

红金银花不同外植体组织培养直接成苗培养基筛选

王文静¹, 张宝献², 王 鹏¹

(1. 郑州牧业工程高等专科学校 生物工程系, 河南 郑州 450011; 2. 华兰生物工程股份有限公司, 河南 新乡 453003)

摘 要:以红金银花顶芽、当年生幼茎、叶片为试验材料, 利用仿自然气候的培养条件, 通过对培养苗形态指标的综合分析, 对3种红金银花外植体组织培养一次性成苗的培养基进行筛选。结果表明: 顶芽为最佳外植体, 其次是叶片和幼茎。最适合顶芽的培养基为 MS+1.0 mg/L KT+1.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L α -NAA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂粉+0.3%活性碳, pH 6.0; 最适合幼茎的培养基为 MS+1.0 mg/L KT+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L α -NAA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂粉+0.3%活性碳, pH 6.0; 最适合叶片的培养基为 MS+1.0 mg/L KT+1.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L α -NAA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂粉+0.3%活性碳, pH 6.0。

关键词:红金银花; 外植体; 组织培养; 培养基

中图分类号: S 567.23⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)13-0180-03

金银花 (*Lonicera japonica* Thund.) 又名忍冬、二花、银花、二宝花, 是忍冬科忍冬属多年生半常绿藤本植物, 为临床常用中草药, 为我国特有的名贵中药材, 具有清热解毒、凉散风热之功效^[1]。红金银花 (*Lonicera japonica* var. *chinensis*) 为忍冬科忍冬属木本植物, 是金银花的野生变种。其枝、叶、茎淡紫色, 叶久寒而不落, 花蕾红色, 香味浓郁, 且生长快、适应性强、耐旱、耐涝、耐寒、耐瘠薄, 是集药用、观赏、水土保持于一体的特异型品种^[2]。关于金银花组织培养与快繁方面已有研究^[3-5], 但红金银花不同外植体组织培养相关方面的研究报道较少。为加快红金银花的繁育, 2009年进行了不同外植体组织培养直接成苗培养基筛选研究, 旨在对红金银花组培快繁技术进行有益探讨, 并对红金银花品种规模化栽培提供技术参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

红金银花当年生带腋芽的枝条, 采自河南省封丘县金银花基地。

1.2 试验设计

以 MS 为基础培养基, 分别添加不同浓度水平的 KT (K₁: 1.0 mg/L; K₂: 1.5 mg/L; K₃: 2.0 mg/L)、6-BA (B₁: 0.5 mg/L; B₂: 1.0 mg/L; B₃: 1.5 mg/L)、 α -NAA (N₁: 0.1 mg/L; N₂: 0.3 mg/L; N₃: 0.5 mg/L), 进行正交

组合 (K₁B₁N₁; K₁B₁N₂; K₁B₁N₃; ... K₃B₃N₁; K₃B₃N₂; K₃B₃N₃), 共得 27 种培养基, 即 27 个处理。以上培养基中分别加入蔗糖 30 g/L, 琼脂粉 8 g/L, 0.3% 活性碳 pH 6.0。

1.3 试验方法

1.3.1 外植体预处理 将取回的红金银花枝条置于水槽中, 用软毛刷刷洗表面, 无菌水反复冲洗干净, 洗净表面尘土, 剪取顶芽部位, 保留幼茎和叶片。放入清洗液中浸泡 15~20 min, 无菌水冲洗, 在无菌室用紫外灯照射 20 min 后, 再用 75% 的酒精浸泡 30 s, 0.2% 的升汞溶液消毒 3~5 min, 最后用无菌水冲洗 5~8 次, 用无菌纱布吸干水分, 备用。

1.3.2 接种处理 顶芽部位保留 1.0 cm 左右, 幼茎切成 1.0~1.5 cm 带有腋芽的小段, 叶片切成 0.5 cm×0.5 cm 大小, 分别接种于不同的培养基上, 每瓶接种 1 种外植体, 每个处理 10 瓶。操作均在超净工作台上进行。

1.3.3 培养条件 在人工智能气候箱中仿自然条件培养。温度、光照强度、光照时间和湿度参数设置如下: 第 1 时段 20℃-1 500 lx-4 h-85%; 第 2 时段, 25℃-2 000 lx-8 h-85%; 第 3 时段, 20℃-1 500 lx-4 h-85%; 第 4 时段 18℃-0 lx-8 h-85%。

2 结果与分析

2.1 红金银花顶芽外植体生长情况

培养 10 d 后, 大部分外植体上的芽均有萌动, 部分处理的外植体边缘有淡黄色愈伤组织形成。培养 20 d 时, 部分处理分化的外植体上有明显的绿色小球生成, 多数萌动的芽有新叶长出。培养 35 d 时, 部分处理有大量的不定芽生成, 萌发的芽体明显长高, 部分处理有小

第一作者简介: 王文静(1970), 女, 河南新乡人, 硕士, 副教授, 现主要从事生理生化教学和研究工作。E-mail: wwj70@126.com。

基金项目: 河南省高等学校青年骨干教师资助项目(2009GGJS-129)

收稿日期: 2010-04-06

根生出。培养 45 d 时, 绝大部分处理均有不定芽生成, 部分处理不定芽生长, 最高已达 2.5 cm; 萌发的芽有多数小叶; 此时部分处理有大量的根系生成, 最长根达到 12 cm。培养 60 d 时, 对不同外植体长势较好的 9 个处理的不定芽平均数、不定芽平均高、发根平均数、芽体平均高进行调查, 结果见表 1。从表 1 方差分析结果可知, 不定芽数 $K_2B_1N_2$ 、 $K_2B_2N_3$ 处理较 $K_1B_1N_2$ 、 $K_1B_2N_2$ 、 $K_1B_3N_2$ 3 个处理在 0.01 水平上存在差异, 这 3 个处理又较 $K_2B_1N_1$ 处理在 0.01 水平上存在差异; 不定芽的生长高度、发根数量和芽体平均高度 $K_1B_2N_2$ 处理均占明显的优势。综合整体优势来看, $K_1B_2N_2$ 处理整体生长情况较好。

表 1 红金银花顶芽外植体生长情况调查分析

| 处理 | 不定芽平均数/个 | 不定芽平均高/cm | 发根平均数/条 | 芽体平均高/cm |
|-------------|----------|-----------|---------|----------|
| $K_1B_1N_2$ | 9B | 2.4Ba | 10C | 5.0 |
| $K_1B_2N_1$ | 5 | 2.5Ba | 13B | 5.8B |
| $K_1B_2N_2$ | 9B | 2.8A | 18A | 7.2Aa |
| $K_1B_3N_1$ | 5 | 2.3b | 8 | 6.8B |
| $K_1B_3N_2$ | 8B | 2.2b | 11C | 6.2Bc |
| $K_2B_1N_1$ | 7C | 2.3b | 10C | 6.0Bc |
| $K_2B_1N_2$ | 13A | 2.0 | 9 | 5.6C |
| $K_2B_2N_1$ | 10B | 2.4Ba | 13C | 5.3 |
| $K_2B_2N_3$ | 12A | 1.4 | 9 | 4.7 |

注: 表中方差检验中使用的大写字母表示 0.01 水平的差异, 小写字母表示 0.05 水平的差异, 下同。

2.2 红金银花幼茎外植体生长情况

对表 2 分析可知, 不定芽数处理 $K_2B_2N_1$ 较处理 $K_1B_2N_1$ 、 $K_2B_1N_1$ 、 $K_2B_2N_2$ 、 $K_3B_1N_1$ 存在 0.01 水平的差异, 这 4 个处理又较其它处理存在明显差异; 不定芽生长高度处理 $K_1B_1N_2$ 、 $K_1B_3N_1$ 较处理 $K_1B_1N_1$ 、 $K_1B_2N_1$ 、 $K_2B_1N_2$ 、 $K_3B_1N_1$ 在 0.05 水平上存在差异, 这 4 个处理又较其它处理在 0.05 水平上存在差异; 从发根数量来看, 处理 $K_1B_2N_1$ 占明显优势; 芽体生长高度处理 $K_1B_3N_1$ 较处理 $K_1B_1N_2$ 、 $K_1B_2N_1$ 、 $K_2B_1N_2$ 在 0.05 水平上存在差异, 这 3 个处理又较其它处理存在显著差异。综合整体优势来看, $K_1B_2N_1$ 处理整体生长情况较好。

表 2 红金银花幼茎外植体生长情况调查分析

| 处理 | 不定芽平均数/个 | 不定芽平均高/cm | 发根平均数/条 | 芽体平均高/cm |
|-------------|----------|-----------|---------|----------|
| $K_1B_1N_1$ | 7C | 2.5b | 7c | 5.2c |
| $K_1B_1N_2$ | 5C | 2.8a | 8c | 6.2b |
| $K_1B_2N_1$ | 10B | 2.3b | 12Aa | 6.1b |
| $K_1B_3N_1$ | 6C | 2.7a | 6C | 6.8a |
| $K_2B_1N_1$ | 10B | 2.1c | 6C | 5.3c |
| $K_2B_1N_2$ | 7C | 2.4b | 9Bc | 5.9b |
| $K_2B_2N_1$ | 12A | 1.8c | 10Bb | 5.1c |
| $K_2B_2N_2$ | 10B | 2.0c | 10Bb | 5.2c |
| $K_3B_1N_1$ | 9B | 2.3b | 11a | 4.9c |

2.3 红金银花叶片外植体生长情况

从表 3 分析可知, 不定芽数量 $K_2B_1N_1$ 处理较 $K_1B_1N_2$ 、 $K_1B_2N_2$ 、 $K_1B_3N_2$ 、 $K_2B_1N_2$ 4 个处理在 0.01 水平上存在差异, 这 4 个处理又较其它处理存在明显差异;

从不定芽的生长高度来看, $K_1B_1N_2$ 、 $K_1B_1N_3$ 、 $K_1B_2N_2$ 较其它处理具有明显的优势; 从发根数量来看, 处理 $K_1B_1N_2$ 、 $K_1B_2N_2$ 、 $K_2B_1N_2$ 在 0.01 水平上不及 $K_1B_1N_3$, 但与其它处理比较具有明显优势; 在芽体生长高度上, 处理 $K_1B_1N_3$ 较处理 $K_1B_2N_1$ 、 $K_1B_2N_2$ 在 0.01 水平上存在差异, 这 2 个处理又较其它处理具有明显优势。综合整体优势来看, $K_1B_2N_2$ 处理整体生长情况较好。

表 3 红金银花叶片外植体生长情况调查分析

| 处理 | 不定芽平均数/个 | 不定芽平均高/cm | 发根平均数/条 | 芽体平均高/cm |
|-------------|----------|-----------|---------|----------|
| $K_1B_1N_1$ | 9C | 2.2c | 11b | 4.9 |
| $K_1B_1N_2$ | 12B | 2.6a | 12Ba | 6.3C |
| $K_1B_1N_3$ | 6 | 2.7a | 16A | 7.5A |
| $K_1B_2N_1$ | 7 | 2.2c | 8 | 6.7B |
| $K_1B_2N_2$ | 10B | 2.6a | 12Ba | 6.6Ba |
| $K_1B_3N_2$ | 12B | 2.4b | 11b | 5.9b |
| $K_2B_1N_1$ | 15A | 2.3b | 11b | 5.1 |
| $K_2B_1N_2$ | 10B | 2.3b | 13B | 5.2 |
| $K_2B_2N_1$ | 9C | 1.9c | 8Cc | 5.6b |

3 结论与讨论

在仿人工气候培养的条件下, 红金银花不同外植体组织培养过程中生长情况不同, 同一外植体不同的处理间生长情况也存在不同程度的差异。综合对 3 种不同外植体生长因子分析, 顶芽为最佳外植体, 其次是叶片和幼茎。最适合顶芽外植体一次性成苗的培养基为 $K_1B_2N_2$ 处理组合, 即: MS+1.0 mg/L KT+1.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L α -NAA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂粉+0.3%活性碳, pH 6.0; 最适合幼茎外植体一次性成苗的培养基为 $K_1B_2N_1$ 处理组合, 即: MS+1.0 mg/L KT+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L α -NAA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂粉+0.3%活性碳, pH 6.0; 最适合叶片外植体一次性成苗的培养基为 $K_1B_2N_2$ 处理的组合, 即: MS+1.0 mg/L KT+1.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L α -NAA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂粉+0.3%活性碳, pH 6.0。

红金银花组织培养一次性成苗, 程序简化, 节约成本和资源。该试验是采取仿自然条件的培养方式, 对培养 60 d 后的形态指标进行分析, 结合壮苗的综合指标得出的结论, 若进一步探讨和研究生理指标和移栽成功率, 结果将更加科学。

参考文献

- [1] 梁小敏, 罗赣丰, 吴森生. 金银花快繁技术比较研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(32): 13964-13965.
- [2] 赵秀芳. 红金银花离体快繁技术[J]. 林业科技, 2005, 30(4): 60-61, 64.
- [3] 方方舟, 易庆平, 沈超. 金银花离体快繁技术的初步研究[J]. 农业科技通讯, 2007(9): 43-45.
- [4] 刘伟, 和兆荣, 周厚高. 金银花组织培养初报[J]. 中国农学通报, 2006, 22(8): 99-101.
- [5] 王晓明, 李永欣, 聂启英. 金银花组织培养的研究进展[J]. 湖南林业科技, 2006, 33(4): 1-3.

苹果腐烂病无公害防治技术

王佳军¹, 高洪岐²

(1. 辽宁省果树科学研究所, 辽宁 熊岳 115009; 2. 绥中县果蚕局 辽宁 绥中 125200)

摘要: 简要介绍了采取加强栽培管理增强树势, 提高果树本身抗病力; 搞好果园卫生、及时预防治疗等综合措施, 是实现苹果树无公害防治的关键。同时控制农药的使用, 禁止使用对果树、环境和人畜有害的农药, 才能取得良好效果。

关键词: 苹果树; 腐烂病; 无公害; 防治; 综合

中图分类号: S 436.611.1⁺1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2010)13-0182-02

防治苹果树腐烂病, 是苹果栽培中不可忽视的重要环节。实现对苹果树腐烂病的无公害防治, 关键是要控制农药的使用。即尽量规避农药的使用, 减少农药的使用量, 选择使用无害农药, 禁止使用对果树、环境及人畜有害的农药。为此, 应采取加强栽培管理, 增强树势, 提高树体抗病力; 搞好果园和树体卫生; 施用低毒、无毒药剂预防; 及时处理病斑等措施综合运用, 才能收到良好的效果。

1 加强栽培管理

实践经验充分证明, 苹果树腐烂病发生和轻重, 取

决于果树本身对病害的抵御能力。树势健壮, 不发病或发病轻, 治疗容易; 树势衰弱, 则易发病, 且发病重, 治疗难愈。为此, 防止和控制腐烂病的发生为害, 应以加强综合栽培管理, 保证果树健康生长, 保持树体健壮, 从而提高果树自身的抗病力为前提^[1]。

搞好果园土壤管理即合理施肥、多施有机农肥、氮磷钾搭配; 适时灌水、及时排涝, 做到不过旱、不积水, 结果树合理负担, 严格控制结果量, 避免大小年结果。

采用科学的修剪技术, 形成合理的株型, 促进果树健壮生长; 慎用环剥、环割技术, 防止创伤过重。减轻冬剪量, 多行生长季修剪。冬季修剪对剪锯口及时涂抹封剪油、油漆或果树愈合剂^[2], 保护伤口并减少水分散失。

不发病或轻发病, 自然就避免或减少了农药的使用, 从而避免或减少了农药的有害性。

2 搞好果园果树卫生

冬季结合修剪, 清除枯死树、病枝干、枯枝、残桩等

第一作者简介: 王佳军(1953-), 男, 本科, 副研究员, 现从事苹果栽培研究工作。E-mail: wangjiacun1992@163.com

基金项目: 国家现代苹果产业技术体系资助项目(nycytx-09-10); 农业部农业科技跨越计划资助项目(农财发[2008]42号)。

收稿日期: 2010-04-06

Culture Medium Filtrated of Grown Seeding Direct in Tissue Culture of Different Explants to *Lonicera japonica* var. *Chinensis*

WANG Wen-jing¹, ZHANG Bao-xian², WANG Peng¹

(1. Department of Biological Engineering, Zhengzhou Animal Husbandry Engineering College, Zhengzhou, Henan 450011; 2. Hualan Biological Engineering Limited Company, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: Using the terminal bud, taking young stem and leaf of *Lonicera japonica* var. *chinensis* as experimental material, through the integrated analytic ways to culture seeding in form target, culture medium filtrated of fully grown seeding direct of three different explants to *Lonicera japonica* var. *chinensis* under the culture condition of imitating nature climate. The results showed that terminal bud was the best explant, the better explant was leaf and young stem. The best adaptive culture medium to terminal bud MS+1.0 mg/L KT+1.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L α-NAA+30 g/L sucrose+8 g/L agar+0.3% activated carbon, pH 6.0; the best adaptive culture medium to young stem; MS+1.0 mg/L KT+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L α-NAA+30 g/L sucrose+8 g/L agar+0.3% activated carbon, pH 6.0; the best adaptive culture medium to leaf; MS+1.0 mg/L KT+1.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L α-NAA+30 g/L sucrose+8 g/L agar+0.3% activated carbon, pH 6.0.

Key words: *Lonicera japonica* var. *chinensis*; explant; tissue culture; culture medium