

美洲南蛇藤组织培养技术

郭伟珍¹, 林 艳¹, 曹军合², 邢存旺¹

(1. 河北省林业科学研究院, 石家庄 050061; 2. 新乐市林业局, 新乐 050700)

摘要:以美洲南蛇藤幼嫩的顶芽或带腋芽的茎段为外植体, 进行外植体消毒、增殖培养、瓶内生根和过渡移栽研究, 结果表明: 外植体用 75% 的乙醇消毒 20 s, 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 2.0 min 效果最佳; 适宜的增殖培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg · L⁻¹ (单位下同) + IBA 0.2 + 3.0% 蔗糖; 壮苗培养基为 MS + 6-BA 0.1 + IBA 0.05 + 3% 蔗糖; 适宜的生根培养基为 1/2MS + IBA 0.5 + 1.5% 蔗糖, 生根率 82.0%; 最佳过渡移栽基质为蛭石: 珍珠岩 = 2: 1, 成活率为 98.3%。

关键词:美洲南蛇藤; 生长调节剂; 继代增殖; 过渡移栽

中图分类号: S687.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2008)05-0019-03

Technique of Tissue Culture on *Celastrus scandens*GUO Wei-zhen¹, LIN Yan¹, CAO Jun-he², XING Cun-wang¹

(1. Hebei Academy of Forestry Sciences, Shijiazhuang 050061; 2. Xinle City Forestry Bureau, Xinle 050700)

Abstract: Taking top buds and stems with axillary buds as the explants, the study of disinfection, proliferation culture, rooting in vitro and transition cultivating were conducted. The results were as follows: the most suitable disinfect time properly was 20 s by alcohol and 2 min by HgCl₂ respectively; proliferation culture media was MS + 6-BA 1.0 mg · L⁻¹ + IBA 0.2 + Sucrose 3%; hardening-off culture media was MS + 6-BA 0.1 + IBA 0.05 + Sucrose 3%; rooting culture media was 1/2MS + IBA 0.5 + Sucrose 1.5% and its rooting ratio was 82.0%; transition cultivating media was perlite and peat, its rate was 2: 1, survive ratio was 98.3%.

Key words: *Celastrus scandens*; plant growth regulator; subculture multiplication; transition cultivation

美洲南蛇藤(*Celastrus scandens* L.) 雌雄异株, 是卫矛科南蛇藤属多年生藤本植物。雌株橙黄的蒴果和腥红的种皮观赏价值极高, 可用于插花和冬季装饰, 是栅栏装饰和立体绿化的好材料; 种子油脂为工业特用油, 其提取物在治疗风湿病、腥红热和病毒性炎症方面具有独特疗效; 根皮和茎皮组织中含有的毒性物质是制造无公害杀虫剂的理想材料^[1]。美洲南蛇藤生长量大, 既可缠绕攀缘, 也可匍匐生长, 可有效覆盖裸岩、工程创面、沙地, 防止起沙、风化, 在荒漠化防治工程中有独特作用^[2]。2005 年 9 月, 河北省林业科学研究院从美国引进美洲南蛇藤少量种苗, 同时进行了组织培养和扦插繁殖, 并获得了大量组织培养苗和少量扦插苗, 并在荒漠化地区进行了区域性栽培试验, 对改善生态环境将发挥重要

作用。

1 材料与方法

1.1 材料

外植体为美洲南蛇藤幼嫩的顶芽或带腋芽的茎段。移栽基质为蛭石、珍珠岩和草炭; 生长调节物质为 6-BA、IBA、NAA。

1.2 方法

1.2.1 培养条件 以 MS 为基本培养基, 附加 3% 蔗糖、6.0 g · L⁻¹ 的倍力凝(一种微生物多糖固化剂)和植物生长调节剂, pH 5.8~6.2。培养温度 25~28℃, 光照强度 50~70 μmol · m⁻² · s⁻¹, 光照时间 12 h · d⁻¹。

1.2.2 外植体消毒 剪取美洲南蛇藤幼嫩的顶芽或带腋芽的茎段, 流水冲洗 2 h, 用洗洁精刷洗, 自来水漂洗 3~5 次后置于超净工作台上, 用 75% 的乙醇浸泡 20 s, 无菌水冲洗 2~3 次, 再用 0.1% HgCl₂ 溶液分别浸泡 1、2、3 min, 无菌水冲洗 3 次后, 接种到初始培养基 1/3MS + 6-BA 1.0 mg · L⁻¹

收稿日期: 2008-03-19

基金项目: “948”国际先进农业科学技术引进项目(2003-4-22)

第一作者简介: 郭伟珍(1971-), 女, 河北新乐人, 学士, 林业高级工程师, 从事良种繁育研究。E-mail: gwzcjh@yahoo.com.cn。

+IBA0.02+2.5%蔗糖,每处理接种60芽,每瓶接种1芽,20 d后统计外植体生长情况。

1.2.3 继代与增殖 以MS为基本培养基,将不定芽接种在附加不同浓度的6-BA、IBA、NAA的培养基上,采用完全随机区组设计,每处理30芽,重复3次,每30 d继代1次,连续继代3次,每月统计增殖系数。

以MS+6-BA1.0+IBA0.2+3.0%蔗糖为增殖培养基,对美洲南蛇藤试管苗进行连续多次继代培养,调查不同的继代周期、继代时间对试管苗生长增殖的影响,每次调查瓶苗30瓶,重复3次。

增殖系数=培养周期产生的有效芽总数/接种芽总数。

1.2.4 壮苗培养 以MS为基本培养基,将生长势变弱的试管苗转接入附加6-BA和IBA的培养基中,6-BA的浓度分别为0.1、0.5、1.0 mg·L⁻¹,IBA的浓度0.05、0.1 mg·L⁻¹,每个处理接种30瓶,每瓶接种5株,每30 d继代1次,连续继代3次,试管苗转接前调查其生长情况。

1.2.5 生根培养 剪取3 cm左右健壮的无菌苗接入附加不同浓度NAA、IBA的1/2MS+1.5%蔗糖生根培养基中,NAA和IBA的浓度分别为0.1、

0.3、0.5、0.8、1.0 mg·L⁻¹,每处理接种30株,重复3次,30 d后调查生根情况。生根率=产生根系的株数/接种总株数×100%

1.2.6 过渡移栽 瓶内生根苗在弱光下开口炼苗7~10 d后移栽,用镊子取出生根苗,洗净基部的培养基后栽入基质中,覆膜保湿,温度保持在18~25℃,空气湿度保持在85%以上,每7 d喷1次杀菌剂和营养液,待幼苗长出新根后逐步去掉薄膜,移栽时调查其成活率、生根数和根长。过渡移栽基质为:①蛭石;②珍珠岩;③蛭石:珍珠岩=2:1;④珍珠岩:蛭石:草炭=3:6:1。移栽成活率=成活株数/移栽苗木总数×100%

2 结果与分析

2.1 消毒时间对外植体的影响

表1显示,当处理时间为1 min时,外植体的污染率最高(75%),死亡率为0,无菌苗获得率为25%;当处理时间为3 min时,污染率最低(3.3%),死亡率达33.3%,表明植物材料损伤较重;当处理时间为2 min时,无菌苗获得率高达85.0%,死亡率为5%,对植物材料损伤较少,外植体用0.1%的HgCl₂消毒2.0 min效果最佳。

表1 消毒时间对外植体的影响

处理时间/min	总数/个	污染数/个	污染率/%	死亡数/个	死亡率/%	无菌苗获得率/%
1	60	45	75.0	0	0	25.0
2	60	6	10.0	3	5	85.0
3	60	2	3.3	20	33.3	63.4

2.2 芽的继代增殖

2.2.1 6-BA对试管苗增殖和生长的影响 表2表明,随6-BA浓度的增加,第1次继代增殖系数呈上升趋势,以3.0 mg·L⁻¹效果最好。连续继代3次,3个月的累计增殖系数出现明显差异,以1.0 mg·L⁻¹的累计增殖数最大,达到22.3;6-BA超过1.0 mg·L⁻¹,单独一次继代使增殖系数升高,但连续继代培养后,累计增殖系数呈下降趋势,这可能与6-BA在试管苗体内的积累有关,在一定范围内6-BA的积累促进不定芽的分化,超过一定范围对不定芽的产生有抑制作用。试管苗的高度随6-BA浓度的增加呈下降趋势,高浓度的6-BA抑制

表2 6-BA对试管苗增殖和生长的影响

6-BA浓度 /mg·L ⁻¹	增殖系数			3个月累计 增殖数/个	平均苗高 /cm
	第一次	第二次	第三次		
0.2	2.0	1.8	1.4	5.0	3.1
0.5	2.2	2.0	1.9	8.4	2.8
1.0	2.4	3.0	3.1	22.3	2.6
2.0	3.1	3.0	2.2	20.5	1.8
3.0	3.2	3.2	1.8	18.4	1.2

了试管苗茎的伸长。美洲南蛇藤在6-BA1.0 mg·L⁻¹的培养基中增殖系数最大,且试管苗高度中等,增殖效果最佳。

2.2.2 6-BA与不同浓度的IBA、NAA对试管苗增殖的影响 从表3可以看出,IBA增殖效果比NAA好。当IBA的浓度为0.2 mg·L⁻¹时,试管苗平均高为4.3 cm,芽增殖系数最大。以MS+6-BA1.0+IBA0.2+3%蔗糖为增殖培养基,美洲南蛇藤试管苗的增殖效果最好。

表3 6-BA与IBA、NAA对增殖的影响

培养基	6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	IBA /mg·L ⁻¹	平均高 /cm	增殖系数
1	1.0	0.2	0	3.2	3.7
2	1.0	0.5	0	3.7	3.2
3	1.0	1.0	0	2.3	2.7
4	1.0	0	0.2	4.3	4.0
5	1.0	0	0.5	3.8	3.5
6	1.0	0	1.0	3.0	3.0

2.2.3 继代周期和继代次数对增殖的影响 通过观察发现,继代周期为20、30 d的试管苗转接4~5 d后,生长迅速,20 d后达到生长高峰,可持续生长

30 d 左右,40 d 转接的试管苗,叶片发黄,生长缓慢,转接后不能迅速恢复生长。从图 1 可以看出,继代增殖系数与继代培养代数密切相关。最初的几代,试管苗的增殖系数较低,5~10 代间增殖系数迅速增加,并进入分化高峰期,一直延续到 15 代,15 代后增殖系数明显下降,出现这一结果的原因可能与材料自身内部形态发生能力下降有关。继代增殖以在 10~15 代之间为宜,超过 15 代,需进行复壮。

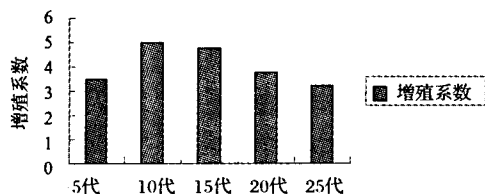


图 1 继代次数对增殖的影响

2.3 不同的培养基对试管苗的复壮效果

从表 4 可以看出,不同浓度的 6-BA 和 IBA 组合对美洲南蛇藤的试管苗的复壮效果差异明显,试管苗在培养基 1 中生长健壮,芽分化多,复壮效果最佳,在培养基 2、3 和 4 中生长健壮,但芽的分化数量小,繁育速度慢;6-BA0.1+IBA0.05 为适宜的壮苗培养基。

表 4 6-BA 和 IBA 对试管苗生长的影响

培养基	6-BA	IBA	平均高 /cm	生长情况
1	0.1	0.05	3.3	叶深绿色,分化芽多,粗壮
2	0.1	0.1	3.0	叶深绿色,分化芽少,粗度中等
3	0.5	0.05	2.4	叶绿色,分化芽少,粗度中等
4	0.5	0.1	1.7	叶绿色,分化芽少,粗度中等
5	1.0	0.05	3.4	叶片小,嫩绿色,基部愈伤多,茎细
6	1.0	0.1	2.8	叶片小,嫩绿色,基部愈伤多,松散,茎细

2.4 生长素种类及浓度对试管苗生根的影响

表 5 表明,美洲南蛇藤试管苗在附加 NAA 和 IBA 的培养基中的生根率分别为 52.2%~90.0% 和 56.7%~94.2%,IBA 的生根效果好于 NAA。随 IBA、NAA 浓度的增加,试管苗基部的愈伤增多,

表 5 生长素种类及浓度对试管苗生根的影响

生长素	浓度 /mg·L ⁻¹	生根率 /%	平均生根数 /条	平均根长 /cm
NAA	0.1	52.2	2.0	0.4
	0.3	63.3	3.3	0.6
	0.5	77.6	3.1	0.9
	0.8	82.9	2.7	0.8
	1.0	90.0	2.2	0.6
	0.1	56.7	1.5	0.3
IBA	0.3	78.0	2.6	0.6
	0.5	82.0	3.8	1.6
	0.8	88.0	3.6	0.9
	1.0	94.2	3.1	0.5

生根数增加,根长变短,从愈伤组织上长出的根在移栽时易断,不利于移栽成活。0.5 mg·L⁻¹ IBA 生根效果最佳,生根率为 82.0%,平均生根数 3.8 条,根长 1.6 cm。

2.5 过渡栽培基质对试管苗生长的影响

从表 6 可以看出,美洲南蛇藤在各基质中的成活率为 87.7%~98.3%,平均生根数为 7.6~13.0 条,平均根长为 2.4~5.6 cm。珍珠岩、蛭石、草炭的理化性质影响了美洲南蛇藤组培苗的生长,珍珠岩的透气性最好,蛭石透气性中等,草炭的透气性最差,蛭石和珍珠岩不含营养成分,草炭含有较多的有机质和部分植物生长所需营养元素,美洲南蛇藤在蛭石与珍珠岩混配基质中的成活率最高,珍珠岩与蛭石混入草炭后透气性降低,其营养成分增加,对苗木的生长有一定促进作用,美洲南蛇藤在基质④中的成活率最低,平均生根数和根长最大,综合考虑,蛭石:珍珠岩=2:1 为美洲南蛇藤最适宜的过渡栽培基质。

表 6 基质对美洲南蛇藤试管苗生长的影响

基质	组成	成活率 /%	平均生根 数/条	平均根长 /cm
①	蛭石	94.3	9.7	4.6
②	珍珠岩	90.0	7.6	2.4
③	蛭石:珍珠岩=2:1	98.3	11.3	3.8
④	珍珠岩:蛭石:草炭=3:6:1	87.7	13.0	5.6

3 结论

无菌外植体的获得是组织培养成功的基础,用 75%的乙醇消毒 20 s,0.1%的 HgCl₂ 消毒 2 min 对材料损伤最小,无菌苗获得率为 85%。

培养温度 25~28℃,光照强度 50~70 μmol·m⁻²·s⁻¹,光照时间 12 h·d⁻¹,无菌苗在 MS+6-BA1.0+IBA0.2+3%蔗糖的增殖培养基上生长良好,增殖系数 3~5,继代次数超过 15 代,增殖系数明显降低,无菌苗生长势变弱,生长势弱的试管苗转入 MS+6-BA0.1+IBA0.05+3%蔗糖培养基,可健壮生长。

最佳瓶内生根培养基为 1/2MS+IBA0.5+1.5%蔗糖,生根率为 82.0%,生根数 3.8 条,根长 1.6 cm。

美洲南蛇藤瓶内生根苗最适宜的过渡栽培基质为蛭石:珍珠岩=2:1,成活率 98.3%,平均根长为 3.8 cm,平均生根数为 11.3 条。

参考文献:

- [1] 郭远强,李锐.南蛇藤属植物化学成分研究进展[J].沈阳药科大学学报,2003,20(3):226-229.
- [2] 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,2003,17(5):76.