

金叶连翘组培快繁技术研究

孙海龙

(黑龙江林业职业技术学院,黑龙江 牡丹江 157011)

摘要:为了建立金叶连翘组培快繁体系,采用金叶连翘新生枝梢为外植体,采用不同浓度激素处理,研究组培快繁过程中外植体分化、增殖、生根及相关因素对金叶连翘快繁的影响。结果表明:金叶连翘最佳的初代培养体系为 MS+6-BA $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,增殖培养体系为 MS+6-BA $2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,生根培养体系为 1/2MS+NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 或 1/2MS+IBA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词:金叶连翘;嫩茎;组织培养

中图分类号:S685.24

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)05-0035-03

金叶连翘(*Forsythia koreana*),叶金色,是一种具有较高观赏价值的木本花卉。可应用于半阴坡的疏林下,灌木丛中或自成群落,有较强的保持水土的作用,园林中常应用于公园绿地、庭院和街道,可丛植、孤植,病虫害较少,易于管理^[1]。近年来,开发培育连翘、发展连翘林潜力较大,为适应城市园林绿化迅速发展的需要,采用组织培养技术进行苗木快速繁殖,已成为主要研究方向。该文通过对母树新生枝梢的选择及处理、组培苗增殖及生根和试管苗驯化移栽等的研究,旨在探索出适合于金叶连翘组培快繁的技术。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2013 年 4 月进行,选取健壮无病虫害的连翘嫩茎,去除叶片,剪成 3~5 cm 长的茎段,每段约带 2~3 个芽。用流水冲洗 30 min 以上,在无菌条件下用 75% 的酒精消毒 20~30 s,无菌水冲洗 2~3 遍,再用 2.6% 的次氯酸钠溶液(加入 3~5 滴土温)浸泡 6~8 min,最后用无菌水冲洗 3~5 次。将灭过菌的茎段用无菌滤纸吸去表面的水分,切取 0.5~1.0 cm 的带芽茎段进行接种。

1.2 方法

试验以 MS 为基本培养基,pH5.8,添加 3% 蔗糖及 $6.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂。培养温度 22~25℃,光照强度 2 000~2 500 lx,光照时间 12 h。初代培养时选择不同浓度的 6-BA、NAA 及不同外植体进行完全试验。增殖培养时采用不同浓度的 6-BA

进行单因子试验。生根培养时采用添加不同浓度的生长素 NAA、IBA 进行试验。

生根培养一段时间后,待根长到 2~3 cm 时可移栽。移栽前需炼苗:不开封口膜,在自然光照的室内炼苗 4~5 d;打开封口膜,炼苗 1~2 d 再移栽。移栽前用高锰酸钾溶液对栽培基质进行消毒处理,并将生根苗清洗干净,然后将植株移栽在消过毒的栽培基质中。驯化移栽初期要注意光照、温度、水分的调控,使组培苗逐渐适应外界环境。

2 结果与分析

2.1 初代培养体系的建立

初代培养即诱导腋芽萌发,获得无菌苗。初代培养外植体分为 3 种情况,木质化较高的新生枝、幼嫩的新梢以及半木质化的中间部分;6-BA 设置 4 个浓度 2、3、4 和 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;NAA 设置 2 个浓度为 0.1 和 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

试验结果表明,3 种外植体类型中以中下部分分化效果较好,幼嫩的新梢培养一段时间后发黄死亡。由表 1 可以看出,相同浓度 6-BA、不同浓度 NAA 下金叶连翘萌芽数量差异不明显,不同浓度的 6-BA 对金叶连翘的初代培养的分化程度的影响不同,随着 6-BA 浓度逐渐增加,芽分化数增加,增殖率呈现增加的趋势,但是当 6-BA 浓度为 $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,组培苗开始发生玻璃化现象,因此,综合多因素表现认为当 6-BA 浓度为 $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,芽分化效果最好。图 1 为 1、3、5、7 号培养基,由此可知,随着 6-BA 浓度的增加玻璃化现象加重。不同的生长调节剂配比浓度对金叶连翘的分化影响较大,当培养基为 MS+6-BA $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,芽分化量最大,

收稿日期:2014-01-15

作者简介:孙海龙(1981-),男,黑龙江省牡丹江市人,硕士,讲师,从事园林工程施工与管理方面研究。E-mail:412760558@qq.com。

抽生的枝条健壮。

表 1 不同浓度激素对金叶连翘初代培养的影响
Table 1 With effect of hormone different concentrations on the primary culture of *Forsythia koreanna*

序号 No.	培养基配方 Culture medium	培养数量/瓶 Number	平均萌芽数/个 Average number of buds	玻璃化程度 Vitrification degree
1	MS+6-BA2 mg·L ⁻¹ +NAA0.1 mg·L ⁻¹	30	3.3	无
2	MS+6-BA2 mg·L ⁻¹ +NAA0.2 mg·L ⁻¹	30	3.5	无
3	MS+6-BA3 mg·L ⁻¹ +NAA0.1 mg·L ⁻¹	30	5.6	无
4	MS+6-BA3 mg·L ⁻¹ +NAA0.2 mg·L ⁻¹	30	5.4	无
5	MS+6-BA4 mg·L ⁻¹ +NAA0.1 mg·L ⁻¹	30	5.8	发生
6	MS+6-BA4 mg·L ⁻¹ +NAA0.2 mg·L ⁻¹	30	5.7	发生
7	MS+6-BA5 mg·L ⁻¹ +NAA0.1 mg·L ⁻¹	30	5.1	严重
8	MS+6-BA5 mg·L ⁻¹ +NAA0.2 mg·L ⁻¹	30	5.2	严重

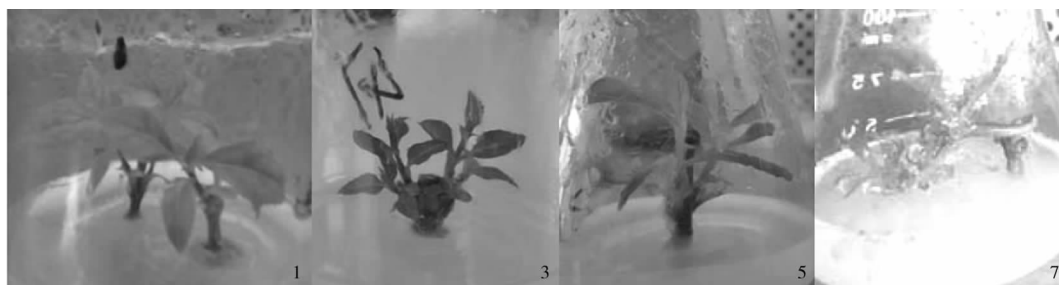


图 1 不同培养基对初代培养的影响

Fig. 1 Effect of different culture medium on the primary culture

2.2 不同浓度 6-BA 对增殖培养的影响

增殖培养是将初代培养的丛生芽切成几块转接到增殖培养基中,为了在短期内获得大量适合生根的嫩茎条。增殖培养在初代培养基的基础上调整了 6-BA 的浓度,试验结果表明(见表 2 和图 2),A~D 的 6-BA 浓度分别为 2.0、2.5、3.0、

3.5 mg·L⁻¹,不同浓度的 6-BA 对金叶连翘增殖有较大的影响,保持 NAA 的浓度为 0.1 mg·L⁻¹不变,外植体的增殖数有一定的变化,当 6-BA 为 2.5 mg·L⁻¹时,增殖效果最好,增殖率和增殖数均极显著高于其它浓度处理。当 6-BA 为 3.5 mg·L⁻¹时发生轻微的玻璃化。

表 2 不同浓度 6-BA 对金叶连翘增殖培养的影响
Table 2 Effect of 6-BA with different concentration on multiplication culture

6-BA 浓度/mg·L ⁻¹ Concentration of 6-BA	NAA 浓度/mg·L ⁻¹ Concentration of NAA	培养数量/瓶 Number	增殖率/% Proliferation rate	增殖数/个 Number of reproduction
2.0	0.1	30	298 cC	4.2 dD
2.5	0.1	30	345 aA	7.2 aA
3.0	0.1	30	310 bB	6.7 bB
3.5	0.1	30	300 cBC	6.4 cC

2.3 不同培养基对金叶连翘生根的影响

生根培养采用 6 种不同的培养基,由表 3 可以看出,生长素 NAA 和 IBA 都对生根均有促进

作用,基本培养基 1/2MS 生根数极显著高于 MS,1 号和 3 号培养基生根效果相近,根数较多,根较粗壮,可以在生产上根据实际情况选择。

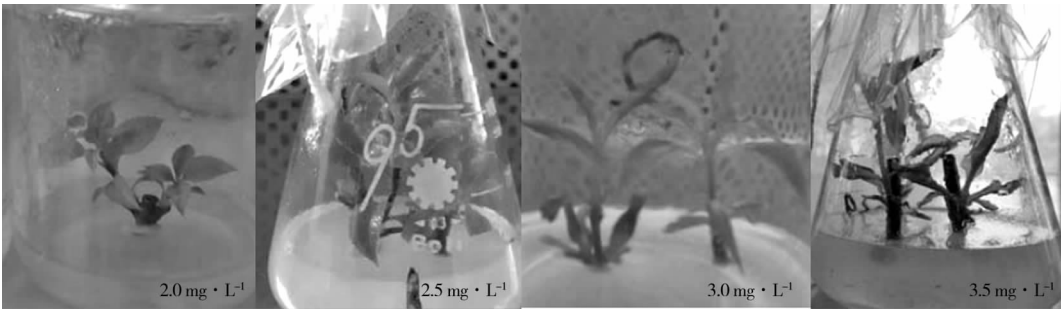


图 2 不同浓度 6-BA 对金叶连翘继代培养的影响

Fig. 2 Effect of different concentration of 6-BA on successive transfer culture

表 3 不同浓度生长素对金叶连翘生根的影响

Table 3 Effect of auxin with different concentration on rooting culture

序号 No.	培养基 Culture medium	培养数量/个 Number	平均根长/cm Average length of root	平均生根数量/个 Average number of root
1	1/2MS+NAA0.2 mg·L ⁻¹	30	3.5 aA	7.2 aA
2	MS+NAA0.2 mg·L ⁻¹	30	3.2 bB	4.4 dD
3	1/2MS+IBA0.2 mg·L ⁻¹	30	3.0 dC	6.3 bB
4	MS+IBA0.2 mg·L ⁻¹	30	3.1 cBC	4.5 cC
5	MS	30	2.4 eD	3.1 fE
6	1/2MS	30	2.2 fE	3.4 eD

3 结论与讨论

通过对试验结果分析得出,金叶连翘的初代培养体系为:MS+6-BA 3 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹。增殖培养体系为:MS+6-BA 2.5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹。生根培养体系为:1/2MS+NAA 0.2 mg·L⁻¹或 1/2MS+IBA 0.2 mg·L⁻¹。

驯化移栽采用的草炭土为栽培基质,使用之前采用高锰酸钾溶液消毒,移栽后注意环境调控,保持空气湿度 85%以上,适当遮光,10 d 左右可以转为正常管理,成活率可达 90%以上。

组织培养方法可以快速、大量地生产出优异的苗木,以供市场运用。建立一个高效的繁殖体系需要考虑的因素很多,主要包括外植体类型、生长调节剂的选择和配比、其它添加物质以及环境调控等,各方面适宜才能达到最好的培养效果^[2]。

试验结果表明,6-BA 的浓度对金叶连翘分化影响很大,浓度过低会使分化效果差,而浓度过高则会导致玻璃化现象严重。外植体选择与处理试验中发现,要根据外植体的类型设置消毒时间,幼嫩的顶梢要缩短时间,否则易造成外植体死亡,影响试验结果。

在金叶连翘培养过程中发现,连翘在分化的过程中,茎段下部伤口处会形成大量的愈伤组织,愈伤组织结构表现比较致密,接种后分化能力低,试验仍需完善,进行金叶连翘愈伤组织诱导试验等研究。

参考文献:

[1] 白雅鹃,章林,陈建军,等.金叶连翘组培快繁技术的研究[J].吉林林业科技,2006,35(1):15-19.
[2] 马燕,韩瑞超,臧德奎,等.木本观赏植物组织培养研究进展[J].安徽农业科学,2012,40(4):1956-1958,2036.