

木薯优良品种“华南124”的组织培养

李斌¹ 黄永才² 覃剑锋³ 杨美纯³

(¹ 广西中医学院, 南宁 530001; ² 广西药用植物园; ³ 广西大学)

摘要:以“华南124”带腋芽的茎段为外植体进行组织培养, 分别在无性培养系建立, 芽的增殖, 生根和移栽4个阶段进行了研究, 结果表明, MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹培养基较适合诱导腋芽萌发; MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹适合作为组培苗的增殖培养基; 1/2MS+NAA 0.1mg·L⁻¹作为组培苗的生根培养基较好。组培苗移栽成活率在70%左右, 气温低, 基质水分多易造成移栽组培苗死亡。

关键词:木薯 华南124 组织培养

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 又名树薯, 树番薯, 木番薯, 是大戟科 (Euphorbiaceae) 木薯属 (*Manihot*) 植物。木薯是重要的淀粉作物, 是世界三大薯类作物 (木薯、甘薯、马铃薯) 之一, 是仅次于水稻、玉米、高粱的第四大热带作物。木薯具有全年可种植, 易栽培, 高度耐旱, 病虫害较少, 单产较高等优良特性, 广泛分布在全球的热带和亚热带地区。

种植木薯要想获得高产量和高淀粉含量, 选用优良品种是关键。目前生产上木薯多采用成熟的茎段进行繁殖, 这种方式繁殖率低, 不利于优良品种大规模迅速推广。随着木薯优良品种不断推出, 品种更新速度加快。利用组织培养技术快速繁殖木薯优良的无性系, 是加速木薯良种大面积推广的有效途径。由于木薯品种不同, 其基因型也不相同, 组织培养方法也不尽相同。本试验研究优良品种“华南124”无性系组织培养技术, 为其种苗的快速繁殖和推广提供参考依据。

“华南124”简介: 株高1.8~3.0 m, 主茎分枝部位高, 分枝角度小, 节间密, 株型好, 茎灰绿色。裂叶狭长, 厚而浓绿, 叶柄紫色。薯块大而长, 薯皮薄, 浅黄色, 肉质细嫩。鲜薯淀粉含量27%~30%。对土质要求不严, 适应性广, 抗寒、耐旱力强, 氢氰酸 (HCN) 含量低, 属甜味种。种植后9个月可收获, 一般667 m² 产可达3~4 t。

1 材料与方法

1.1 试验材料

“华南124”健壮植株上的腋芽。

1.2 试验方法

取主芽或侧芽约10 cm长的茎段, 切除叶片, 用洗衣粉溶液浸泡10~15 min, 自来水冲洗10~15 min, 然后切成带有1~3个腋芽约1 cm长的小段, 在超净工作台中用75%酒精进行表面灭菌45 s, 无菌水冲洗1次, 再放入0.1% HgCl₂ 溶液中分别灭菌8 min、9 min, 期间不时地摇动, 无菌水漂洗5~6次, 接种到初代诱导培养基中, 培养7 d后统计污染率和萌芽率。将初代培养获得的无菌苗切成带有1节的茎段接种至增殖培养基中, 30 d后统计芽增殖系数、芽基部愈伤组织发生程度和芽生长情况等。将约2 cm长的单芽插入生根培养基, 20 d后统计平均苗高、平均根数、平均根长和苗生长情况。

以上各试验均重复3次, 均以MS为基本培养基。试验材料均在25±5℃的培养室中培养, 每天光照12 h, 光照强度1600~2000 lx。

2 结果与分析

2.1 无性培养系的建立

外植体接种后3~4 d腋芽开始萌发, 芽生长快。在6-BA 0.5 mg·L⁻¹的培养基中, 芽较细, 培养12

d后,芽高2~4 cm,茎节间长,茎段基部切口处稍有些膨大。在6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基中,芽较粗,培养12 d后,芽高1~2 cm,茎节间短,茎段基部形成少量愈伤组织。萌发的小苗具有3~5片正常

叶,叶片绿色,茎淡绿色。2种诱导培养基中,MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基较适合诱导腋芽萌发。升高不同灭菌时间的灭菌效果具体见表1。

表1

灭菌效果及腋芽萌发情况

6-BA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	升高灭菌 时间 (min)	外植体数 (个)	污染数 (个)	污染率 (%)	萌发外植体数 (个)	萌芽率 (%)
0.5	8	34	25	73.5	16	47.1
	9	26	13	50	12	46.2
1.0	8	68	46	67.6	37	54.4
	9	49	39	79.6	15	30.6

2.2 芽的增殖培养

在增殖培养基中添加6-BA,不同浓度的6-BA均能诱导丛芽形成,结果见表2。随着6-BA浓度的增加,芽基部黄白色的愈伤组织体积也随着增大。当6-BA浓度高于 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,丛生芽下部的叶片上也产生愈伤组织。在不添加6-BA、NAA的MS培养基中,腋芽生长较快,但不能形成丛芽。在6-BA浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,能诱导产生少量丛芽,但芽生长较弱。当6-BA浓度为 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,芽生长较好,芽健壮,节间较短。而当6-BA浓度达 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,丛芽有些茎叶生长畸形,出现玻璃化现象。在较适合诱导丛芽形成的含有6-BA的增殖培养基中,即6-BA浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、

$1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基中添加NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行比较。实验结果表明培养基中添加了NAA后,丛芽下部的愈伤组织增加,多呈松散颗粒状,芽的数量有所减少,芽的平均高度略有增高,芽稍弱。这说明NAA促进芽伸长生长和愈伤组织形成,使芽细弱,产生的芽数减少。可见芽的增殖培养基中不需要附加NAA,加入合适浓度的6-BA即可。经过分析比较,MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 较适合芽增殖,该培养基能诱导形成丛芽,芽的增殖系数较高,部分丛芽有8~12个芽,生长健壮。丛芽25~30 d继代1次较好,这样丛芽生长速度快,健壮。本试验中的组培苗继代了十几代,生长良好,未发现有退化现象。

表2

6-BA和NAA对诱导芽增殖及生长的影响

6-BA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	接种茎段 (节)	芽基部愈伤 组织发生 程度	总芽数 (株)	芽增殖 系数	芽生长情况
0	0	35	-	35	1.00	单芽,细弱,节间长,长出2~3条根,生长快
0.5	0	35	+	55	1.57	芽少,较弱,节间较长,部分芽长出根,生长较快
1.0	0	35	++	105	3.00	芽较多,较壮,节间较短,生长正常
1.0	0.05	35	+++	99	2.83	芽较多,较壮,节间较短,生长正常
1.5	0	35	++	131	3.74	芽多,较壮,节间较短,生长正常
1.5	0.05	35	++++	118	3.37	芽多,较壮,节间较短,生长正常
2.0	0	35	++	154	4.40	芽多,健壮,节间较短,生长正常
2.0	0.05	35	++++	149	4.26	芽多,较壮,节间较短,生长正常
2.5	0	35	+++	151	4.31	芽多,较壮,节间短,下部有些叶片变黄,生长正常
3.0	0	35	+++	177	5.06	芽多,较壮,节间短,茎叶有些畸形膨大,出现玻璃化现象,生长较慢

注:-:无愈伤组织或很少;+:愈伤组织直径 $<0.5 \text{ cm}$; ++:愈伤组织直径介于 $0.5 \sim 1.0 \text{ cm}$ 之间; +++:愈伤组织直径介于 $1.0 \sim 1.5 \text{ cm}$ 之间; ++++:愈伤组织直径 $>1.5 \text{ cm}$

2.3 根的诱导

2.3.1 IBA、NAA对生根的影响

在本试验设计的各处理组中,所有苗都是100%生根,而且出根的时间大致相同(见表3),可见“华南124”生根很容易。经IBA诱导的苗虽然根数较多,但是苗细弱,根细长,不如纯MS和添加有

NAA处理的苗壮,因此NAA诱导生根的效果优于IBA。在NAA的处理中,芽的切口处长出一些白色的愈伤组织。随着NAA浓度的升高,则愈伤组织增多。经比较,在MS+NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基中,幼苗较健壮,根的长度和数量较适合。

表3

IBA、NAA对生根的影响

IBA ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NAA ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	接种苗 数(株)	诱导率 (%)	平均苗 高(cm)	平均根数 (条/株)	平均根 长(cm)	苗生长情况
0	0	30	100	3.9	3.5	3.4	5~7 d长根,苗较细,根径 $0.4\sim 0.5\text{ mm}$
0.1	0	30	100	4.3	5.5	3.7	5~7 d长根,苗细,根径 $0.3\sim 0.4\text{ mm}$
0.5	0	30	100	4.5	5.8	3.9	5~7 d长根,苗很细,根径 $0.3\sim 0.4\text{ mm}$
0	0.05	30	100	3.9	4.6	3.2	5~7 d长根,苗细,茎基部有少量愈伤组织,根径 $0.4\sim 0.5\text{ mm}$
0	0.1	30	100	3.8	4.8	2.9	5~7 d长根,茎基部有少量愈伤组织,根径 $0.4\sim 0.5\text{ mm}$
0	0.2	30	100	3.8	4.8	2.8	5~7 d长根,茎切口处有些愈伤组织,根径 $0.5\sim 0.6\text{ mm}$

2.3.2 大量元素和活性炭(AC)对生根的影响

将较适合生根的MS+NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基中的大量元素减半,即 $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基进行诱导生根试验,结果表明 $1/2\text{MS}$ 培养基对生根的诱导效果与MS相差不大,因此用 $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 进行生根培养较为经济。在生根培养基 $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 中附加0.1%活性炭,结果表明生根培养基中加入活性炭后,茎切口处无愈伤组织,平均苗高、根数、根长与对照相差不大。由此可见,生根培养基中可不附加活性炭。

2.4 移栽

在木薯组培苗假植之前,对沙床进行灭菌,本试验采用山东绿丰农药有限公司生产的土菌灵(强力敌克松)20%可湿性粉剂按 $4\sim 7\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ 的用量与沙混合均匀,3 d后进行假植。

移栽之前,把苗高2 cm以上,每株根数3条以上,根长约1 cm以上的瓶苗移到室外荫棚内(自然散射光光强 $5000\sim 7000\text{ lx}$)炼苗1周左右以后,将小苗从固体培养基中取出,洗干净苗根部的培养基,再用0.1%的 KMnO_4 溶液浸泡灭菌5 s左右,立即将小苗假植于细沙沙床中,然后覆盖塑料薄膜保湿。

由于膜内湿度大,假植1~2 d后,每天的中午前后要适当的通风透气。2周后,组培苗的假植成活率在70%左右。

当假植成活的木薯小苗有新根、新叶长出时,取出小苗,移栽入菜园熟土与细沙按1:1混合的基质中,置入塑料大棚内,每天要通风透气,一周以后可放置于露天环境,移栽5 d后要喷施0.1%~0.2%的复合肥。假植苗移栽成活率达90%以上,小苗的长势良好。

3 讨论

在木薯组培苗假植过程中,温度和水分对成活率影响较大。气温低、基质水分多易造成幼苗死亡。“华南124”假植成活率在70%左右,假植基质只用了河沙一种,其它基质(珍珠岩、蛭石、塘泥等)对组培苗移栽的影响有待于研究。另外,假植试验最好在温室中进行,方便管理和控制。

在木薯组培快繁技术比较成熟的情况下,应进一步进行木薯的脱毒培养研究,以获得更加高产优质的木薯种苗。