

曼地亚红豆杉组培快繁技术的简化*

马 均 马明东**

(四川农业大学都江堰分校, 都江堰 611830)

摘要: 以5年生曼地亚红豆杉扦插母株当年生枝上带芽茎段为外植体, 进行组培快繁技术简化的研究结果表明, 以白糖、凉开水代替蔗糖、蒸馏水不影响外植体的萌芽率, 并可有效降低成本; 自然光照代替灯光培养需要配以适合的季节、培养容器、培养方法和采光效果良好的培养室; 以蛭石为基质的瓶外生根培养不仅生根率高, 根系生长较好, 且可简化培养工艺, 降低培养成本。

关键词: 曼地亚红豆杉; 组织培养; 简化

中图分类号: S791.49, S722.3+7

文献标识码: A

曼地亚红豆杉 (*Taxus media*) 是以欧洲红豆杉 (*T. baccata*) 为父本、东北红豆杉 (*T. cuspidata*) 为母本的天然杂交种, 又称杂种紫杉^[1], 其紫杉醇含量高且稳定, 为 0.03% ~ 0.06%, 是中国红豆杉品种含量的 8 ~ 10 倍^[2], 可全株利用, 因此, 探索易于生产应用的曼地亚红豆杉组织培养育苗技术体系的意义就显得尤为重大。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用苗为四川农业大学都江堰分校实习苗圃内的5年生曼地亚红豆杉扦插苗。于7月中旬采其当年生枝上带芽茎段为外植体, 接种于简化培养基上诱导侧芽萌发, 萌发侧芽经壮苗培养后进行生根培养。

初代培养培养基为筛选出的 MS + 6 - BA0.05mg/L + NAA0.5mg/L, 并以自来水、凉开水代替蒸馏水, 市售普通白糖代替分析纯蔗糖, 半量琼脂的半固体培养基进行培养基的简化培养; 以自然光照代替灯光培养进行培养条件的简化。

组培得到无根苗, 采用以蛭石为基质的瓶外培养法替代琼脂培养基的组培生根, 促根剂采用 IBA 1 000mg/L 速浸 30s。同时以 WPM + 6 - BA0.05 + NAA1.0 的琼脂培养基生根培养为对照。

1.2 试验方法

接种后, 将灯光培养的培养瓶置于培养箱内培养, 光照强度 1 500 ~ 2 000lx, 光照时间 12h/d, 温度为 25 ± 1℃。自然光照培养的置于窗台上培

养。30d 后统计发芽率。

萌发后的侧芽经壮苗培养后, 将生长健壮、苗高 2cm 以上的无根苗从培养瓶中取出, 洗净基部培养基, 用促根剂处理后插入经高压灭菌后的蛭石上。扦插后置于室内, 在自然光照下培养, 并经常喷水保湿, 3 个月后统计生根率。

2 结果与分析

2.1 初代培养

接种 30d 后, 采用简化培养方法进行的初代培养曼地亚红豆杉的侧芽萌发情况见表 1。

表 1 曼地亚红豆杉简化培养发芽情况

培养基	发芽率/%
基本培养基 + 蒸馏水 + 白糖 + 灯光培养	64.29% ^a
基本培养基 + 自来水 + 蔗糖 + 灯光培养	0.0% ^c
基本培养基 + 凉开水 + 蔗糖 + 灯光培养	65.65% ^a
基本培养基 + 蒸馏水 + 蔗糖 + 自然光照	34.62% ^b
基本培养基 + 蒸馏水 + 蔗糖 + 灯光培养 (CK)	68.97% ^a

注: 表中标字母为 Duncon 新复极差分析结果显著性 99%

白糖代替蔗糖 采用白糖代替分析纯蔗糖对外植体的萌芽率没有显著影响, 萌芽率达到 64.29%。这说明, 市售白糖可以作为曼地亚红豆杉初代培养的碳源。且可使培养基成本降低 20.9%。

自来水、凉开水代替蒸馏水 试验中, 采用自来水培养基上的外植体全部变褐死亡, 萌芽率为 0。这可能是因本地自来水的水质过硬, 某些元素含量过高, 而不适宜曼地亚红豆杉外植体生

* 四川农大都江堰分校科技基金“曼地亚红豆杉组织培养育苗及生根机理研究”(N-200604)

长所致。采用凉开水配制的培养基,曼地亚红豆杉能够正常生长萌发,萌芽率为 65.65%,与采用蒸馏水的对照无显著差异。这是由于自来水烧开时,水中的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等离子沉淀析出,水质硬度降低而不致对外植体的生长产生影响。采用凉开水可降低成本 6.1%,是降低曼地亚红豆杉组培成本的可行方法。

自然光照代替灯光培养 组织培养通常采用灯光作为培养物生长的能源,但高昂的电费势必成为组织培养技术产业化的障碍。用自然光照代替灯光培养,芽的萌发率为 34.62%,约为灯光培养的 1/2,但萌发芽的生长情况无明显差异。本试验初代培养的培养容器为平底试管,且每 10 支束成一捆进行培养。由于试管壁会降低光照强度,加之试管间相互紧靠,使中间试管的光照强度较弱,因此影响了芽的萌动。可见,采用自然光照代替灯光进行曼地亚红豆杉组织培养,尚需对培养容器、培养方法以及培养室的采光条件做进一步的研究。

2.2 生根培养的简化

曼地亚红豆杉组培无根苗生根速度慢,生根率较低,以 $\text{WPM} + 6 - \text{BA}0.05 + \text{NAA}1.0$ 的琼脂培养基进行生根培养的生根率为 27.78%,瓶外生根的生根率为 58.33%。瓶外生根的生根率约是瓶内的 2 倍,且得到的全苗茎基部愈伤组织小,有利于移栽成活。同时,蛭石价格低廉,可反复利用,使培养基成本降低。瓶外生根是在自然条件下进行的,省去了无菌操作环节,减少了灯光培养成本,得到的全苗生长到一定高度后即可直接用于移栽,减除了炼苗过程,简化了生产流程。

3 小 结

3.1 采用市售白糖和凉开水代替蔗糖和蒸馏水,

不仅不会影响曼地亚红豆杉初代培养外植体的萌芽率,且可降低成本,简化生产工艺。

3.2 采用自然光照代替灯光培养必须有适宜的培养容器和方法,以及采光条件良好的培养室,并且只能在光照充足的季节里进行。

3.3 用 IBA 处理 30s 后以蛭石作基质代替琼脂培养基进行瓶外生根,生根率更高,且可大幅度降低培养基成本,简化生产流程,提高生根苗质量。

参 考 文 献

- [1] 张照喜,喻泓,杜化堂,等.曼地亚红豆杉径枝生长关系研究[J].武夷科学,2005,25(1):47-52.
 - [2] 王占和.曼地亚红豆杉及其市场前景[J].特种经济动植物,2005(3):32.
 - [3] 李守玉.曼地亚红豆杉引种试验初报[J].林业调查规划,2005,30(增刊):82-85.
 - [4] 程丽芬.简化培养基试验[J].山西林业科技,1999(3):1-4.
 - [5] 陈世昌.简化培养基对草莓试管苗生根的影响[J].河南农业科学,2004(10):67-68.
 - [6] 王海琴,罗君琴,李丽,等.非洲菊组培快繁体系的简化及成本节约[J].西南园艺,2006,34(2):60-61.
- 第 1 作者简介:马均(1975-),女,讲师,主要从事生物技术在林业上的应用等方面的教学和研究。参与主研四川省教育厅重点攻关项目 1 项,主持分校科技基金 4 项,发表论文数篇。
- 责任作者:马明东,副教授。
- 收稿日期:2007-01-08

Simplification of Tissue Culture Technology of *Taxus media*

MA Jun

(Sichuan Agriculture University, Dujiangyan 611830)

Abstract Take the tissue culture with the 1 year-old branch of 5 year-old *Taxus media* as explant, a simplification technology of tissue culture was studied. The results showed that the white sugar, cold boiled water instead of sucrose and distilled water didn't influence sucker rate of explant, and it could cut down the cost. Natural light instead of lamplight need suitable season, culture container, culture methods and with the culture room with the well daylighting. The rate of rooting out the tube is high, the root grows well and it can simplify the technology and cut down the cost.

Key words *Taxus media*; Tissue culture; Simplification