

响美洲南蛇藤组培苗分化增殖的主要因素,各因素最适条件为 6-BA 0.5 mg/L、I 级苗、光照 500 ~ 5 500 lx,温度夏季为 25 ~ 30℃,其他季节 20 ~ 25℃。

(2)美洲南蛇藤组培苗在光强 500 ~ 5 500 lx 的 II、III 光区继代培养生长良好;光强在 170 ~ 1 090 lx 的弱光下组培苗生长较弱,只可培养一代,继代培养时应将该区组培苗与 II、III 光区组培苗调换;组培苗分化增殖培养不宜在长时间直射光照射的条件下进行。

(3)美洲南蛇藤最适宜分化增殖的温度范围为 20 ~ 30℃,20℃ 以下瓶苗生长缓慢,30℃ 以上易造成瓶苗弱化、徒长。

(4)6-BA 对瓶苗分化增殖的作用明显比 KT 好,6-BA 的浓度可根据瓶苗的继代次数及生长情况在 0.1 ~ 1.0 mg/L 之间进行调整,组培苗分化增殖最适培养基为 MS+6-BA 0.5+IBA 0.1。

(5)评定瓶苗分化的指标应结合新生芽分化数、苗高、茎粗、叶片生长情况的性状综合考虑。瓶苗质量是继代增殖的基础,继代增殖应选生长健壮的一级苗。同时,要及时调整各影响因素,保证瓶苗生长健壮。

参考文献

- [1] 龙成良. 湖南南蛇藤属植物的研究[J]. 经济林研究, 1996, 14(增刊): 88-90.
- [2] 张舰, 刘延庆. 南蛇藤的研究进展[J]. 国外医学中医中药分册, 2004, 26(6): 335-338.
- [3] 何彦峰, 袁军辉. 南蛇藤育苗和栽培技术[J]. 林业科技开发, 2001, 15(4): 44-45.
- [4] 徐振华. 美洲南蛇藤优良资源及栽培技术引进在冀实施[J]. 林业科技开发, 2003, 1(5): 76.
- [5] 曹孜义. 实用植物组织培养技术教程[M]. 甘肃: 甘肃科学技术出版社, 1996.

(责任编辑 吴祝华)

楸树腋芽增殖快繁技术研究

杨燕, 彭方仁*, 岑显超, 江荣翠

(南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037)

摘要: 选用楸树茎段为外植体进行组培腋芽增殖途径研究, 结果表明: (1) 利于楸树生长的最适宜基本培养基为 N6 培养基; (2) 最佳灭菌方法: 取带腋芽茎段, 剪成 1 ~ 2 cm, 自来水冲洗 2 h → 切剥成 0.5 cm 大小的生长点 → 超净台上 70% 酒精 30 s → 无菌水冲洗 4 次 → 0.1% 升汞浸 6 min → 无菌水冲洗 4 次 → 接种; (3) 初代培养最适培养基: N6+6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L; 继代培养最适培养基: N6+6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + Vc 100 mg/L + 稀土 2 mg/L; 生根培养最适培养基: N6+NAA 1.0 mg/L。

关键词: 楸树; 腋芽; 组织培养; 快速繁殖

Techniques for Tissue culture and Rapid Propagation of *Catalpa bungei* // YANG Yan, PENG Fang-ren, CEN Xian-chao, JING Rong-cui

Abstract: The stem segments with axillary buds of *Catalpa bungei* were chosen as explants to study its rapid propagation techniques in this paper. The results were as follows: (1) The best basic medium was N6; (2) The effective procedure was: The one-year-old stem segments were chose and cut into 1 ~ 2 cm sections with one auxiliary bud each, then washing in tap water for 2 h → cutting into 0.5 cm growing points → soaking in 70% alcohol soaking for 30s → washing in sterile water for 4 times → soaking in 0.1% HgCl₂ solution for 6 min → washing in sterile water for 4 times again → culture in medium; (3) The most suitable medium for primary culture was: N6+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L; The most suitable medium for sub culture was: N6+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+Vc 100 mg/L+Lanthanide 2 mg/L; The most suitable medium for rooting induction was N6+NAA 1.0 mg/L.

Key words: *Catalpa bungei*; Axillary buds; Tissue culture; Rapid propagation

Author's address: College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, 210037, Nanjing, China

收稿日期: 2008-06-19

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划课题“楸树珍贵用材林培育关键研究与示范”(编号: 2006BAD24B08); 江苏省高技术项目“楸树优良无性系选育及苗木标准化生产技术研究”(编号: BG2006319)。

第一作者简介: 杨燕(1983-), 女, 硕士生, 研究方向为林木种苗。通讯作者: 彭方仁, 男, 教授。E-mail: fipeng@njfu.com.cn

楸树(*Catalpa bungei* C. A. Mey.) 属紫葳科梓树属的高大落叶乔木, 原产我国, 是我国生态幅度较大的优良乡土树种、特有的优质珍贵用材树种和著名园林观赏树种^[1]。楸材干形通直, 侧枝少, 尖削度小,

技术开发

出材率高,材性也好;纹理通直美观、质地坚韧致密、有光泽、易干燥、不翘裂、富弹性、耐湿耐腐;气干重高于核桃楸、黄菠萝的木材,楸木顺纹抗压强度大,属阔叶树高级软材种;抗弯强度极大,超过多数针、阔叶树种;抗冲击韧性也高,坚固耐用,居阔叶树材数值之前茅。所以是建筑、模具、器具、车辆、军工、船舶、工艺、高级家具、室内装修、精密仪器盒、乐器等方面的优质良材。

由于人们对楸树采伐利用多,但栽培发展相对较少,致使出现成材比例严重失调和楸木供不应求的局面,与当前快速发展林业的形势不相适应^[2]。因此,探索快速繁殖楸树的方法来促进和改善楸树繁育和苗木培育状况成为亟待解决的问题。笔者以楸树茎段为外植体,进行了楸树腋芽增殖途径的试验研究,以探索楸树的快繁技术。

1 材料与方法

1.1 试验材料

植物材料为2006年夏季在南京林业大学树木园扦插池进行嫩枝扦插繁殖的苗木,同年秋有部分移到营养钵中在大棚内继续培育。包括灰楸和圆基长果楸2个品种。

1.2 材料处理

取盆栽苗带腋芽的茎段自来水冲洗2 h→切剥成0.5 cm大小的生长点→超净台上70%酒精浸30 s→无菌水冲洗4次→0.1%升汞浸6 min→无菌水冲洗4次→接种。

1.3 初代培养

1.3.1 最佳培养基的确定

将外植体接种于MS、1/2MS、N6、WPM、B5计5种培养基中培养。每个处理接种10瓶,每3 d记录1次外植体发育情况。培养15 d后统计腋芽启动情况和芽长,从而筛选出最适宜的基本培养基。

1.3.2 最佳诱导因素的确定

选取生长素、细胞分裂素、琼脂浓度、蔗糖浓度进行4因素3水平正交设计 $L_9(3^4)$,每瓶接种1个楸树茎段,每个处理接种12瓶,重复3次。

生长素选取3个种类:A1(NAA),A2(IBA),A3(2,4-D);

细胞分裂素选取3个种类:B1(6-BA),B2(TDZ),B3(6-BAP);

蔗糖设置3个浓度水平:C1(20 g/L),C2(30 g/L),C3(40 g/L);

琼脂设置3个浓度水平:D1(6 g/L),D2(7 g/L),D3(8 g/L)。

1.4 继代培养

1.4.1 基本培养基、NAA、6-BA对继代增殖的影响

考虑到细胞分裂素和生长素之间可能存在交互作用,为了更准确详细地研究继代增殖问题,因此本试验采用3因素3水平 $L_9(3^4)$ 正交设计方案。每瓶接种1个楸树茎段,每个处理接种12瓶,每个处理重复3次。

基本培养基:A1(MS),A2(N6),A3(WPM);

生长素 NAA:B1(0.5 mg/L),B2(0.1 mg/L),B3(0.05 mg/L);

细胞分裂素 6-BA:C1(1 mg/L),C2(2 mg/L),C3(3 mg/L)。

1.4.2 抗氧化剂对继代培养的影响

比较添加抗坏血酸(Vc)和不添加任何抗氧化剂的褐变情况

A1:N6+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;

A2:N6+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+Vc100 mg/L。

1.4.3 稀土对继代培养的影响

B1:N6+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;

B2:N6+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+稀土 2 mg/L。

1.5 生根培养

将增殖得到的楸树丛生芽分成单株小苗,接种于N6培养基上,添加不同浓度的NAA、IBA、2,4-D,考察不同生长素及浓度对生根的影响。每个处理接种10瓶,6次重复。每3 d记录一次发育情况。培养30 d后统计生根率和根长,从而筛选出最适宜的生根培养基。

生长素选取3个种类:NAA、IBA、IAA。每种设置3个浓度水平:0.1 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L。

2 结果与分析

2.1 初代培养基本培养基选优

通过对灰楸和圆基长果楸在MS、1/2MS、N6、WPM、B5计5种培养基上诱导率的统计(见图1)表明:在5种培养基上均可诱导出芽,但是诱导率不一致,由高到低为N6>WPM>B5>1/2MS>MS。N6的诱导效果最好,芽诱导率达到80.91%;MS诱导效果最差,诱导率仅为35%。楸树的腋芽诱导启动时间一般集中在5~10 d,在N6培养基中启动时间最早,有的外植体接种2 d就启动腋芽萌发。一般接种后14 d内都能在培养基的诱导下启动,诱导腋芽的萌发。这跟其他一般木本植物的组培规律

相一致。

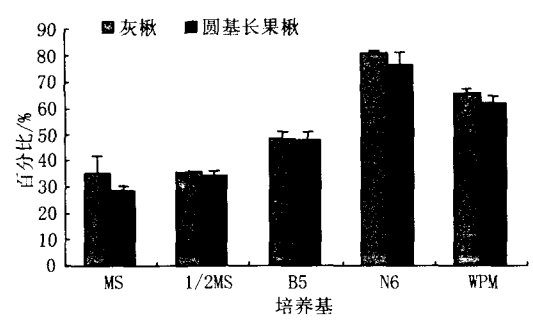


图1 不同基本培养基对芽诱导率的影响

2.2 不同激素种类、蔗糖浓度及琼脂浓度对初代培养的影响

由表1可以看出,4种因素对腋芽诱导的作用主次顺序为:蔗糖浓度>生长素种类>细胞分裂素种类>琼脂浓度。

表1 不同激素种类、蔗糖浓度及琼脂浓度对腋芽诱导的影响

处理号	生长素种类	细胞分裂素种类	蔗糖/ g·L ⁻¹	琼脂/ g·L ⁻¹	腋芽 数/个	$y_i = x_i - \bar{x}$
1	NAA	6-BA	20	6	2.5	0.15
2	NAA	TDZ	30	7	3.1	0.75
3	NAA	6-BAP	40	8	2.3	-0.05
4	IBA	6-BA	30	8	2.8	0.45
5	IBA	TDZ	40	6	1.8	-0.55
6	IBA	6-BAP	20	7	2.0	-0.25
7	2,4-D	6-BA	40	7	2.0	-0.35
8	2,4-D	TDZ	20	8	1.9	-0.45
9	2,4-D	6-BAP	30	6	2.7	0.35
k_1	0.85	0.25	-0.55	-0.05		
k_2	-0.35	-0.25	1.55	0.15		
k_3	-0.45	0.05	-0.95	-0.05		
$\bar{k}_1$	0.28	0.08	-0.18	-0.02		
$\bar{k}_2$	-0.11	-0.08	0.51	0.05		
$\bar{k}_3$	-0.15	0.02	-0.31	-0.02		
R	0.43	0.17	0.83	0.07		

对于楸树初代培养的腋芽诱导而言,蔗糖浓度和生长素种类这两个因素的影响较大,细胞分裂素种类次之,琼脂浓度影响最小,蔗糖浓度作用顺序为30 g/L>20 g/L>40 g/L;生长素作用顺序为NAA>IBA>2,4-D;细胞分裂素作用顺序为6-BA>6-BAP>TDZ;琼脂浓度作用顺序为7 g/L>8 g/L=6 g/L,4种因素浓度过高或过低均不利于腋芽诱导。

2.3 基本培养基、NAA、6-BA对继代增殖的影响

由表2可以看出,3种因素对楸树继代培养中增殖倍数的作用主次顺序为:培养基浓度>6-BA浓度>NAA浓度。

表2 继代培养丛生芽增殖倍数

处理号	培养基	NAA/ mg·L ⁻¹	6-BA/ mg·L ⁻¹	增殖倍数	$y_i = x_i - \bar{x}$
1	MS	0.50	1	1.21	-1.90
2	MS	0.10	2	2.39	-0.72
3	MS	0.05	3	1.82	-1.29
4	N6	0.50	2	4.82	1.71
5	N6	0.10	3	4.12	1.01
6	N6	0.05	1	3.39	0.28
7	WPM	0.50	3	3.29	0.18
8	WPM	0.10	1	2.85	-0.26
9	WPM	0.05	2	4.11	1.00
k_1	-3.91	-0.01	-1.88		
k_2	3.00	0.03	1.99		
k_3	0.92	0.01	-0.10		
$\bar{k}_1$	-1.30	-0.00	-0.63		
$\bar{k}_2$	1.00	0.01	0.66		
$\bar{k}_3$	0.31	-0.00	-0.03		
R	2.3	0.01	1.29		

对于楸树继代培养的增殖系数而言,培养基种类影响最大,6-BA浓度次之,NAA浓度影响较小。培养基种类作用顺序为N6>WPM>MS;6-BA浓度作用顺序为2 mg/L>3 mg/L>1 mg/L;NAA浓度作用顺序为0.1 mg/L>0.5 mg/L=0.05 mg/L,3种因素浓度过高或过低均不利于增殖。

2.4 抗氧化剂对继代培养的影响

随着培养时间的延长,褐化率会继续升高(见表3)。如果不能有效控制褐化的发展,最后会导致外植体褐变致死。本试验产生褐化的原因主要有以下两个:一是由于灭菌处理时消毒时间的控制;二是外植体本身的因素造成的,包括分泌的一些酚类物质。在培养基中适当添加一些抗氧化剂如Vc,Vc的使用能有效减弱褐化。

表3 抗氧化剂对继代培养的影响

处理号	Vc添加量/ mg·L ⁻¹	茎尖的褐变情况
A ₁	0	褐变率为59.8%茎尖从基部开始褐变
A ₂	100	褐变率为34.6%茎尖轻微褐变

2.5 稀土对继代培养的影响

在试管苗生产中发现,若在培养基中加入30 mg/L的硝酸稀土,其腋芽生长快而且芽条健壮^[3]。本试验结果(表4)也发现稀土能促进组培苗的生长,可能是稀土增加分化苗的叶绿素和糖含量,从而增加多酚氧化酶和过氧化物酶活性,所以能促进芽苗的生长。

表4 稀土对继代培养的影响

处理号	培养基组成	生长情况
CK	N6+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	生长正常,叶色绿,小部分发黄,茎叶舒展
添加稀土	N6+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.1 mg/L+ 稀土 mg/L	生长旺盛,叶色绿,茎叶强健

2.6 不同生长素及浓度对生根的影响

由表5可以看出:

(1)在NAA、IBA、IAA 3种生长素中,在0.1~1 mg/L的浓度范围内均能促进生根,生根期集中在6~15 d。其中以浓度为1.0 mg/L的NAA生根诱导效果最好,最高生根率可达93%,平均根长5.89 cm,单株平均根数15.3。

(2)NAA、IBA、IAA这3种生长素的生根诱导效果作用顺序为NAA>IBA>IAA,3种生长素的生根效果有差异,但是不显著。

(3)NAA的生根效果最好,浓度作用顺序为1 mg/L>0.5 mg/L>0.1 mg/L,3种浓度水平的生根效果差异极显著。

表5 不同生长素及浓度对生根的影响

生长素种类	浓度/ mg·L ⁻¹	开始生根期/d	生根率/%	根长/cm	单株根数/根
NAA	0.1	11	35	3.95	8.5
NAA	0.5	9	55	4.61	11.7
NAA	1.0	6	93	5.89	15.3
IBA	0.1	14	32	3.23	8.3
IBA	0.5	10	47	4.32	9.6
IBA	1.0	7	84	5.31	14.1
IAA	0.1	15	23	3.28	7.6
IAA	0.5	11	36	3.96	8.4
IAA	1.0	9	59	4.65	12.3

3 结论与讨论

3.1 结论

最佳灭菌方法:取带腋芽茎段,剪成1~2 cm,自来水冲洗2 h→切剥成0.5 cm大小的生长点→超净台上70%酒精30 s→无菌水冲洗4次→0.1%升汞浸6 min→无菌水冲洗4次→接种;初代培养最适培养基:N6+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L;继代培养最适培养基:N6+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+Vc100 mg/L+稀土2 mg/L;生根培养最适培养基:N6+NAA 1.0 mg/L。

3.2 讨论

(1)不同培养基由于其组成成分的不同,培养的效果也有差异。在木本植物的组织培养中最常用的培养基包括MS、WPM、N6、B5等。本试验在初代培养、继代增殖及生根培养各个阶段,均对基本培养基

进行筛选。发现在楸树的初代培养、继代增殖时N6的效果明显好于其他培养基。初代培养时芽诱导启动速度快,诱导率高;继代增殖时增殖系数大;生根培养时N6与其他培养基差异不大,出于试验的易操作性及成本考虑,推荐选取N6为基本培养基。N6对楸树组培效果明显,这可能与N6中氮源(KNO₃ 2830 mg/L, NH₄NO₃ 463 mg/L)主要为硝态氮有关。王玉琪等利用双向电泳(2-DE)技术,对不同形态氮素培养的水稻叶片进行比较分析,结果在硝态氮和铵态氮培养的叶片中分别分辨出26个和6个增量表达蛋白,认为硝态氮除作为主要氮源外,还作为一种潜在的信号物质,在植物生长发育过程中起着重要作用^[4]。

(2)稀土元素是指位于元素周期表中第IIIB族的一组元素,即由原子序数为57~71的La、Ce等15个镧系元素以及与之性质十分相似的Sc、Y共17种元素组成。在试验过程中,出现一部分黄化苗,苗表现为茎叶淡黄、茎秆细长、叶小而不伸展等状态。在培养基中添加稀土,有效缓解了幼苗黄化现象,可能是稀土能增加分化苗的叶绿素和糖含量,增加多酚氧化酶和过氧化物酶活性,所以稀土能提高芽苗的生长。在试管苗生产中发现,若在培养基中加入30 mg/L的硝酸稀土,其腋芽生长快而且芽条健壮^[3]。稀土在组培上的应用,不仅可以促进组培苗生长还可以促进试管苗的分化、生根及发育;促进愈伤组织诱导、生长及细胞的生长;对体细胞胚的发生有一定促进作用;促进次生代谢物的合成及释放^[6]。

参考文献

- [1]郭从俭,钱士金,王连卿,等.楸树栽培[M].中国林业出版社,1988.
- [2]杨玉珍,王顺才,彭方仁.我国楸树研究现状及开发利用策略[J].林业科技开发,2006,20(3):4-7.
- [3]丁为群,仲正沐.稀土培养月季试管苗[J].植物杂志,1989(4):32-34.
- [4]王玉琪,张建军,朱国辉,等.不同形态氮素培养下水稻叶片中蛋白质差异表达[J].植物生理与分子生物学报,2006(4):403-410.
- [5]胡勤海,叶兆杰.稀土元素的植物生理效应[J].植物生理学通讯,1996,32(4):296-300.
- [6]陈颖,谢寅峰,曹福亮.稀土在组织及细胞培养上的应用研究进展[J].福建林学院学报,2003,(04):380-384.

(责任编辑 周贤军)