

土沉香的组培快繁技术研究

徐强兴, 吴妃华, 周立赖

(湛江市农业技术推广中心, 广东 湛江 524043)

摘要:利用土沉香幼芽茎段进行组培快繁技术研究, 结果表明: MS + BA 0.2 mg/L 培养基比较适合芽的诱导培养; 连续在 1/2 MS + BA 0.1 mg/L 培养基中培养的丛生芽, 增殖率高, 且玻璃芽率低; 间接生根法培养的生根效果较好, 其中以接入 1/2 MS + NAA 5.0 mg/L 培养基、培养 2 天后移至不加任何外源激素的 1/2 MS 培养基中培养的试管苗生根率最高; 试管苗假植于椰壳基质中, 成活率可达 73.2%。

关键词:土沉香; 茎段; 组培快繁

中图分类号:S567.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-874X(2006)08-0044-03

土沉香 [*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg], 又称白木香, 为瑞香科 (Thymelaceae) 植物, 是一种热带亚热带常绿乔木, 也是我国生产沉香的唯一植物资源^[1], 现列为国家保护三级濒危植物^[2]。

多年来, 人们对沉香进行了掠夺式的开采, 致使沉香资源短缺。因此, 如何恢复沉香资源, 已迫在眉睫。土沉香原属于自然野生, 主要通过种子繁殖, 但野生成年树现今已极其稀少, 无法得到大量的种子, 大面积推广种植极其困难; 而且通过种子繁殖的种苗容易变异, 不易保留良种优势。生产实践证明, 组织培养方法是快速繁殖种苗和保持良种优势的有效途径, 对于恢复沉香资源有着重要的意义。

1 材料与方 法

1.1 诱导培养试验

供试材料为湛江市吴川的野生土沉香, 选择性状优良的成年树, 在距地面约 20 cm 处砍断, 待幼芽长出后, 于干旱晴天切取幼芽, 用 0.05% HgCl₂ 加少许吐温-20 消毒 10 min, 无菌水冲洗 4~5 次后, 切成带 1~2 个芽的茎段, 接入不同浓度激素配比的诱导培养基 (表 1) 中, 每个处理 30 瓶, 每瓶接种 1 段。诱导试验以 MS 为基本培养基, 附加 30 g/L 蔗糖、6 g/L 琼脂, pH 值为 5.8。接种后置于培养室中培养, 培养温度为 23~25℃, 以日光灯为光源, 光照强度为 1 500 lx, 每天连续光照 10 h。

1.2 增殖培养试验

试验以前代增殖芽接种于没有添加任何外源激素的 1/2 MS 培养基中培养出的丛生芽作材料, 切取高约

2 cm、生长正常、大小基本一致的单芽, 接入不同无机盐浓度培养基 (MS、1/2 MS、1/3 MS、1/4 MS) 和不同激素配比培养基 (不添加激素、6-BA 0.05 mg/L、6-BA 0.1 mg/L、6-BA 0.25 mg/L、6-BA 0.5 mg/L、6-BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L、6-BA 0.1 mg/L + NAA 0.3 mg/L) 中, 每个处理 6 瓶, 每瓶接种 5 株。接种后置于培养室中培养, 培养条件与诱导培养相同, 培养周期为 40 天。培养 40 天后调查各处理的诱导率和芽生长情况。

1.3 生根培养试验

直接生根诱导试验以 1/2 MS 为基本培养基, 设附加 NAA 0.05、0.1、0.25、0.5、1.0 mg/L, IBA 0.05、0.1、0.25、0.5、1.0 mg/L, NAA 0.1 mg/L + IBA 0.1 mg/L, NAA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L 及不加任何激素 (CK) 等 13 个处理, 切取高约 2 cm、大小基本一致的不定芽接入各种培养基中培养, 每个处理 5 瓶, 每瓶接种 4 株。培养 50 天后观察各处理组培苗的生根情况。

间接生根诱导试验以 1/2 MS 为基本培养基, 设附加 NAA 3.0、5.0、7.0 mg/L 及 IBA 3.0、5.0、7.0 mg/L 等 6 个处理, 切取大小基本一致、生长正常、高约 2 cm 的不定芽接入各种培养基中, 培养 2 天后移入不加任何外源激素的 1/2 MS 培养基中继续培养, 每处理 6 瓶, 每瓶接种 5 株。培养 50 天后观察各处理组培苗的生根情况。

1.4 假植试验

当土沉香生根苗长至 3~4 cm 高时, 将培养瓶从培养室中移到散射光较强处炼苗, 约 10 天后植入椰壳基质中, 25 天后观察组培苗的假植成活率。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

收稿日期: 2006-04-20

作者简介: 徐强兴 (1969-), 男, 农艺师

据观察,经过消毒处理的土沉香幼芽茎段接种于不同浓度外源激素的培养基中培养,约 10 天后叶腋间开始长出基部带组织的单芽,再经过 30 天培养,单芽周围长出丛芽。

从表 1 可以看出,培养 40 天后各诱导培养基处理的芽均生长正常,但随着 6-BA 浓度的升高,芽基部的愈伤组织增多,阻碍了芽的诱导和增殖,加入 NAA 后其愈伤组织明显增多。从表 1 还可以看出,当外源

激素 6-BA 浓度为 0.2 mg/L 时,愈伤组织较少,芽诱导率和诱导芽数最高,比较适合用于土沉香芽的诱导培养。

将诱导出的芽连同基部组织切下,接种于 1/2MS + 6-BA 0.1 mg/L 培养基中,培养 40 天后发现每个芽的基部和叶腋间又长出 3~4 个新芽,经过不断的切割培养可得到大量的丛芽。

2.2 芽的增殖

表 1 不同激素对比对芽诱导的影响

处 理	外植体数 (个)	诱导芽数 (个)	诱导率 (%)	芽生长状况
6-BA 0.05 mg/L	25	1.0	44.0	生长正常,基部有少量愈伤组织
6-BA 0.1 mg/L	20	1.5	55.0	生长正常,基部有少量愈伤组织
6-BA 0.2mg/L	23	2.4	73.9	生长正常,基部有少量愈伤组织
6-BA 0.5 mg/L	18	1.7	66.7	生长正常,基部愈伤组织较多
6-BA 1.0 mg/L	16	0.8	37.5	生长正常,基部愈伤组织较多
6-BA 0.2 mg/L + NAA 0.1 mg/L	21	1.4	52.4	生长正常,基部愈伤组织较多

注:因接种后部分外植体污染,故各处理调查的外植体数少于 30 个。

2.2.1 不同无机盐浓度对芽增殖和玻璃芽率的影响

土沉香在增殖培养过程中,很容易产生水渍状透明的玻璃芽,严重影响了芽的增殖和质量,这是木本植物组培快繁中的共同弊病。不同无机盐浓度培养基试验结果(表 2)表明,在外源激素 6-BA 添加浓度为 0.1 mg/L 的条件下,不同无机盐浓度对土沉香的芽增殖和玻璃芽率有不同的影响。其中,全量 MS 培养基易产生玻璃芽,严重阻碍了芽的增殖,不适合增殖培

养基;在 1/2MS 培养基中培养的芽生长正常、健壮,增殖率较高,且玻璃芽率较低,比较适合用于芽的增殖培养;随着无机盐浓度的继续降低,玻璃芽率有下降的趋势,即 1/3MS、1/4MS 培养基中的玻璃芽率较低,但芽的长势较差,增殖率较低,均不适合增殖培养基。另据观察,增殖芽若连续在全量 MS 培养基中培养,玻璃芽的发生会逐渐加重;而连续在 1/2MS 培养基中培养,玻璃芽率则保持在较低的水平,说明 1/2MS 培养

表 2 不同无机盐浓度对芽增殖和玻璃芽率的影响

处理	增殖倍数	玻璃芽率(%)	芽生长状况
MS	1.8	58.6	浓绿,长势好,基部有少量愈伤组织,玻璃化严重
1/2MS	3.5	19.0	淡绿,长势稍差,基部有少量愈伤组织,玻璃化较轻
1/3MS	2.5	16.4	淡绿,长势稍差,基部有少量愈伤组织,玻璃化较轻
1/4MS	1.3	10.2	淡黄,长势差,基部有少量愈伤组织,玻璃化较轻

基适宜于土沉香增殖芽的连续培养。

2.2.2 不同激素对比对芽增殖和玻璃芽率的影响

从表 3 可以看出,土沉香芽增殖对细胞分裂素 6-BA 的浓度要求较低,当 6-BA 浓度小于 0.1 mg/L 时,增殖倍数随着浓度的加大而升高,当 6-BA 为 0.10 mg/L 时其增殖倍数达到最大值,之后随着 6-BA 浓度的继续升高,增殖倍数反而下降,并且随着 6-BA 浓度的升高,芽玻璃化有加重的趋势。从表 3 还可以看出,在 6-BA 的基础上添加 NAA,对芽玻璃化

未产生太大的影响,但芽的基部明显膨大并产生较多的愈伤组织,阻碍了芽的增殖,增殖效果明显降低。试验结果表明,在土沉香组织培养过程中,采用配方 1/2MS + 6-BA 0.1 mg/L 作为芽的增殖培养基,其效果最佳,增殖率最高,芽生长正常,玻璃芽率最低。

2.3 根的诱导

直接生根诱导培养 50 天后的调查结果显示,各培养基处理的组培苗均无法生根,除不加任何激素的对照培养基外,其他培养基处理的组培苗基部均伴有愈

表3 不同激素对比对芽增殖和玻璃芽率的影响

处 理	增殖倍数	玻璃芽率(%)	芽生长状况
不加任何激素(CK)	1.5	10.1	浓绿,健壮,基部有少量愈伤组织
6-BA 0.05 mg/L	3.0	15.4	浓绿,健壮,基部有少量愈伤组织
6-BA 0.1 mg/L	3.7	16.7	浓绿,健壮,基部有少量愈伤组织
6-BA 0.25 mg/L	3.0	30.2	浓绿,健壮,基部有少量愈伤组织
6-BA 0.5 mg/L	2.1	48.9	浓绿,健壮,基部愈伤组织较多
6-BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L	2.0	18.1	浓绿,健壮,基部愈伤组织较多
6-BA 0.1 mg/L + NAA 0.3 mg/L	1.0	19.2	浓绿,健壮,基部愈伤组织较多

伤组织产生,且随生长素浓度的升高,愈伤组织发生越严重。可见,土沉香组培苗较难直接生根。

间接生根诱导培养后 50 天的调查结果见表 4。从表 4 可见,间接生根诱导培养的效果较好,生根率明显提高,其中以接种于 1/2MS+NAA5.0 mg/L 培养基中,培养 2 天后移至不加任何外源激素的 1/2MS 培养基中培养,组培苗的生根率最高,平均根数最多,且幼苗生长正常,基部没有愈伤组织。这种分阶段间接生根法在一些果树和油料木本植物浩浩巴^[3]的组织培养中已有采用,是木本植物生根的一种有效途径。

表4 不同种类和浓度生长素对根诱导的影响

处 理	生根率(%)	生根数(条/株)
NAA 3.0 mg/L	15.7	0.30
NAA 5.0 mg/L	86.7	2.30
NAA 7.0 mg/L	64.0	1.60
IBA 3.0 mg/L	9.6	0.17
IBA 5.0 mg/L	59.3	1.40
IBA 7.0 mg/L	52.1	1.10

2.4 假植效果

当土沉香生根苗长至 3~4 cm 高时,将苗瓶从培养室中移到散射光较强处炼苗约 10 天,然后从瓶中取出生根苗,洗净培养基,植入椰壳基质中,淋足定根水,用薄膜覆盖保湿,外用黑网遮阴,25 天后移去薄膜,保

留黑网,然后保持间干间湿管理。据对 82 株组培苗的调查,成活率达 73.2%。成活的小苗生长旺盛、正常,没有出现变异现象。

3 结 语

在植物微体快速繁殖过程中,玻璃苗的出现已成为一种很普遍的现象,这种玻璃苗有时多达 50% 以上,严重影响了繁殖率的提高,因而成为茎尖脱毒、工厂化育苗和材料保存等的严重障碍,造成人、财、物的极大浪费^[4]。影响芽玻璃化的因素很多,同时也较复杂。本试验结果证明,在土沉香的组培快繁中,适当降低无机盐的浓度可有效地降低玻璃化率,明显提高增殖率和芽的质量。同时,木本植物的组培苗往往较难生根,间接生根法有时可收到意想不到的效果,其可能是木本植物生根的一种合适途径。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第二册) [M]. 北京:科学出版社, 1972:948.
- [2] 中国科学院植物研究所. 中国植物红皮书——稀有濒危植物. [M]. 北京:科学出版社, 1992:670-671.
- [3] 姚军,张燕玲,林荣. 浩浩巴组织培养和快速繁殖[J]. 广西植物, 1996, 16(1): 73-76.
- [4] 曹孜义,刘国民. 实用植物组织培养教程. [M]. 兰州:甘肃科技出版社, 1999:69.

“荔枝烈酒生产技术”通过成果鉴定

由广东省农业科学院、华南理工大学轻工与食品学院和广东帝浓酒业有限公司共同承担的 2005 年度粤港关键领域重点突破招标项目“岭南特色水果酿造优质果酒核心技术研发及产业化”子项目“荔枝烈酒生产技术”,于 2006 年 7 月 28 日通过成果鉴定。省科技厅、揭阳市及惠来县等 40 多位有关负责人和广东卫视等近 10 家媒体参加了鉴定会。

鉴定会专家组成员包括原张裕葡萄酒公司总经理、中国食

协葡萄酒专业委员会主任陈泽义,天津王朝酒业有限公司常务副总经理、中国酒协葡萄酒专业委员会主任王树生及中国葡萄酒检测中心主任朱济义等国内果葡萄酒领域专家。专家组听取了有关汇报,审查了鉴定资料,认为该成果以岭南地区的特色水果荔枝为研究对象,通过发酵后蒸馏酿造荔枝烈酒,在产品的设计、基酒酿造等多方面具有明显创新。所研制产品具有荔枝蒸馏酒的典型风格。技术达到国际领先水平。