

# 金叶复叶槭嫩枝扦插试验研究

李应华 (河南省濮阳市林业科学研究所, 河南濮阳 457000)

**摘要** [目的]为金叶复叶槭苗木繁育提供科学依据。[方法]在大棚内,用沙壤土、河沙、蛭石、珍珠岩作为基质,用100 mg/kg 萘乙酸、吲哚丁酸、ABT6号处理插穗后进行嫩枝扦插,调查育苗效果。[结果]珍珠岩处理生根率达90.3%,100 mg/kg ABT6号处理生根率达90.0%。[结论]金叶复叶槭嫩枝扦插以珍珠岩为基质、用ABT6号处理插穗效果最好。

**关键词** 金叶复叶槭;激素;基质;嫩枝;扦插

**中图分类号** S723.1\*32.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)29-12595-01

金叶复叶槭是北美复叶槭的栽培变种,为槭树科槭属落叶阔叶乔木,小枝光滑,常被白色蜡粉,羽状复叶对生,叶色轻盈、柔和,生长势非常旺盛,高可达18 m,宜作庭阴树、行道树及园景树,是一种观赏价值高、应用范围广泛的园林观赏植物<sup>[1]</sup>。复叶槭类植物多用种子繁殖,后代变异大,自然状态下植物体本身所具有的优良性状难以表现<sup>[2]</sup>,且金叶复叶槭插穗极易腐烂,大田硬枝扦插不易成活。为加快种苗繁殖,笔者于2007年6~9月开展了金叶复叶槭嫩枝扦插试验<sup>[3]</sup>。

## 1 材料与方法

**1.1 供试材料及设施** 品种:金叶复叶槭;激素:100 mg/kg 萘乙酸、吲哚丁酸、ABT6号,清水对照;基质:河沙、蛭石、珍珠岩,沙壤土对照。试验设施:长30 m、宽8 m遮阴式塑料大棚1座。

## 1.2 方法

### 1.2.1 试验设计。

**1.2.1.1 基质处理扦插试验。**用ABT6号处理插穗,设河沙、蛭石、珍珠岩、沙壤土对照4个基质处理,每处理100株,3次重复。

**1.2.1.2 激素处理扦插试验。**用珍珠岩作基质,设萘乙酸、吲哚丁酸、ABT6号、清水对照4个处理,每处理100株,3次重复。

**1.2.2 插穗剪取和处理。**7月26日,选用当年生半木质化枝条,剪成长约15 cm插穗,上端保留1片叶,叶片剪小,切口平滑,用800倍50%多菌灵溶液消毒5 min,捞出浸入激素溶液中处理10 min。

**1.2.3 扦插及管理。**插穗处理后立即扦插,密度15 cm×15 cm,深度3 cm。扦插后,保湿、杀菌、追肥。根据天气情况喷雾、降温,保持棚内温度15~33℃、相对湿度80%~100%、插穗叶面有1层水膜为宜。

**1.2.4 调查统计。**9月6日调查生根率、愈合率、死亡率及成苗的根幅、生根数。

## 2 结果与分析

**2.1 不同基质对插穗生根性状的影响** 由表1看出:生根率以珍珠岩最高,达90.3%,河沙次之,为78.7%,两者分别比沙壤土高43.3和31.7个百分点,蛭石比沙壤土低8.7个百分点;珍珠岩、河沙处理的愈合率和死亡率分别比对照低

19.3、16.0和24.0、15.7个百分点,蛭石的愈合率比对照低2.6个百分点,死亡率比对照高11.3个百分点;各处理生根苗平均根数差异不明显,但珍珠岩、河沙处理的平均根幅都比对照大大提高,其中珍珠岩基质平均根数最多,平均根幅最大,苗木质量高。

表1 不同基质对插穗生根性状的影响

基质	生根率 %	愈合率 %	死亡率 %	生根苗			
				平均根数 条	最多根数 条	平均根幅 cm	最长根 cm
河沙	78.7	9.3	12.0	4.96	7	7.15	9.80
蛭石	38.3	22.7	39.0	4.52	6	5.30	7.30
珍珠岩	90.3	6.0	3.7	5.28	8	7.25	10.50
沙壤土	47.0	25.3	27.7	5.13	7	5.88	8.20

**2.2 不同激素对插穗生根性状的影响** 由表2看出:生根率为ABT6号90.0%、吲哚丁酸83.3%、萘乙酸81.3%,分别比对照提高82.3、75.6和73.6个百分点;ABT6号、吲哚丁酸、萘乙酸各处理的愈合率和死亡率,分别比对照降低51.3、46.3、46.0和31.0、29.3、27.6个百分点;各处理生根苗平均根数和平均根幅都比对照大大提高,其中ABT6号平均根数最多,平均根幅最大,扦插效果最好。

表2 不同激素对插穗生根性状的影响

激素	生根率 %	愈合率 %	死亡率 %	生根苗			
				平均根数 条	最多根数 条	平均根幅 cm	最长根 cm
萘乙酸	81.3	11.0	7.7	5.22	8	7.12	9.90
ABT6号	90.0	5.7	4.3	5.31	9	7.25	10.40
吲哚丁酸	83.3	10.7	6.0	5.17	8	7.14	10.10
清水对照	7.7	57.0	35.3	1.60	3	3.28	5.30

## 3 结论

(1)河沙、珍珠岩基质能促进金叶复叶槭嫩枝插穗愈合,生根的效果较好,其中珍珠岩基质生根率最高,达90.3%,死亡率最低,为3.7%;且生根苗平均根数达5.28根,平均根幅达7.25 cm,苗木质量最高。

(2)萘乙酸、吲哚丁酸、ABT6号处理均可促进金叶复叶槭嫩枝插穗提早愈合生根,显著提高插穗生根率和生根苗质量,其中100 mg/kg ABT6号生根率高达90.0%,死亡率仅为4.3%,且生根苗平均根数达5.31根,平均根幅达7.25 cm,扦插效果最好。

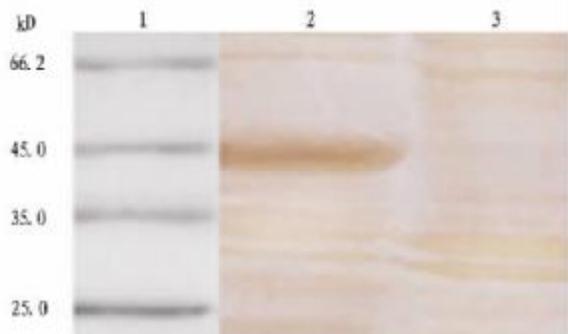
(3)金叶复叶槭插穗不耐水湿,基质含水量过高,插穗易腐烂、死亡,嫩枝扦插以珍珠岩作基质、用100 mg/kg ABT6

**基金项目** 河南省科技厅农业科技成果转化项目。

**作者简介** 李应华(1971-),男,湖南宁远人,工程师,从事苗木快繁及栽培研究。

**收稿日期** 2008-09-04

(下转第12618页)



注:1 为蛋白质标准分子量;2 为 GST-F509 融合蛋白;3 为阴性对照。

Note:1. Protein MW marker;2. GST-F509 fusion protein;3. Negative control.

图 4 GST-F509 融合蛋白 Western Blotting 鉴定

Fig. 4 Identification of GST-F509 fusion protein by Western Blotting

检测鼠多抗的效价,结果表明,抗体的有效稀释度可达 1:102 400。

### 3 结论与讨论

#### 3.1 用谷胱甘肽琼脂糖亲和层析柱纯化 GST-F509 融合蛋白

该研究所采用的谷胱甘肽琼脂糖亲和层析柱,可提高目的蛋白的纯化水平。有研究表明,溶解在 1% Triton-100、1% Tween-20、10 mmol/L DTT 或 0.03% SDS 中 GST 融合蛋白包涵体,通过亲和层析得到很好的纯化结果。如果不能溶解在上述试剂中,则需按常规方法提取包涵体,复性后再进行亲和层析<sup>[14]</sup>。由于鸡新城疫病毒 F 基因片段重组蛋白不溶于上述试剂,因此只能按常规方法变性溶解包涵体,复性后再进行亲和层析。到目前为止,研究报道从包涵体中亲和层析得到纯度较高的目的蛋白不多。影响产量和纯度的因素主要有融合蛋白复性率及洗脱效率,一般融合蛋白复性率不超过 20%,所以复性后的蛋白溶液中能与谷胱甘肽琼脂糖凝胶结合的蛋白量就很低。笔者采用 Batch 法对 GST-F509 融合蛋白进行纯化,并试图通过改变复性后融合蛋白与谷胱甘肽琼脂糖凝胶结合的时间,来提高蛋白的结合率。结果不是很理想,SDS-PAGE 电泳显示用洗脱缓冲液从柱子上洗脱下来的目的蛋白,出现一条很弱的非目的蛋白带,可能与洗脱过程中蛋白降解有关。但纯化出的蛋白完全可以满足后续常规试验,如 ELISA 多抗制备、免疫荧光等的需要。

#### 3.2 GST-F509 的免疫原性

琼脂扩散试验和间接 ELISA 的试验结果表明用 GST-F509 免疫小鼠所制备的多克隆抗体,具有较高的效价。而 Western-blotting 结果表明,融合蛋白中的 F509 多肽与鼠源 NDV 抗体也具有良好的反应性。所以,可以推断融合蛋白 GST-F509 中的 F 蛋白多肽,仍然维持其抗原表位的结构。

#### 参考文献

- [1] ALEXANDER D J. Newcastle disease[J]. Br Poult Sci,2001,42(1):5-22.
- [2] MAYO M A. A summary of taxonomic change recently approved by ICTV Arch [J]. Virol,2002,8:1655-1656.
- [3] ROMER-OBERDORFER A, VEITS J, WERNER O, et al. Enhancement of pathogenicity of Newcastle disease virus by alteration of specific amino acid residues in the surface glycoproteins F and HN[J]. Avian Dis,2006,50(2):259-63.
- [4] SEAL B S, KING D J, SELLERS H S, et al. The avian response to Newcastle disease virus [J]. Dev Comp Immunol,2000,24(2/3):257-268.
- [5] COREY E A, MIRZA A M, LEVANDOWSKY E, et al. Fusion deficiency induced by mutations at the dimer interface in the Newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase is due to a temperature-dependent defect in receptor binding [J]. Virol,2003,77:6913-6922.
- [6] COLLIN M S, BASHIRUDDIN J B, ALEXANDER D J. Deduced acid sequences at the pathogenicity fusion protein cleavage site of Newcastle disease virus showing variation in antigenicity and Arch [J]. Virol,1993,128:363-370.
- [7] YUSOFF K, NESBIT M, MCCARNEY H. Location of Neutralizing epitopes on the fusion proteins of Newcastle disease virus strain Beaudette C [J]. J Gen Virol,1989,70:3105-3109.
- [8] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 2版. 北京:科学出版社,1997.
- [9] 许芝芝,仲大莲,余为一. 新城疫病毒(NDV)F 基因的克隆及其真核表达重组质粒的构建[J]. 安徽农业大学学报,2003,30(3):280-284.
- [10] 王静,余为一,李林,等. 小鼠 CD19 基因部分片段的克隆及其鉴定[J]. 安徽农业科学,2007,35(25):7849,7868.
- [11] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂,等,译. 3版. 北京:科学出版社,2002.
- [12] 刘成宏,金扩世,金宁一,等. 新城疫强毒株 F 蛋白裂解位点串联基因的构建及其原核表达[J]. 中国生物制品学杂志,2007,20(2):73-76.
- [13] 徐志本,余为一,李林,等. 鸡 MHCII $\beta$  链基因的克隆和表达及其抗体制备[J]. 安徽农业大学学报,2006,33(1):51-55.
- [14] SMITH D B, JOHNSON K S. Single-Step purification of polypeptides expressed in *Escherichia coli* as fusions with glutathione S-transferase [J]. Gene,1988,67:31-40.
- [15] 王三虎,李杰,王选年,等. 新城疫病毒 HN 蛋白结构及其生物学活性研究进展[J]. 安徽农业科学,2006,34(23):6213-6214,6219.
- [16] 沈咏舟. 新城疫病毒的进化与基因分型[J]. 安徽农业科学,2006,34(20):5218,5241.
- [17] 沈咏舟,潘鑫,郑新勇. 猪源性新城疫病毒的分离与鉴定[J]. 安徽农业科学,2006,34(19):4941.
- [18] 刘华,涂健,祁克宗,等. 鸡新城疫首次免疫采用饮水法的可行性研究[J]. 安徽农业科学,2006,34(16):3999-4000.
- [19] 胡北侠,黄艳艳,路希山,等. 免疫程序对肉鸡新城疫·禽流感(H5 亚型) HI 抗体消长规律的影响[J]. 安徽农业科学,2006,34(9):3704-3705.

(上接第 12595 页)

号处理插穗,插穗愈合生根早、腐烂少、生根率高,且生根苗平均根数最多,平均根幅最大,育苗效果最好。

#### 参考文献

- [1] 章建红,李修鹏,李玉祥,等. 花叶复叶槭引种栽培试验[J]. 林业科技

开发,2007,21(2):81-83.

- [2] 王孟立,王刚. 复叶槭栽培技术[J]. 科技信息:学术版,2007(23):339.
- [3] 杨合廷,李应华,王长根,等. 转双抗虫基因 741 杨嫩枝单芽扦插快速繁殖技术研究[J]. 林业实用技术,2004(5):9-10.