幼嫩茎条由宜昌市蔬菜科学研究所提供。

1.1.2 试 剂

蔗糖、6-BA、NAA、IBA 均为分析纯,购于湖北武汉中健科技发展有限公司。活性炭由宜昌市林业科学研究所组培室研究人员自制。

收稿日期:2006-03-13

修回日期:2006-03-14

第一作者简介:刘永提(1954-),男,工程师,主要从事植物分类及植物组织培养研究。

1.1.3 培养基

以 MS、1/2MS、1/4MS、B₅ 为基本培养基,附加不同的植物激素配比。启动、增殖培养基加蔗糖 30 g/L,生根培养基加蔗糖 20 g/L,各培养基均加琼脂 6 g/L,pH 值 5.7,121℃条件下灭菌 30 min。

1.2 试验方法

1.2.1 启动培养

取托柄菟葵当年萌生幼嫩茎条,剪去叶片。先用软毛刷蘸洗衣粉水轻刷干净,然后用流水冲洗 30 min 后,再用无菌水冲洗 3 次。将茎条剪成 2 茎节(2 芽)一段,在超净工作台上用 70% 的酒精浸泡 15 s,用 0.1% 的升汞溶液消毒 9 min,无菌水冲洗 5 次。用消毒滤纸吸干水分,剪去茎段两端的断面,接种到启动培养基为 1/2MS(A₁ ~ A₉)上进行培养。30 d 后统计萌发芽数,测量其新梢长度。

1.2.2 芽丛增殖培养

将启动培养新长出的托柄菟葵嫩梢切成带 2 芽(或 2 茎节)茎段(长 1.5 ~ 2.5 cm),接种到增殖试验培养基 MS、1/2MS、B₅ 上。植物生长调节剂为 6-BA、IBA、NAA。每瓶中接种 3 个外植体,每个处理每次接种 30 瓶,30 d 后统计污染率、褐化率及芽增殖率。

1.2.3 生根培养

将增殖培养基上生长至 2 ~ 3 cm 高的小苗转入基本培养基为 1/2MS、1/4MS,植物生长激素为 IBA、NAA,并添加活性炭的生根培养基中,进行生根诱导。25 d 后统计生根率。

1.2.4 培养条件

培养温度为 25 ~ 28℃,光照时间 14 h/d,光照强度 2 000 ~ 2 500 lx。

2 结果与分析

2.1 启动培养

托柄菟葵的 2 芽(带 2 个茎节)茎段接种 10 d 后在部分启动培养基上腋芽开始萌动,30 d 后均可萌发出新梢,但芽萌发率、新梢长度表现出明显差异(见表 1)。由表 1 知,植物生长调节剂 IBA 对托柄菟葵芽萌发率的诱导效果优于 NAA,培养基 A₄ 为最佳处理,芽诱导率达 70%,平均新梢长度为 2.6 cm。因此,该培养基组合 A₄(1/2MS + 6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.1 mg/L)可选为托柄菟葵最佳启动诱导培养基。

表 1 不同激素组合对托柄菟葵茎段芽诱导的影响

培养基代号	6-BA/ mg·L ⁻¹	IBA/ mg·L ⁻¹	NAA/ mg·L ⁻¹	接种 数/个	诱导 数/个	诱导 率/%	平均新梢 高度/cm
A ₁	0	0	0	30	2	6.7	0.1
A ₂	1	0.1	0	30	9	30	1.4
A ₃	1	0.5	0	30	12	40	1.6
A ₄	2	0.1	0	30	21	70	2.6
A ₅	2	0.5	0	30	15	50	1.9
A ₆	1	0	0.1	30	6	20	1.4
A ₇	1	0	0.5	30	8	26.6	1.0
A ₈	2	0	0.1	30	10	33.3	1.7
A ₉	2	0	0.5	30	11	36.7	1.7

2.2 培养基及植物生长调节剂(PGR)对芽丛诱导的影响

在外植体启动培养的基础上,通过调整基本培养基种类和植物生长调节剂的配比,增加芽丛的诱导率。在芽丛诱导中采用了 3 种基本培养基 MS、1/2MS 和 B₅,激素采用 IBA、6-BA 和 NAA,采用 4 因素 3 水平的正交试验设计 L₉(3⁴)。在培养了 30d 后对托柄菟葵的污染率、褐化率及芽增殖率进行了调查,结果见表 2、图 1。

表 2 不同培养基及植物生长调节剂对托柄菟葵芽丛诱导的影响

处理 (实验号)	培养基	PGR 添加量/mg·L ⁻¹			污染瓶数	出芽数	褐化瓶数	污染率/%	褐化率/%	出芽率/%	芽增殖率/%
		IBA	6-BA	NAA							
B ₁	MS	0	2	0	5	9	10	16.6	40.0	36.0	59.2
B ₂	MS	0.1	3	0.1	6	11	13	20.0	54.2	45.8	75.8
B ₃	MS	0.2	4	0.2	7	7	16	23.3	69.6	30.4	71.4
B ₄	1/2MS	0	4	0.2	4	14	10	13.3	38.5	53.8	104.8
B ₅	1/2MS	0.1	2	0.1	3	16	5	10.0	18.5	59.3	114.6
B ₆	1/2MS	0.2	3	0	2	21	6	6.7	21.4	75.0	177.8
B ₇	B ₅	0	3	0.2	6	10	6	20.0	25.0	41.7	96.7
B ₈	B ₅	0.1	4	0	7	8	14	23.3	60.9	34.8	58.3
B ₉	B ₅	0.2	2	0.1	8	6	8	26.7	36.4	27.3	38.9

从表 2、图 1 各处理组合进行比较看出,不同盐分含量的基本培养基对托柄菟葵芽丛的诱导影响很大,总体趋势为:盐分越大,褐化程度越高,出芽率越

低,这说明茎节对培养基中的盐分非常敏感,其更适用低浓度盐分的培养基进行培养;相对而言,6-BA 对于托柄菟葵芽丛的诱导具有决定性作用,当 6-BA 的

应用研究

含量过高时,反而抑制了芽丛的形成并产生较严重的褐化现象。在组合 B₃、组合 B₄、组合 B₈ 中外植体褐化率明显高于相同基本培养基的其他组合。在以上 9 个组合中,组合 B₆ 出芽率最高(75.0%),褐化率比较低(21.4%),出芽增殖率最高(177.8%)。在形成芽丛后可以直接在原培养基上进行增殖,快速获得大量组培苗。所以 1/2MS + IBA 0.2 mg/L + 6-BA 3.0 mg/L 为托柄菝葜最佳增殖诱导培养基。

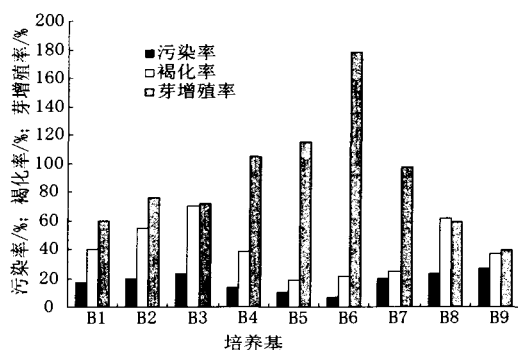


图 1 不同培养基及植物生长调节剂对托柄菝葜芽丛诱导的影响

表 3 不同培养基及植物生长调节剂对托柄菝葜再生植株生根的影响

序号	培养基	添加物/mg·L ⁻¹			生根苗数/株	生根率/%	生长情况
		NAA	IBA	活性炭			
C ₁	1/2MS	0			28	31.1	根的形成慢,数量少
C ₂	1/2MS	0.5			35	38.9	根的形成较慢,数量较少
C ₃	1/2MS	1.0	0.1		54	60.0	根的生长速度慢,较细弱
C ₄	1/2MS	1.5		1 000	71	78.9	根的数量较多,但生长速度较慢
C ₅	1/2MS	2.0			56	62.2	茎基部产生少量根
C ₆	1/4MS	0			32	35.6	根的数量少,粗壮,但生长慢
C ₇	1/4MS	0.5			49	54.4	根的数量较少,根的生长较慢
C ₈	1/4MS	1.0	0.1		68	75.6	根的数量较多,根的生长慢
C ₉	1/4MS	1.5		1 000	84	93.3	根的数量较多,根的生长快
C ₁₀	1/4MS	2.0			73	81.1	根的数量少,根的生长速度较慢

3 结 语

(1)托柄菝葜幼嫩茎条的茎段芽(茎节)诱导率较高,污染率低,是理想的外植体材料。托柄菝葜启动的最佳培养基为 1/2MS + 6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.1 mg/L,培养 30 d 后萌发率达 70%。增殖的最佳培养基为 1/2MS + 6-BA 3.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L,培养 30 d 平均出芽率达 75%,芽增殖率为 177.8%。生根的最适培养基为 1/4MS + NAA 1.5 mg/L + 活性炭 1 000 mg/L,培养 25 d 后生根率达 93.3%。

(2)在本次托柄菝葜的芽丛诱导试验中,出现了严重的褐化现象。特别以 MS 作为基本培养基时,同加入相同的植物生长调节剂的低盐培养基(B₅ 和 1/2MS)相比,褐化率高出 1.16 倍。这主要是在初期培养过程中,基本培养基中高浓度的盐可以促进外植

2.3 再生植株的生根诱导

在对托柄菝葜芽丛进行不断扩增时,组培苗不需要壮苗,在其长至 2~3 cm 时进行生根诱导。从芽丛的诱导结果中知,托柄菝葜的组培苗对于高盐分的培养基非常敏感,所以在生根诱导时,主要采用了 1/2MS 和 1/4MS 为基本培养基,以生长素 NAA、IBA 和活性炭为添加调节剂。每种组合的生根苗数为 90 株,在生根 21 d 后对生根率及生根情况进行调查,不同组合的培养基生根情况见表 3 所示。在以 1/2MS 为基本培养基的组合中,生根所需时间较长,15 d 左右时,叶子出现褐化,而且茎叶生长很慢,在 21 d 内几乎没有明显生长,表现出受到毒害的症状,叶片变褐,在后期不具有移栽的价值。在 1/4MS 的培养基上生长的组培苗生长较健康,褐化外植体极少。添加 1.5 mg/L NAA 和活性炭 1 000 mg/L 时,根的生长速度较快,并且数量较多,其生根率达到 93.3%,所以组合 C₉(1/4MS + NAA 1.5 mg/L + 活性炭 1 000 mg/L)为最佳的生根培养基。

体内酚类物质大量外渗,同时培养基中的 Cu²⁺ 和 Mn²⁺ 的存在可以刺激酚氧化酶的活性,促进醌的合成,加重了外植体的褐化程度^[3,4,5]。此外,6-BA 的添加量对于外植体的褐化也具有较大影响。在同种基本培养基上,6-BA 的添加量与外植体的褐化率呈正相关。本试验中(见表 2)当 6-BA 添加量减少时,褐化率明显降低,这主要是因为 6-BA 能促进酚类化合物的合成,并具有刺激多酚氧化酶活性的作用^[6,7],从而促进了外植体的褐化程度。

参考文献

- [1]中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第五册)[M]. 北京: 科学出版社, 1972.
- [2]徐国钧. 常用中草药彩色图谱[M]. 福建: 福建科学技术出版社, 1998.

- [3]李风兰,胡国富,胡宝忠. 八种不同花色一串红组织培养快繁的研究[J]. 生物技术,2005,15(4):71-73.
- [4]李俊明编译. 植物组织培养教程[M]. 北京:中国农业大学出版社,1996.
- [5]丁连忠译. 抗坏血酸衍生物抑制蘑菇的多酚氧化酶[J]. 食品科学,1991,67(2):22-25.
- [6]邱璐,陈善娜,杨跃仙,等. 云桑组织培养中褐化问题的研究[J]. 蚕业科学,2000,26(2):118-119.
- [7]高国训. 植物组织培养中的褐变问题[J]. 植物生理学通讯,1999,35(6):501-506.

(通讯地址:443111,湖北省宜昌市夷陵区土门金银岗)

闽东桉树引种抗逆性的早期选择

檀庆忠 黎维英 陈致旺 谢建太 张兆璋

(福建省永泰县林业局)

摘要:比较了桉树7个品系在3个不同海拔的成活率、耐寒性、抗虫性、树干弯曲程度和径高比5个性状。结果表明:不同品系的耐寒性、抗虫性、树干弯曲程度、径高比存在显著差异,海拔高度对成活率、耐寒性、树干弯曲程度、径高比具有显著影响;多重比较结果表明:比较适宜闽东发展的桉树品系是尾赤桉201、其次是尾巨桉3229和尾圆桉184。

关键词:桉树;抗逆性;早期选择

A Preliminary Report on Early Selection for Stress Resistance of introduced *Eucalyptus* in Eastern Fujian province// TAN Qing-zhong, Li Wei-ying, CHENG Zhi-wang, XIE Jian-tai, ZHAN Zhao-zhan

Abstract: 5 traits including survival ratio, cold resistance, insect resistance, stem form and the ratio of diameter to height were compared among 7 varieties of *Eucalyptus* from 3 locations of different elevation in Yongtai County, Fujian Province. The experimental plantations were established on a design of random block with 3 repetitions. The results of two factors variance analysis indicated that there was a significant difference existing among varieties for these traits like cold resistance, insect resistance, stem form and the ratio of diameter to height. Elevation had remarkable effects on survival ratio, cold resistance, stem form and the ratio of diameter and height. 3 varieties, *Eucalyptus urophylla* × *camaldulensis* 201, *Eucalyptus urophylla* × *grandis* 3229 and *Eucalyptus urophylla* 184, were selected to be potential varieties for afforestation in Yongtai County.

Key words: *Eucalyptus*; Anti-negative; Early selection

First author's address: Yongtai Forestry Bureau of Fujian Province, Yongtai, Fujian 350700, China

福建省永泰县桉树引种栽培已有50多年的历史。1953年引种大叶桉,1957年后逐步引种柠檬桉等,1994年从漳州组培中心引种巨尾桉成片造林,1a生平均高生长达2m以上。1999年永泰县遭遇历史上罕见的强冷空气袭击,极端最低气温达-4.8℃,许多农林作物遭受严重冻害。永泰县的桉树全部受冻,主干冻枯1/3~1/2,极少数冻死。受冻桉树虽能重新萌芽形成新的树冠,但对生长已造成很大影响。低温冻害是闽东地区乃至中亚热带地区桉树引种栽培的主要限制因子。2003年以来永泰县大力发展桉树短周期工业原料林,初见成效,发展态势很好。但是在桉树品种繁多的情况下,选择出能适应永泰县发展

的优质、速生、抗逆性强的桉树品系是我们面临的一个现实问题。对此我们从福建省目前确定的适合引种栽培的桉树品系中选择出7个,在永泰县不同海拔带上造林,对其抗逆性进行观察调查、统计分析研究,试图从中选择出适应闽东地区的抗逆性强的桉树品系,用于今后发展短周期工业原料林。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

永泰县地处亚热带季风气候区,地理坐标为东经118°23'~119°12',北纬25°29'~26°05'之间。平均气温为15.7~19.5℃,最冷月(1月)平均气温6.7~11℃,最热月(7月)平均气温24.2~29℃,极端最高气温40.9℃,极端最低气温-5.4℃,月平均气温≥10℃的活动积温4487.3~6284.4℃,持续天数223~280d,无霜期为241~294d,一般初霜出现在12月中

收稿日期:2005-12-12

修回日期:2006-02-36

基金项目:福建省永泰县林业局项目“永泰县桉树引种试验”。

第一作者简介:檀庆忠(1964-),男,高级工程师,主要从事森林培育工作。