

连翘茎尖培养与快速繁殖研究

梁 美 霞

(青岛农业大学 园林园艺学院, 山东 青岛 266109)

摘 要:以连翘茎尖为外植体,接种到不同植物生长调节剂配比的培养基上,观察连翘茎尖在不同培养基上的生长情况。结果表明:连翘茎尖初代培养的最佳培养基是 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。增殖培养的最佳培养基是 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,增殖系数达 5.0;生根培养基是 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L,生根率达 93.3%,平均每株苗生根数 6.13 条;连翘茎尖从接种到生根 1 个周期为 45 d。

关键词:连翘;茎尖;快繁

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)18-0139-03

连翘(*Forsythia suspensa* Vahl)属木犀科连翘属落叶灌木,别名青翘,黄金条。其具有良好的水土保持功能、观赏价值和药用价值,是黄土高原防止水土流失的最佳经济植物^[1],也是国家推荐的退耕还林优良生态树种^[2-3]。近年来,由于毁林开荒使连翘种植面积急剧减少,导致连翘资源紧缺。连翘常规繁殖方法一般有扦插、播种、压条、分株等。常规的繁殖方法时间长,繁殖系数低。而通过植物茎尖进行组织培养建立的快繁体系已广泛应用于许多园艺植物^[4-6]。因此,该试验以连翘茎尖为外植体,将其接种在不同浓度的植物生长调节

物质组合的培养基上,试图建立连翘的茎尖快繁体系,以达到快速和大量繁殖连翘的目的。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材自取春季刚萌发的连翘新梢顶部的嫩茎尖为外植体。

1.2 试验方法

春季生长季节,取刚萌动的连翘新梢顶端,用自来水冲洗干净后,除去较大的叶片,用刀片切取连翘茎尖。在超净工作台上用 75% 的酒精消毒 30 s,无菌水冲洗 1 遍,再用 0.1% 的升汞灭菌 7 min,然后用无菌水冲洗 3 次。将消毒过的连翘茎尖放在解剖镜下,切取连翘茎尖(图 1-A),将其接种在 MS 附加不同浓度的 6-BA 和 NAA 培养基上进行茎尖培养。

作者简介:梁美霞(1970-),女,山东莱阳人,博士,副教授,现主要从事园艺植物组织培养和果树生物技术育种研究工作。E-mail: meixialiang@yahoo.com.cn。

收稿日期:2012-06-19

Study on Cryopreservation of *Lilium tsingtauense* Gilg Encapsulation-Vitrification Method

WANG Jin-lu, QIAN Tai-lin, ZHAO Mei-ai

(Qingdao Key Lab of Germplasm Innovation and Application of Major Crops, College of Life Science, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Taking shoot tips(2~3 mm) of *Lilium tsingtauense* Gilg, from 28 days cold-hardened bulblets at 4℃ as materials, effects of different explants, sucrose concentration of pre-culture, duration of pre-culture, different encapsulation pretreatment, duration of treatment with PVS2 were studied. The results showed that the most appropriate sucrose concentration was 0.4 mol/L during pre-incubation and the best pre-culture time was 3 d. Shoot-tips were encapsulated in 3% sodium alginate including 0.4 mol/L sucrose and 2 mol/L glycerol after pre-incubation, and PVS2 for 60 min at 0℃, plunged directly into liquid nitrogen for 1 h, then thawed for 2 min at 38℃ and washed. At last, the shoot tips were cultured on recovery medium. The highest survival rate was 67.5 % with TTC staining method.

Key words: *Lilium tsingtauense* Gilg; shoot tips; encapsulation-vitrification; cryopreservation

连翘茎尖在培养基上形成丛生芽后,当丛生芽苗高达到3 cm时,将丛生芽分开并切成1 cm大小的茎段,分别转入同样的培养基上进行增殖培养,统计增殖系数。增殖系数=增殖后苗数(株)/增殖前苗数(株)。选取生长健壮连翘芽,在丛生芽基部切取株高3 cm的单芽,将其转入生根培养基上诱导生根,统计生根率。生根率=(生根苗数/生根培养基上总苗数)×100%。

初代培养和增殖培养的培养基为:(1)MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;(2)MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;(3)MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;(4)MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。生根培养基为:1/2MS+NAA 0.2 mg/L和1/2MS+NAA 0.5 mg/L。以上培养基中蔗糖浓度均为3%,琼脂浓度均为0.8%,pH值为5.8。培养条件:培养温度(26±2)℃,每天光照12~14 h,光照强度1 500~2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对连翘茎尖生长成苗的影响

将连翘茎尖接种到MS附加不同浓度6-BA和NAA的培养基上,15 d后观察连翘茎尖的生长状态。由表1可知,在MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L培养基上,茎尖生长健壮,茎的伸长明显,成苗率最高,为86.7%。在MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基上,连翘茎尖生长状态最差,成苗率仅为56.7%,茎尖生长矮小,茎节间短,叶片小且颜色略微发黄。因

此,进行连翘茎尖初代培养时的最佳培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

2.2 不同培养基对连翘丛生芽诱导和增殖系数的影响

无菌茎尖在诱导培养基上生长15 d后,将其继代于增殖培养基上进行培养(表2)。由表2可知,继代15 d后,在连翘茎尖基部形成少量愈伤组织,基部逐渐分化出丛生芽,丛生芽苗生长到3 cm左右(图1-B)。将丛生芽分开并切成1 cm左右小段转入同样的增殖培养基上继续培养,在MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基上,诱导的丛生芽数量多,每个丛生芽基部均生长出4~5个丛生芽,丛生芽生长健壮,叶片颜色浓绿有光泽,叶色正常,茎较粗壮,节间较长,植株平均苗高5 cm,增殖系数达到最高,为5.0。而在其它3种培养基上诱导的丛生芽质量相对较差,特别是在MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L培养基上,诱导的丛生芽数量少,叶片较小且边缘卷曲皱缩,整个植株矮小,增殖系数仅为2.9。由此可见,连翘丛生芽诱导和增殖效果最好的培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

2.3 不同培养基对连翘生根的影响

连翘芽生长到3 cm左右时,将其移栽到生根培养基上诱导生根,不同培养基上的生根情况见表3。在MS+NAA 0.2 mg/L培养基上,生根率达到93.3%,平均每株苗生根数6.13条,根较长,根的分布呈现辐射状(图1-D)。因此,连翘生根的最佳培养基为1/2 MS+NAA 0.2 mg/L。

表1 不同培养基对连翘茎尖生长的影响

Table 1 Effect of different medium on shoot tips growth of *Forsythia suspensa*

培养基 Medium	接种数 Number of inoculated/个	成苗数 Number of survival/个	成苗率 Survival rate/%	平均苗高 /cm
MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	30	17	56.7	1.5
MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	30	19	70.0	2.0
MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	30	23	76.7	1.8
MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	30	26	86.7	2.7

表2 不同培养基对连翘增殖系数的影响

Table 2 Effect of different medium on proliferation coefficient of *Forsythia suspensa*

培养基 Medium	接种数 Number of inoculated/个	增殖芽数 Number of multiplied buds/个	增殖系数 Reproduction index
MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	30	151	5.0
MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	30	120	4.0
MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	30	101	3.4
MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	30	87	2.9

表3 不同培养基对连翘生根的影响

Table 3 Effect of different medium on rooting of *Forsythia suspensa*

培养基 Medium	接种芽数 Number of inoculated/个	生根植株数 Number of rooted plants/个	根数 Number of roots/株	生根率 Rate of roots/%
1/2MS+NAA 0.2 mg/L	30	28	6.1	93.3
1/2MS+NAA 0.5 mg/L	30	24	4.9	80.0

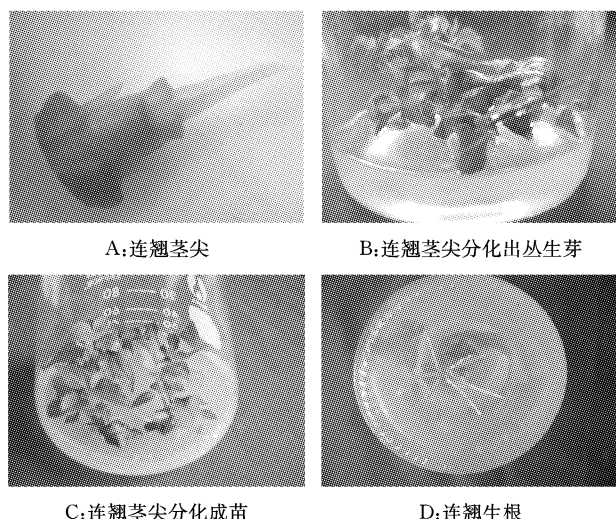


图1 连翘组培各阶段

Fig. 1 Tissue culture stage of *Forsythia suspensa*

3 讨论与结论

选用合适的植物生长调节物质组合和适宜的浓度对植物的茎尖培养和快速繁殖至关重要。该研究发现,连翘茎尖初代培养时,当 6-BA 浓度为 2.0 mg/L,能明显提高茎尖的成苗率,而进行增殖培养时,当 6-BA 浓度为 2.0 mg/L 时,连翘的增殖系数反而明显小于 1.0 mg/L 时的增殖系数。在草莓茎尖培养和快速繁殖过程中,添加不同浓度的 6-BA 能提高增殖系数,但随着细胞分裂素的浓度增加,幼苗的生长慢慢转弱,玻璃化现象越来越严重^[6]。6-BA 浓度过高,草莓形成的芽丛生会停滞,呈莲座状^[7]。草莓茎尖培养中使用的 6-BA 浓度为 0.5 mg/L 时就出现明显的玻璃化现象,而该试验所使用的 6-BA 浓度为 2.0 mg/L 也未出现玻璃化现象,这可能是不同植物内源激素含量的差异造成,也可能是培养环境

的差异造成。连翘茎尖培养时初期,较高浓度的 6-BA 2.0 mg/L 和 NAA 0.2 mg/L 组合能明显提高连翘的成苗率,随着培养时间的延长,进行增殖培养时,低浓度的 6-BA 1.0 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L 组合获得的芽质量好,增殖系数高。这可能是随着培养时间的延长,茎尖吸收了大量的外源生长调节物质有关,也可能与茎尖本身内源激素合成不断积累有关。另外,试验还发现,获得的连翘组培苗生根比较容易,但过高浓度的 NAA 0.5 mg/L 并没有明显提高组培苗的生根率。这也可能是连翘内源生长激素较高的原因,外源高浓度的 NAA 反而抑制了连翘的生根。该研究还表明,连翘茎尖从接种到生根 1 个周期为 45 d,若按 1 a 繁殖 8 次,每个茎尖分化生长至少得到 3 个芽计算,那么每个茎尖 1 a 可繁育 38 个单株,这样可在短期内繁育大量苗木,对于连翘的资源保存和开发利用具有一定的参考意义。

参考文献

- [1] 徐茂杰,王玉庆. 连翘在黄土高原防治水土流失的作用浅析[J]. 中国生态农业学报, 2005(4):194-196.
- [2] 李永生. 太行山石灰岩区连翘水保经济林分模式研究[J]. 山西林业科技, 1996, 6(2):30-33.
- [3] 裴红宾,高凤琴. 连翘在山西立地范围及其开发利用价值[J]. 北方园艺, 2006(2):98-99.
- [4] 阎贤伟. 甜樱桃茎尖培养和快速繁殖研究[J]. 园艺学报, 1990, 17(4):275-280.
- [5] 江洪如,余发新,朱祺,等. 龙牙百合茎尖脱毒快繁及种球培育技术[J]. 江西农业大学学报, 2007, 29(6):953-956.
- [6] 晁慧娟,刘敏,姬谦龙,等. '红颜'草莓茎尖培养与快速繁殖[J]. 北京农学院学报, 2009, 24(4):14-16.
- [7] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M]. 北京:中国农业出版社, 1996: 135-138.

Study on Shoot Tips Culture and Rapid Propagation of *Forsythia suspensa*

LIANG Mei-xia

(College of Landscape and Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: The shoot tips of *Forsythia suspensa* were used as explants and inoculated on different medium with different concentration combination for observing their growth. The results showed that the optimal medium for growth of *Forsythia suspensa* shoot tips was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L at the beginning of the culture. The optimal medium for inducing adventitious buds was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L. The proliferation coefficient was highest to 5.0. The rooting rate reached to 93.3% in medium 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L and the number of the root was 6.13 per regeneration plant at average. It took 45 days for the rooting of *Forsythia suspensa* Vahl from the shoot tip inoculated on the medium.

Key words: *Forsythia suspensa*; shoot tips; rapid propagation