

台尔曼忍冬组织培养技术工厂化繁育研究

张慧洁¹, 王立英^{1,2}, 袁婷¹, 孙慧慧¹

(1. 北京森森种业有限公司, 北京 102211; 2. 宁夏森森种业生物工程有限公司, 宁夏 银川 750004)

摘要:以台尔曼忍冬为试材进行组织培养工厂化繁育。结果表明:台尔曼忍冬适宜的分化培养基配方为 MS+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA+100 mg/L 水解乳蛋白, 分化系数为 3.2; 筛选出适宜的生根培养基配方为 1/2MS+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA, 生根率 92%; 练苗 5~7 d 后, 在草炭:蛭石:珍珠岩=2:1:1 的基质中移栽, 成活率 90%; 大田定植成活率为 95%。该研究建立了台尔曼忍冬组织培养技术工厂化繁育体系, 达到了高效快速, 且再生繁育体系稳定性好, 可为今后的台尔曼忍冬组织培养繁殖技术提供参考。

关键词:台尔曼忍冬; 分化系数; 移栽成活率

中图分类号:S 687.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)08-0131-03

台尔曼忍冬(*Lonicera × tellmanniana* Spaeth)为忍冬科忍冬属攀援落叶藤本, 原产北美, 是盘叶忍冬和贯叶忍冬杂交种, 具有生长蔓延快、抗寒性极强、花期长、无病虫害、繁殖容易等特点^[1]。它花色艳丽, 秀丽多姿, 花期特长, 株形可塑性强, 自然株形枝条呈伞骨状辐射延伸, 对空间的填补完善有特殊功能, 可植于篱垣或花架旁, 使之攀援, 既能美化环境又能净化空气, 对二氧化硫有较强的抗性, 是优良的垂直绿化新材料^[2]。基于台尔曼忍冬的优良特性, 在北京市科委“节水耐旱特色园林观赏植物组培关键技术研究”项目资助下, 突破了台尔曼忍冬的组织培养工厂化繁育技术, 以实现节水耐旱园林观赏植物组培快繁技术的产业化开发生产。

1 材料与方法

1.1 试验材料

宁夏林业研究所股份有限公司种苗生物工程国家重点实验室组培中心试管苗。

1.2 试验方法

1.2.1 培养条件 分化培养基为 MS+(0.6、0.8、1.0) mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA+(0、100) mg/L 水解乳蛋白, 生根培养基为 1/2MS+0.6 mg/L 6-BA+(0.1、0.15) mg/L NAA+(0、0.1) mg/L 根皮苷。培养温度为(25±2)℃, 光照时间为 12 h/d, 光照强度为 1 600 lx。

第一作者简介:张慧洁(1984-), 女, 河南太康人, 本科, 研究方向为植物组培技术。

责任作者:王立英(1959-), 女, 山西阳高人, 高级工程师, 现从事优新植物品种开发研究工作。E-mail: wangliying@senmiao.com。

基金项目:北京市科技计划资助项目(Z101105002510005)。

收稿日期:2012-02-20

1.2.2 分化培养 选取生长状态良好、无污染的试管苗。每 2 个节结剪段, 接种到培养基上, 每瓶接种 6 株。观察其生长、增殖培养。

1.2.3 生根培养 选取生长健壮的分化苗, 取植株 2/3 以上部位, 每 3 个结节剪段, 接种于生根培养基, 15 d 后统计生根率。

1.2.4 练苗移栽 将台尔曼忍冬生根苗置于练苗床, 练苗 5~6 d 后, 移栽前准备好基质(表 3), 并用多菌灵对其进行消毒; 移栽时, 将根部培养基清洗干净; 移栽后环境温度控制在 22~26℃, 前期做遮光处理。搭建拱棚, 湿度保持在 90%左右。

1.2.5 大田定植 移栽苗在温室管护 40 d 后, 成活率达 90%, 定植于大田, 观察其生长情况。

2 结果与分析

2.1 分化培养基筛选

由表 1 可知, 试管苗在继代转接过程中, 逐渐降低激素含量, 植株生长健壮。配方①和②虽生长快、分化系数高, 但试管苗细弱, 生根苗移栽成活率低。配方③加入浓度为 100 mg/L 的水解乳蛋白促进生长、并复壮, 且水解乳蛋白成本低, 适用于批量生产。配方③和④相比, 配方③虽分化系数高于配方④, 但配方④试管苗生长更健壮, 生根苗移栽成活率高。所以, 选择配方④为最佳分化培养基。

2.2 生根培养基筛选

由表 2 可知, 配方②和配方③相比, 配方②生根率较高, 根表现较好。配方②中虽然加入根皮苷生根率略高, 生根周期也短于配方①, 但根皮苷成本高, 不适宜产业化批量生产繁殖, 故选择配方①。

2.3 练苗移栽与大田定植

通过移栽基质配比试验发现,草炭比例大的基质配方,在高温高湿的环境中植株的根、茎、叶容易发霉、腐烂,影响成活率。由表3可知,配方①通透性好、根成团性好,移栽成活率高。因此批量产业化生产过程中,采用配方①。试管苗移栽1周左右,生新根,移栽苗15~

20 d,移栽苗生根成活率90%。经40 d正常管理,苗高20 cm,植株8~9个节结,直接定植大田,定植成活率为95%。大田定植过程:先深翻平整地,使用多菌灵和辛硫磷对土壤进行杀菌、杀虫处理,定植密度为30 cm×40 cm,浇透水,苗期正常管护。

表1 分化培养基激素浓度调节过程

序号	培养基配方	调查株数	分化系数	生长周期/d	生长状况
①	MS+1.0 6-BA+0.1 NAA	300	4.0	30	分化系数高,但苗细弱
②	MS+0.8 6-BA+0.1 NAA	300	3.5	30	分化系数较高,苗较弱
③	MS+0.8 6-BA+0.1 NAA+100 mg/L 水解乳蛋白	300	3.7	30	分化系数较高,苗健壮
④	MS+0.6 6-BA+0.1 NAA+100 mg/L 水解乳蛋白	300	3.2	30	分化系数较高,苗更健壮

表2 生根培养基对比试验

序号	生根培养基配方	调查株数	生根率/%	生根周期/d	平均生根数/条	植株生长情况
①	1/2MS+0.6 IBA+0.1 NAA	300	92	10~15	3.5	苗壮,下部叶片出现叶黄现象
②	1/2MS+0.6 IBA+0.1 NAA+0.1 mg/L 根皮苷	300	93	10~14	4.0	苗壮,下部叶片出现叶黄现象
③	1/2MS+0.6 IBA+0.15 NAA+0.1 mg/L 根皮苷	300	90	10~14	3.0	根较脆,下部叶片出现叶黄现象

表3 移栽基质配比试验

序号	基质配方	调查盘数(50穴)	成活率/%	成活时间/d	植株生长表现
①	草炭:蛭石:珍珠岩=2:1:1	30	90	8~14	苗壮,叶色墨绿,约1周后长出新叶
②	草炭:蛭石:珍珠岩=3:1:1	30	85	8~14	易发生植株发霉、腐烂,约1周后长出新叶



图1 台尔曼忍冬分化苗接种
15 d后生长情况

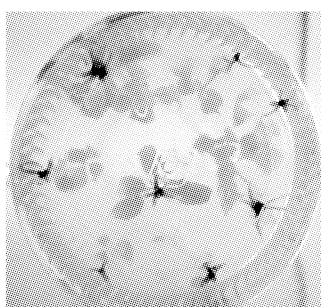


图2 台尔曼忍冬生根苗接种
12 d后生根情况



图3 台尔曼忍冬移栽穴盘苗
20 d后生长情况

3 讨论与结论

该试验对台尔曼忍冬进行组织培养技术研究,台尔曼忍冬在MS+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA+100 mg/L水解乳蛋白分化培养基条件下,培养周期30 d,分化系数达3.2;在1/2MS+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA生根培养基条件下,生根率达到92%;练苗5~7 d后,在草炭:蛭石:珍珠岩=2:1:1的基质中移栽成活率为90%;大田定植成活率为95%。

该研究结合“节水耐旱特色园林观赏植物组培关键技术研究”项目研究任务,开展的节水耐旱园林观赏植物的组培工厂化繁育技术研究,建立了节水耐旱园林观赏植物组培快繁技术体系。在2010年2月至2011年12月项目执行期间,通过组培工厂化快繁技术研究,达到年产50万株的生产能力,其中台尔曼忍冬繁殖10万株,

为产业开发及规模化生产,提供基础苗量,以缩短生产周期,扩大生产量,满足产业规模开发的需求,为节水耐旱特色园林观赏植物的规模、商品、标准的工厂化生产奠定基础,为今后台尔曼忍冬的组织培养繁殖技术应用研究提供参考。

台尔曼忍冬组织培养工厂化快速繁育,实现了耐旱园林植物在北京规模化生产,并为优新品种示范提供苗源,建立起以企业为主体的园林耐旱植物研发中心,实现了科技成果转化形成产业化生产的新型模式。

参考文献

- [1] 谷淑芬,李长海,张旭东. 台尔曼忍冬引种与繁殖技术[J]. 林业科技, 1999, 24(1): 5-6.
- [2] 王海洪. 西宁地区台尔曼忍冬扦插育苗技术[J]. 中国园艺文摘, 2010(1): 90.

转 *il-4* 基因甘蓝后代的遗传及表现分析

张 玮 滢, 于 丽 杰

(黑龙江省普通高等学校植物生物学重点实验室, 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150025)

摘 要:利用农杆菌介导法将 *il-4* 基因转入甘蓝品种“中甘 11”, 用已转化得到的 T_3 、 T_4 代甘蓝品种为试验材料, 通过 PCR 扩增、PCR-Southern 杂交、蛋白质浓度测定和 ELISA 技术, 对 *il-4* 基因转化甘蓝的后代进行了检测, 并对 *il-4* 基因在 T_3 、 T_4 代甘蓝中的传递规律以及后代甘蓝植株的田间表现进行了调查。结果表明: T_3 、 T_4 代转 *il-4* 基因甘蓝阳性植株数较少, 甘蓝中 *il-4* 基因出现性状分离。同时, 田间调查表明, 相对于对照组(非转基因)植株, 转 *il-4* 基因阳性植株的田间抗病性下降, 植株高度降低, 结实率降低, 单株结籽数减少, 生长势等农艺性状降低。

关键词:甘蓝; 白细胞介素-4; 分子检测; 田间分析

中图分类号:S 635. 603. 6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)08-0133-05

甘蓝(*Brassica oleracea*)为十字花科芸薹属 2 a 生植物, 又名结球甘蓝, 在世界各地广泛种植, 具有重要的经济和实用价值。近年来, 随着转基因植物不断深入的研究, 通过农杆菌介导的遗传转化已经取得了一定的进展^[1]。白细胞介素-4(Interleukin, IL-4)是由 T 辅助细胞产生的具有多种生物学功能的一种淋巴因子, 在 20 世纪初被发现, 1986 年其基因克隆成功, 国际上统一命名

为白细胞介素-4。IL-4 功能复杂, 用途广泛, 大小约为 15 kD。IL-4 的主要功能在于抑制细胞免疫, 增强 B 细胞对 T 细胞的相符作用, 促进体液免疫应答, 特别是促进 Ig-E 反应, 增强特异性和非特异性的杀伤功能^[2-3]。同时, 在过敏性和感染性及自身免疫性疾病、肿瘤等方面, IL-4 都具有重要的医疗价值^[4]。

黑龙江省普通高等学校植物生物学重点实验室利用根癌农杆菌介导法将白细胞介素-4 基因转入甘蓝, 对其自交后代 T_3 、 T_4 代植株进行分子生物学检测及遗传表达研究, 为利用甘蓝作为生物反应器生产药用蛋白 IL-4 提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

受体品种为“中甘 11”, 其种子来源为中国农业科学院蔬菜花卉研究所。利用根癌农杆菌介导的携带 *il-4*

第一作者简介:张玮滢(1986-), 女, 在读硕士, 现主要从事植物分子生物学研究工作。E-mail: zhangweiying860411@163. com。

责任作者:于丽杰(1961-), 女, 博士, 教授, 现主要从事分子生物学研究工作。E-mail: yulijie1961@126. com。

基金项目:黑龙江省普通高等学校骨干教师创新能力资助项目; 黑龙江省自然科学基金资助项目(C0014); 哈尔滨市学科后备带头人基金资助项目(0071007002)。

收稿日期:2011-12-23

Research on Factory Breeding Tissue Culture Technology of *Lonicera* × *tellmanniana* Spaeth

ZHANG Hui-jie¹, WANG Li-ying^{1,2}, YUAN Ting¹, SUN Hui-hui¹

(1. Beijing Senmiao (Ocean Green) Seedling Limited Company, Beijing 102211; 2. Ningxia Senmiao (Ocean Green) Biological Engineering Limited Company, Yinchuan, Ningxia 750004)

Abstract: With *Lonicera* × *tellmanniana* Spaeth as test material, factory breeding tissue culture technology were studied. The results showed that appropriate differentiation medium of *Lonicera* × *tellmanniana* Spaeth was MS+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA+100 mg/L hydrolyzed milk protein the coefficient of differentiation was 3.2; the best formula for the rooting medium was 1/2MS+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA, the rate of rooting was 92%; after acclimatized for 5~7 d, the rate of survival was 90%, when the regeneration plantlets were transplanted to substrate containing peat : vermiculite : perlite (2 : 1 : 1). The industrialization breed rate by tissue culture technology of *Lonicera* × *tellmanniana* Spaeth established through this study was rapid, the stability of regeneration system was well, could provide reference for the future tissue culture propagation technology of the *Lonicera* × *tellmanniana* Spaeth.

Key words: *Lonicera* × *tellmanniana* Spaeth; coefficient of differentiation; survival rate of transplanting