

用 GPS 建立控制网,最精密的方法应属静态测量。对于大型建筑物,如特大桥、隧道、互通式立交等进行控制,宜用静态测量。一般工程的控制测量,则可采用实时 GPS 动态测量。这种方法在测量过程中能实时获得定位精度。当达到要求的点位精度,即可停止观测,大大提高了作业效率。

4.3 公路中线测设

设计人员在大比例尺带状地形图上定线后,需将公路在地面标定出来。采用实时 GPS 测量,只需将中线桩点的坐标输入 GPS 接收机中,系统就会定出放样的点位。由于每个点位的测量都是独立的完成的,不会产生累积误差。

4.4 公路纵横断面测量

公路中线确定后,利用中线桩点坐标,通过绘图软件,即可给出路线纵断面和各桩点的横断面。由于所用数据都是测绘地形图时采集来的,因此不需要再到现场进行纵横断面测量,从而大大减少了外业工作。如果需要进行现场断面测量时,也可采用实时 GPS 测量。与传统方法相比,在精度、经济、实用各方面都有明显的优势。

4.5 施工测量

GPS 系统既有良好的硬件,也有极丰富的软件可选择。施工中对点、线、面以及坡度等放样均很方便、快捷。精度可达到厘米级。

4.6 变形观测

变形监测网具有毫米级的精度,比一般工程控制网高一个数量级。实践表明,如果用较长的观测时间,分几个时段进行观测,并采用强制对中,观测时天线指北等措施,长度不超过 4km 的基线向量可达到 2mm~3mm 的精度。随着研究深化,GPS 广泛用于变形观测是完全有可能的。

杏香兔耳风组培技术的研究

陈勇谋

(南靖林业局 福建南靖 363600)

摘要 以茎段为外植体,通过 4 种基本培养基和 4 种生长调节剂不同浓度组合的对比试验,筛选出最佳诱导培养基为 MS + 6 - BA0.8mg/L + NAA0.2mg/L,增殖培养基为 MS + 6 - BA1.2mg/L + KT1.5mg/L + NAA0.2mg/L,生根培养基为 1/2MS + NAA0.2mg/L + IBA1.0mg/L + AC0.3mg/L。

关键词 杏香兔耳风 培养基 生长调节剂 组织培养

杏香兔耳风(*Ainsliaea fragrans* Champ.)为菊科兔耳风属植物,别名为兔耳一支香、朝天一支香、四叶一支香、扑地金钟。是一种药用多年生珍稀草本植物。近几年,浙江、江西等地相继开展了杏香兔耳风组培快繁技术研究,在组织培养技术方面的研究虽有见诸报端,但未形成规范的组织培养,其生产也未形成规模化。普遍存在组培苗增殖倍数低,生根率低和大田移植成活率低等问题,未形成较成熟的快繁技术体系,难以真正实现产业化生产的要求。本研究旨在对杏香兔耳风的组织培养进行系统研究,建立其快繁技术体系,为杏香兔耳风的工厂化育苗提供技术保障。

1 材料和方法

1.1 试验材料

从江西引进优良健壮的植株作为组培快繁材料。

1.2 外植体的消毒处理

切取优良、健壮植株的茎段约 2~3cm,保留叶柄作为组培外植体。外植体在接种前需以流动的自来水浸泡 2~3h,用毛刷将枝条刷洗干净。在超净工作台上用 75% 酒精浸泡 10s,再转入 0.15% L 汞溶液中灭菌 8min,倒去灭菌液,用事先准备好的无菌水冲洗 4~5 次,甩干水后备用。

1.3 试验设计

1.3.1 杏香兔耳风基本培养基筛选

以 MS、White 和 B5 为基本培养基,分别附加不同种类和浓度的细胞分裂素(6-BA、NAA);采用 4 因素 3 水平的正交设计 $L_9(3^4)$ (表 1),共 9 个处理,每处理接种 10 瓶,每瓶接 1 株苗,每处理重复 3 次,调查并统计不定芽数及萌芽率。

1.3.2 杏香兔耳风试管苗增殖生长

以 MS、1/2MS、White 和 B₅ 为基本培养基,分别附加不同种类和浓度的细胞分裂素和生长调节物质(6-BA、KT、NAA),进行继代增殖试验,筛选最佳配方组合。采用 5 因素 4 水平的正交设计的 $L_{16}(4^5)$ (表 3),共 16 个处理,每处理接种 10 瓶,每瓶接 1 株苗,每处理重复 3 次。

1.3.3 杏香兔耳风小苗生根培养

杏香兔耳风在生根诱导时,不同激素组合影响根的生诱导和生根率。把杏香兔耳风继代苗接种于不同激素组合的 1/2MS 固体培养基中,培养基均添加 NAA、IBA、活性碳(AC);采用 4 因素 3 水平的正交设计 $L_9(3^4)$ (表 5),共 9 个处理,每处理接种 20 瓶,每瓶接 10 根苗,每处理重复 3 次,调查统计每瓶生根数、生根率。

1.4 培养条件

光照 $8 \sim 12\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$,温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照强度 $1\,500\text{lx} \sim 2\,000\text{lx}$ 。初代培养、继代培养糖用量 30g/L ,生根培养糖用量 15g/L ,琼脂粉 $4 \sim 7\text{g/L}$ 。

2 结果与分析

2.1 基本培养基筛选

表 1 杏香兔耳风初代培养试验

处理	因素			指标均值	
	A 培养基	B 6-BA(mg/L)	C NAA(mg/L)	不定芽数/个	萌芽率/%
1	A1(MS)	B1(0.05)	C1(0.0)	2.9BCcd	59Bc
2	A1	B2(0.4)	C2(0.1)	3.1BCbc	68ABb
3	A1	B3(0.8)	C3(0.2)	4.2Aa	75Aa
4	A2(White)	B1	C2	2.0DEef	30Def
5	A2	B2	C3	3.2BCbc	66Bb
6	A2	B3	C1	3.6ABb	62Bbc
7	A3(B5)	B1	C3	2.5CDde	35CDde
8	A3	B2	C1	1.5Ef	28Df
9	A3	B3	C2	2.8BCDcd	42Cd

试验过程中发现,高 6-BA 和高 NAA 的培养基上容易分化不定芽,平均不定芽数随着 6-BA 的浓度的升高而增加,适当增加 NAA 浓度,分化的不定芽增多,叶片伸展,生长茂盛。从表 1 的 9 种组合中可以看出,不定芽数和萌芽率均最高的为处理 3,平均不定芽数为 4.2 个,平均萌芽率为 75%;其次是处理 6,其不定芽数达 3.6 个,但萌芽率为 62%,低于处理 2 的 68%;处理 3 和处理 6 的 6-BA 浓度均为 0.8mg/L ,高于处理 2,但是处理 3 的 NAA 浓度高于处理 6 和处理 2。综合来看,可初步认为处理 3 为本试验的优选组合,有利于不定芽的诱导生长。对平均不定芽数和萌芽率(反正弦变换)进行方差分析(表 2)。

表 2 方差分析表

变差来源	不定芽数	萌芽率	$F_{0.05}^{0.05}$
区组	<1	<1	$F_{0.05}(2,18)$
A(培养基)	17.63**	54.47**	=3.55
B(6-BA)	18.87**	17.97**	$F_{0.01}(2,18)$
C(NAA)	8.24**	9.17**	=6.01

由表 2 可知,基本培养基、6-BA、NAA 对杏香兔耳风不定芽数、萌芽率的影响都是极显著的。由于培养基、6-BA、NAA 呈显著差异,故对这 3 个因素进行 LSD 多重比较。结果表明,诱导不定芽分化基本培养基以水平 1(即 MS 培养基)、生长调节物质以水平 3(即 6-BA 和 NAA)为最佳。因此,杏香兔耳风初代培养诱导不定芽分化的最佳培养基为 MS+6-BA0.8mg/L+NAA0.2mg/L,能获得分化能力较强的不定芽。

2.2 试管苗增殖生长

继代增殖培养是植物组织培养能否成功并投入应用的关键,又是植物离体快繁第二阶段的目的所在。本研究中,将长 1~1.5cm 的单芽切下,转接到增殖培养基上进行培养,40d 后统计增殖的芽数(表 3)。

表 3 杏香兔耳风继代培养增殖试验

处理	因 素				平均增殖倍数
	A 基本培养基	B 6-BA(mg/L)	C KT(mg/L)	D NAA(mg/L)	
1	A1(MS)	B1(0.3)	C1(0)	D1(0.0)	2.9
2	A1	B2(0.6)	C2(0.5)	D2(0.1)	4.8
3	A1	B3(1.2)	C3(1.5)	D3(0.2)	5.8
4	A1	B4(2.4)	C4(2.0)	D4(0.4)	5.2
5	A2(1/2MS)	B1	C2	D3	4.6
6	A2	B2	C1	D4	2.5
7	A2	B3	C4	D1	4.9
8	A2	B4	C3	D2	5.1
9	A3(White)	B1	C3	D4	2.5
10	A3	B2	C4	D3	3.9
11	A3	B3	C1	D2	1.8
12	A3	B4	C2	D1	2.1
13	A4(B5)	B1	C4	D2	1.5
14	A4	B2	C3	D1	2.4
15	A4	B3	C2	D4	4.4
16	A4	B4	C1	D3	3.0

从表 3 可看出,平均增殖倍数以处理 3 最高,达 5.8;其次为处理 4,其平均增殖倍数为 5.2;最差的为处理 13。从表 4 可看出,平均增殖倍数方差分析的 F 测验结果表明:重复间差异不显著,而因素 A(基本培养基)、因素 B(6-BA)、因素 C(KT)和因素 D(NAA)的差异极显著。说明不同水平的基本培养基、6-BA、KT、NAA 对增殖倍数有不同的影响,故对这 4 因素进行 LSD 多重比较。结果表明:因素 A(基本培养基)的 1 水平、因素 B(6-BA)、因素 C(KT)和因素 D(NAA)的 3 水平对不定芽的增殖效果最好,即基本培养基 MS+6-BA1.2mg/L+KT1.5mg/L+NAA0.2mg/L 可作为最佳的增殖培养基,该结果与处理 3 相符。

表 4 继代培养增殖倍数方差分析结果

变异来源	自由度	平方和	方差	F	$F_{0.05}^{0.01}$
区组间	2	0.00	0.00	0.01	
因素 A	3	40.20	13.40	50.75**	
因素 B	3	12.22	4.07	15.42**	
因素 C	3	16.25	5.42	20.52**	
因素 D	3	10.67	3.56	13.48**	
误差	33	8.71	0.26		
总和	47	88.05			

2.3 试管苗生根

采用 1/2MS 分别附加 NAA(0、0.2、0.4)、IBA(0.5、1.0、1.5) 和 AC(0.05、0.1、0.2) 进行生根培养, 选取无根苗转入生根培养基中培养。30d 后统计生根情况(表 5)。结果表明: 各处理都能诱导杏香兔耳风小苗生根, 但生根率有显著差异。在添加低浓度的 NAA 和 IBA, 并附加高浓度的 AC 时, 诱导生根的效果均好于不加生长调节剂或加入浓度较高时的生根率, 说明低浓度的生长调节剂较易诱导杏香兔耳风生根, 而高浓度的生长调节剂对杏香兔耳风植株生根有抑制作用。从表 5 可看出, 平均生根率最高, 达 79%, 平均生根量达 2.1 条。因此, 处理 5, 即 1/2MS + NAA0.2mg/L + IBA1.0mg/L + AC0.3mg/L 为最佳的生根培养基。

表 5 不同生长素对生根的影响

处理	因素			指标均值	
	A NAA(mg/L)	B IBA(mg/L)	C AC(mg/L)	生根量(根/株)	生根率/%
1	A1(0.0)	B1(0.5)	C1(0.05)	1.6	42.0
2	A1	B2(1.0)	C2(0.1)	1.8	64.0
3	A1	B3(1.5)	C3(0.2)	1.7	43.6
4	A2(0.2)	B1	C2	1.8	59.3
5	A2	B2	C3	2.1	79.0
6	A2	B3	C1	1.9	27.3
7	A3(0.4)	B1	C3	1.6	24.4
8	A3	B2	C1	1.6	52.9
9	A3	B3	C2	2.0	15.2

3 结语

3.1 以茎段为外植体, 杏香兔耳风初代培养诱导不定芽分化的最佳培养基为 MS + 6 - BA0.8mg/L + NAA0.2mg/L。以该培养基进行组织培养, 能获得分化能力较强的不定芽。

3.2 继代增殖培养中, MS + 6 - BA1.2mg/L + KT1.5mg/L + NAA0.2mg/L 为最佳培养基配方。月增殖倍数约达 5.8。

3.3 生根培养中, 以 1/2MS + NAA0.2mg/L + IBA1.0mg/L + AC0.3mg/L 为最佳的生根培养基配方, 生根效果最好, 生根率最高, 达 79%。

参 考 文 献

- [1] 张 锐, 曾宪仪, 张正行. 杏香兔耳风的化学成分研究(Ⅱ)[J]. 中草药, 2006, 37(3): 347 ~ 348
- [2] 伍晓春, 周 蓉, 严朝堃等. 杏香兔耳风总黄酮含量的测定[J]. 宜春学院学报, 2005, 27(6): 72 ~ 73
- [3] 陈正华. 木本植物组织培养技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986
- [4] 谭文澄. 观赏植物试管组培的研究[J]. 甘肃林业科学, 1991(4): 11 ~ 4