

沙漠乔桑离体快繁与试管苗生根基质的研究

石文山

(滨州职业学院 山东 滨州 256624)

摘要:用常规组织培养方法对沙漠乔桑待萌发冬芽、萌发侧芽进行外植体消毒,以 MS (Murashige 和 Skoog, 1962) 作基本培养基, 添加不同质量浓度的 BA(6-苄基腺嘌呤)、NAA(萘乙酸), 配制不同激素组合的培养基, 筛选出最适宜的诱导、增殖和生根培养基配方。然后, 以蛭石代替琼脂设计生根培养基、加糖与不加糖、灭菌与不灭菌等不同的培养方案, 进行试管苗扦插生根的试验研究。研究结果表明: 最适宜的桑芽诱导萌发的培养基为 MS+1.0 mg/L BA+0.1 mg/L NAA; 快速繁殖的培养基为 MS+0.5 mg/L BA+0.05 mg/L NAA; 试管苗的生根培养基可以用蛭石代替琼脂, 不加糖、不灭菌, 添加 0.2 mg/L 的 NAA, 试管苗的生根与琼脂培养基没有差别, 且能提高移栽成活率、降低成本。研究结果可为沙漠乔桑的工厂化生产提供借鉴。

关键词: 沙漠乔桑; 离体培养; 蛭石; 扦插

中图分类号: Q 943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)08-0191-03

沙漠乔桑是人工选择与杂交而培育出的最新抗逆性桑树优良品种, 具有生长快、耐盐碱、耐瘠薄、耐风沙、抗干旱、抗寒、抗高温等特性, 既能用于畜牧、养殖、酒水饮料加工、入药、造纸、蓄积木材, 又能防风固沙、绿化保土。因而, 作为一种生态建设和绿化经济树种具有良好的开发前景^[1,2]。自 2002 年开始, 以沙漠乔桑的冬芽、萌发芽为外植体进行了组织培养研究, 初步探索出了一套沙漠乔桑的离体快速繁殖体系。在试管苗的生根阶段为了减少成本、提高移栽成活率, 进行了利用蛭石代替琼脂扦插生根的试验研究, 获得了较为理想的效果, 为沙漠乔桑的工厂化生产奠定了基础。

1 材料与方

以沙漠乔桑待萌发冬芽、萌发侧芽作外植体。选长势良好、生长健壮、无病虫害的 1 a 生枝条, 春天 3~4 月份未萌发前切取待萌发冬芽, 5~6 月份切取萌发的侧芽, 置烧杯中用自来水冲洗 30 min, 取出后在超净工作台上用 70% 的酒精进行表面消毒 10 s, 再用 0.15% 升汞消毒 10 min(萌发侧芽 5 min), 无菌水冲洗 5~8 次^[3]。冬芽剥去鳞叶和外层几片较大幼叶, 萌发侧芽剥去外层小叶^[4], 接种于诱导培养基上, 筛选出最佳诱导培养基。苗高 2 cm 左右时转接到不同的增殖培养基上进行快速繁殖的筛选, 苗高 4 cm 时进行生根培养, 以琼脂作生根培养基筛选出最佳组合。然后采用蛭石为生根培养基

质, 分别以加糖与不加糖、灭菌与不灭菌, 以及琼脂为对照(加糖与灭菌), 设立不同的生根培养方案。按每瓶装 30~50 mL 干燥蛭石算, 用营养液浸透干燥蛭石, 计算营养液用量, 然后用较大的瓶盖或小塑料瓶制作一个装营养液的容器, 仔细调整大小, 使一次用制作好的容器盛装的营养液正好浸透培养瓶里面的蛭石, 作为生根培养基(图 1)。操作过程不必在超净工作台上进行, 可选择在干净的室内粗放接种。根长达 0.5 cm 时进行驯化移栽。

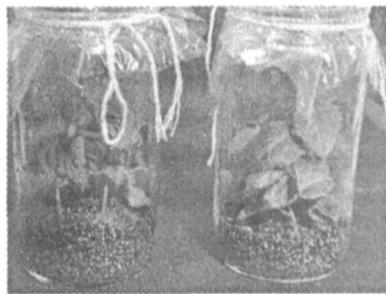


图 1 蛭石培养基中的试管苗

以 MS 作为基本培养基 附加 20% 的市售葡萄糖 0.55% 的琼脂, 在此基础上添加不同浓度的 BA(6-苄基腺嘌呤)、NAA(萘乙酸)等。用 1N 的盐酸或氢氧化钠调节 pH 值至 5.7。培养室温度设定为 25~27℃, 光照强度 3 000 Lx, 每天光照 13 h。培养瓶要求透气性好, 用耐高温聚丙烯作封口膜。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合培养条件对桑芽萌发的影响

沙漠乔桑冬芽和萌发侧芽的诱导出芽所需的培养

作者简介: 石文山(1963-), 男, 硕士, 副教授, 滨州职业学院生物工程系实验实训办主任, 主要从事植物生理与植物组织培养的教学科研工作。E-mail: wenshanshi88@yahoo.com.cn.

收稿日期: 2007-03-29

基基本一致, 接种 1 周后侧芽萌发、叶片膨胀约一倍。3~5 周侧芽伸长达 1.5 cm, 其中以培养基 MS+1.0 mg/L BA+0.1 mg/L NAA 表现最好(表 1)。

表 1 不同激素组合培养条件对桑芽萌发的影响

BA/mg·L ⁻¹	IAA/mg·L ⁻¹	接种芽数	出芽数	出芽率/%
0.5	-	50	41	82
0.5	0.2	50	44	88
1.0	-	50	40	80
1.0	0.1	50	46	92
1.5	-	50	37	74
2.0	-	50	31	62
2.0	0.2	50	39	78
5.0	0.2	50	30	60

注: 表中数据为 50 d 的统计结果。

2.2 不同激素组合培养条件对桑芽增殖的影响

萌发后的桑芽不断伸长, 并且出现数量不一的分枝, 分切成单芽茎段接种于增殖培养基中, 3~4 周桑芽长高并且又出现侧枝, 每 3~4 周为一个继代周期, 其中以 MS+0.5 mg/L BA+0.05 mg/L NAA 培养基上的桑芽表现最好, 愈伤少、侧枝多、苗高, 增殖倍数在 3 周后即达 4.25 倍, 比较适宜于沙漠乔桑的增殖培养(表 2)。

表 2 不同激素组合培养条件对桑芽增殖的影响

BA/mg·L ⁻¹	IAA/mg·L ⁻¹	苗高/cm	增殖倍数	长势
0.2	-	4.3	2.75	侧枝少
0.5	-	3.9	3.75	侧枝较多
0.5	0.05	5.5	4.25	侧枝多、愈伤很少
0.5	0.2	4	3.80	侧枝较少、愈伤多
1.0	-	4.8	3.10	侧枝少、愈伤少、根多
1.0	0.1	3.8	3.45	侧枝较少、愈伤多
1.0	0.2	3.3	3.25	侧枝较少、愈伤多
1.0	0.4	3.5	2.95	侧枝较少、愈伤多
5.0	0.2	3.6	2.5	侧枝较少、愈伤多

注: 表中数据为接种 19 d 的统计结果。

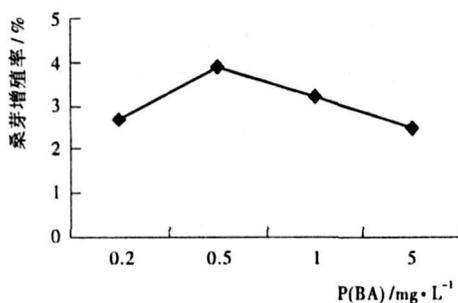


图 2 BA 浓度对试管苗增殖率的影响

通过正交试验得出沙漠乔桑的芽增殖培养适宜 BA 质量浓度在 0.5~1.0 mg/L 之间, 进一步缩小范围(表 2)的试验结果显示, 当 BA 浓度为 0.5 mg/L 时, 桑芽的增殖率最高, 试管苗长势好; 而 BA 浓度继续增加, 增殖率却有下降的趋势(图 2)。

2.3 不同激素组合培养条件对桑芽生根的影响

将高 4 cm 左右的桑芽接种于表 3 所述的生根培养基(以琼脂作生根基质)中, 10 d 左右开始发根, 2 周时根长达 0.5~1.0 cm 即可出瓶移植, 以 1/2 MS+0.2 mg/L NAA 培养基的生根数和生根率最高(见表 3)。

表 3 不同激素组合培养条件对桑芽生根的影响

NAA/mg·L ⁻¹	平均根数/条	根长/cm	生根率/%
0.1	4	3.5	94
0.2	4.5	3.9	98
0.5	3.4	3.4	95
1.0	3.2	3.2	93

注: 表中数据为接种 21 d 的统计结果。

2.4 培养基中糖的含量对生根的影响



图 3 接种 15 d 的生根苗

以蛭石为基质与琼脂比较, 试管苗产生的根较细、柔韧不易断, 具有大量根毛(图 3)。加糖的比不加糖的根较多, 且短、侧根多, 二者叶色无明显差异, 颜色都是深绿色。琼脂培养基中产生的根较粗、无根毛、脆、容易断(图 4, 表 4)。



图 4 琼脂培养基中的试管苗

表 4 培养基中糖的含量对生根的影响

基质	葡萄糖/mg·L ⁻¹	生根时间/d	生根数/条	根长/cm	根粗/mm	长势
蛭石	20	10	2.8	2.6	0.8	有明显根毛、柔韧、叶色深绿。
蛭石	0	11	2.6	2.7	0.7	有大量根毛、柔韧、叶色深绿。
琼脂	20	8	3.4	2.3	1.1	基本无根毛、脆、叶色黄绿。

注: 表中数据为接种 18 d 的统计结果。

2.5 培养基灭菌与否对生根的影响

试验结果表明, 培养基灭菌与否对生根没有明显的影响, 不管用哪种生根培养基, 培养瓶都用较薄的耐高温聚丙烯薄膜封口。蛭石是高温膨化的建筑材料, 基本属于无菌状态, 因此, 培养基灭菌与否对试管苗的生长基本没有影响。

2.6 不同生根基质对移栽成活率的影响

试验结果显示, 以蛭石作生根基质的乔桑试管苗, 移栽简便, 省去洗苗子的繁琐过程, 从培养瓶直接取出, 带基质移栽, 没有缓苗过程, 移栽成活率高, 长势快(图5, 表5)。



图5 移栽成活后的试管苗

表5 不同基质对移栽成活率的影响

基质	苗高/cm	成活率/%
蛭石(加糖)	14	97.2
蛭石(无糖)	15	96.9
琼脂	8	92.0

注: 接种的生根试管苗苗高皆为4 cm, 表中数据为移栽30 d的统计结果。

3 讨论

组培苗的生产成本中, 主要是琼脂和糖的成本较高。在乔桑试管苗的生根过程中, 为了减少成本, 可不加糖、不灭菌, 以蛭石代替琼脂。试验中, 加糖与否对乔桑试管苗的生根基本没有影响, 两者差异很小。蛭石是廉价的建筑材料, 由于在生产过程中是高温产生的, 因此基本处于无菌状态, 可以不灭菌。利用蛭石以及不加糖、不灭菌这3项措施, 在沙漠乔桑试管苗的生根过程中, 如果操作良好可以非常有效的减少生产成本。

生根接种操作可以选择干净的室内, 不必使用超净工作台, 2人一组, 1人取苗、剪苗, 1人扦插、封口, 2人密切配合, 即可节省成本, 又可提高工效和速度。

操作过程中蛭石添加营养液的量比较难掌握, 尤其是蛭石的干糙程度不同吸水量就不同, 需要反复试验, 要求营养液一定浸透蛭石, 但放置24 h后, 倾斜培养瓶观察, 不能有多余的营养液, 否则生根时间大大延长, 生根率低, 还有可能出现烂苗现象。

蛭石相对于琼脂来说硬度较高, 仅可以应用于木本植物等较硬的试管苗, 今后还有待于继续研究对试管苗增殖及对其他植物试管苗生根的影响。

参考文献

- [1] 任兆光. 抗逆性强、多用途的桑树新品系“沙桑”[J]. 农业新技术, 2003, 6(3): 33-35.
- [2] 高利. 绿化致富好树种[J]. 内蒙古林业, 2003, 60(12): 38-39.
- [3] 徐立, 余茂德, 杨金富等. 不同桑树材料冬芽组织培养试验[J]. 蚕业通讯, 2002, 22(1): 10-13.
- [4] 孔令汶. 不同桑树品种的叶片培养及植株再生试验[J]. 蚕业科学, 1990, 16(4): 198-202.

Study on Rapid Tissue Culture and Culture Medium of Tube Seedling to the Desert Tall Mulberry

SHI Wen-Shan

(Department of Bio-engineering, Binzhou Vocational College, Shandong 256624, China)

Abstract: The convention tissue culture method was treated to sprouting hibernaculum and lateral bud of the desert tall mulberry after exophyte disinfection. Using the basic culture medium with MS (Murashige & stoog, 1962) which adding the different concentration of BA and NAA, to made the different compounds hormone combination culture medium. Then selected the most appropriate medium for induction multiply and taking root. Then replaced the agar of vermiculite to design root taking culture medium. With sugar and non-sugar, sterilization and non-sterilization, conducted the experimental study of test tube seeding cuttage for taking root. The result indicated that; the most suitable culture medium of bud sprouting was MS+1.0mg/LBA+0.1mg/LNAA and the most suitable culture medium of fast reproduction was MS+0.5mg/LBA+0.05mg/LNAA. When replaced agar of vermiculite with adding no-suger and without antiseptic. The rate of taking root was not different with agar culture medium. It was also a good way of enhancing transplant survival rate and reducing cost. It could providing the model for the desert tall mulberry factorization production.

Key words: The desert tall mulberry; Tissue culture; Vermiculite; Cuttage