

文章编号: 1008-3464 (2007) 03-0243-04

## 木薯良种“GR911”的组织培养

杨美纯<sup>1</sup>, 黄永才<sup>1</sup>, 李斌<sup>1,2</sup>, 莫远波<sup>1</sup>

(1 广西大学农学院, 广西南宁 530005; 2. 广西中医学院, 广西南宁 530001)

**摘要:**以“GR911”木薯的腋芽为外植体,研究木薯的组织培养技术。结果表明,在所设计的方案中,MS+6-BA 1.0 mg/L 是较适合的初代诱导培养基;MS+6-BA 1.5 mg/L 是较适合的增殖继代培养基;1/2 MS+NAA 0.1 mg/L 是较好的生根培养基。

**关键词:**木薯; GR911; 组织培养

**中图分类号:** S533      **文献标识码:** A

### Tissue culture of cassava cultivar GR911

YANG Mei-chun<sup>1</sup>, HUANG Yong-cai<sup>1</sup>, LI bin<sup>1,2</sup>, MO Yuan-bo<sup>1</sup>

(1 College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China;

2 Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

**Abstract:** Cassava tissue culture was studied by using the cultivar GR911 as material. The results showed that MS media containing 1.0 mg/L 6-BA was suitable for shoot induction, while 1.5 mg/L 6-BA for subculture. 1/2 MS media with 0.1 mg/L NAA was the best rooting media among the tested.

**Key words:** cassava; GR911; tissue culture

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 是重要的淀粉作物,是世界三大薯类作物(木薯、马铃薯、甘薯)之一,被誉为“地下粮仓”“淀粉之王”<sup>[1]</sup>。

木薯是重要的工业原料,可加工成淀粉糖类、淀粉类、酒精类、有机化学类、精细化学类、可降解塑料等系列产品。木薯作为能源酒精最经济的加工原料,具有广阔的开发前景<sup>[2]</sup>。

木薯耐旱耐瘠,粗生易长,适宜在热带、亚热带地区种植。广西丘陵山地较多,适合发展木薯种植,目前,广西已成为全国最大的木薯种植和淀粉加工基地。但是,广西木薯平均产量还比较低,要发展规模化木薯种植业,必须加强高产、稳产、高淀粉良种的选育、推广以及高产栽培技术的研究等工作<sup>[3,4]</sup>。

木薯是以营养繁殖为主的植物,良种的推广速度很慢。利用组织培养技术快速繁殖种苗是良种推广的最佳途径。近几年,广东、海南、广西已有几个单位在进行木薯组织培养研究<sup>[5-8]</sup>,研究的木薯品种有“BRA12”“E24”、泰农50、面包木薯。到目前为止,国内未见有关木薯品种“GR911”组织培养的报道。由于作物品种不同,对组织培养的各种条件的要求也有所不同,研究木薯品种“GR911”的组织培养技术,可为该系列木薯良种的快速繁殖提供技术支持。

收稿日期: 2006-05-19;

修回日期: 2007-02-02。

作者简介: 杨美纯 (1951-), 女, 广西河池人, 广西大学教授; E-mail: meichunyang@163.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试品种为GR911, 广西亚热带作物研究所引种繁育的优良栽培品种, 其鲜薯产量约 37 500 kg/hm<sup>2</sup>, 块根淀粉含量 25.4%。该品种耐贫瘠, 耐贮藏, 成熟收获期在植后 9 个月。在田间选取木薯健康植株上带有腋芽的茎段作为外植体。

### 1.2 方法

1.2.1 外植体的选取与处理 春季从田间取幼嫩植株顶端约 10 cm 长的茎段, 从叶柄基部切除叶片, 用洗衣粉溶液浸泡 10~15 min, 再用自来水冲洗 10~15 min, 然后将茎段切成带 1~2 个腋芽、长约 1.5 cm 的小段, 用 75% 酒精进行表面灭菌 30 s, 无菌水冲洗一次, 再放入加有吐温的 0.1% HgCl<sub>2</sub> 的溶液中灭菌, 灭菌时间设 8、9 min 2 个处理, 最后用无菌水冲洗 5~6 次。

1.2.2 外植体的初代培养 将已灭菌处理的茎段分别接种至 MS+6-BA 0.5 mg/L、MS+6-BA 1.0 mg/L 两种固体培养基中培养, 7 d 后观察腋芽萌发情况, 并统计污染率及萌发率。

1.2.3 丛芽的诱导 将木薯初代培养获得的无菌苗切成带有 1~3 叶的茎段, 接种至添加不同激素组合的 MS 培养基中, 诱导丛芽产生。

1.2.4 根的诱导 将增殖继代培养获得的无菌苗切成单芽, 接种至附加 NAA、IBA 的 1/2 MS 生根培养基中。

1.2.5 培养条件 接种后的材料均在 (25±5)°C 的培养室中培养, 每天以 1 600~2 000 lx 的光照强度照射约 10 h。

## 2 结果与分析

### 2.1 灭菌时间对木薯茎段灭菌效果的影响

为筛选 0.1% HgCl<sub>2</sub> 的灭菌时间方案, 曾设计 7、8、9、10、11 min 5 个灭菌时间处理, 结果发现, 灭菌时间低于 8 min 时, 污染率达 80% 以上; 灭菌时间高于 10 min 时, 污染率虽然低, 但外植体腋芽的萌发率几乎为 0, 可能是木薯腋芽的幼叶角质化、蜡质化程度低, 对灭菌剂的耐受能力也低的原因。因此, 从灭菌效果和腋芽萌发率综合考虑, 木薯茎段腋芽用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 灭菌的时间以 8~9 min 为宜 (表 1)。

表 1 木薯茎段的灭菌效果及初代诱导萌芽率

Tab. 1 Sterilization efficiency and germination rate of buds at first culture of cassava stem slices

6-BA /mg · L <sup>-1</sup>	灭菌时间/min Sterilized time	外植体数 No. of explant	污染数 No. of contamination	污染率/% Contamination rate	腋芽萌发的外植体数 Axillary bud	萌芽率/% Germination rate
0.5	8	20	13	65.0	5	25.0
0.5	9	20	11	55.0	4	20.0
1.0	8	21	14	66.7	7	33.3
1.0	9	23	12	57.1	6	26.1

注: 基本培养基为 MS, 下同。

Note: Basal medium was MS. The following work used the same basal medium.

### 2.2 木薯茎段的初代诱导

木薯茎段接种后 6~7 d 腋芽开始萌发, 在加入 6-BA 0.5 mg/L 的培养基中, 小芽细长。培养 14 d 后, 芽高 2~3 cm, 节间较长, 插入培养基的外植体切口处形成愈伤组织团; 在 6-BA 1.0 mg/L 的培养基中, 芽长得较粗壮, 培养 12 d 后, 芽高 1~2 cm, 节间短, 具有 3~5 片小型叶, 插入培养基的外植体切口处膨大, 向上扩展, 形成较大的愈伤组织团。据此, 诱导木薯茎段腋芽萌发的培养基中 6-BA 浓度以 1.0 mg/L 效果较好; 6-BA 浓度过低, 萌发的小芽过于细弱; 6-BA 浓度过高, 则形成过多的愈伤组

织,影响腋芽萌发。

### 2.3 丛芽的诱导

2.3.1 6-BA对丛芽产生的影响 当初代培养所获得的无菌苗长至2~3 cm高时,将其切成带有1~3叶的茎段进行丛芽诱导培养。从表2可以看出,6-BA浓度 $\geq 1.0$  mg/L时,可诱导腋芽形成丛芽。其中以6-BA浓度为1.5 mg/L时芽多,生长健壮,增殖系数也较高,最适合用于“GR911”丛芽的增殖;6-BA浓度为2.0、2.5、3.0 mg/L时,虽然也能形成丛芽,增殖系数也较高,但芽长势不如1.5 mg/L处理组的好;6-BA浓度 $\geq 2.5$  mg/L时,芽生长开始变弱。

表2 6-BA对丛芽诱导的影响

Tab.2 Effect of 6-BA on the induction of thick buds

6-BA /mg · L <sup>-1</sup>	愈伤组织生长情况 Growth condition of callus	茎段数 No. of stem slices	出芽数 No. of buds	增殖系数 Propagation coefficient	芽生长情况 Growth situation of buds
0 (CK)	—	15	15	1.00	单芽、细弱、节间长
0.5	+	15	22	1.47	芽少、稍弱、节间较长
1.0	++	15	31	2.07	芽较多、较壮、节间较短
1.5	+++	15	39	2.60	芽多、健壮、节间较短
2.0	++++	15	46	3.07	芽多、健壮、节间较短
2.5	++++	15	48	3.20	芽多、稍弱、节间短
3.0	++++	15	54	3.60	芽多、稍弱、节间短

注:—. 无愈伤组织或很少;+. 愈伤组织直径 $< 0.5$  cm; ++. 愈伤组织直径 $0.5 \sim 1.0$  cm; +++. 愈伤组织直径 $1.0 \sim 1.5$  cm; +++++. 愈伤组织直径 $> 1.5$  cm; 下同。

Note:—. No callus or a little callus; +. Diameter of callus is smaller than 0.5 cm; ++. Diameter of callus is between 0.5 and 1.0 cm; +++. Diameter of callus is between 1.0 and 1.5 cm; +++++. Diameter of callus is larger than 1.5 cm; The same as follows.

2.3.2 6-BA与NAA配合对丛芽产生的影响 丛芽诱导时,在培养基中添加NAA后,丛芽下部的愈伤组织增加,多呈分散的颗粒状,甚至有的丛芽下部的叶片上也可产生愈伤组织。从表3可看出,芽的数量有所减少,芽的平均高度略有增加,但总体上差异不大。愈伤组织的产生会抑制丛芽的形成,就“GR911”品种而言,芽的继代增殖培养基中不需要添加NAA,只用合适浓度的6-BA即可。1.5 mg/L的6-BA适合“GR911”丛芽的继代增殖,有些丛芽能达到9~10株。20~25 d继代一次较好,丛芽生长速度快,健壮。本研究的试管苗继代了十几代,其生长均良好,未发现有退化现象。

表3 6-BA和NAA配合对丛芽产生的影响

Tab.3 Effect of combination of 6-BA and NAA on the induction of thick buds

6-BA /mg · L <sup>-1</sup>	NAA /mg · L <sup>-1</sup>	愈伤组织生长情况 Growth condition of callus	茎段数 No. of stem slices	芽数 No. of buds	平均芽数 Average buds per stem slice	平均芽高 Average height of buds /cm
1.0	0	++	20	71	3.6	3.8
1.0	0.05	+++	20	66	3.3	3.6
1.5	0	++	20	93	4.7	3.1
1.5	0.05	++++	20	87	4.4	3.1
2.0	0	+++	20	90	4.5	2.7
2.0	0.05	++++	20	88	4.4	2.8

### 2.4 IBA和NAA对生根的影响

当无菌苗丛生芽上的单芽长到2~3 cm高时,将单芽切下接入附加有IBA、NAA的生根培养基中诱导生根,20 d后统计生根数,测量根长、苗高。结果表明,所有处理的苗100%生根,出根的时间也大致相同(表4),可见木薯生根很容易。在1/2 MS培养基中长出的根也不错;经IBA诱导的苗虽然根数多,但是根细长而且苗细弱,不如对照和NAA处理的苗壮;在NAA处理组中,无菌苗的茎基部切口处长出一些白色的愈伤组织,随着NAA浓度的提高,愈伤组织增多。总的来说,木薯在1/2 MS+

NAA 0.1 mg/L 的培养基中生根较适合。

表4 IBA和NAA对生根的影响

Tab. 4 Effect of IBA and NAA on rooting

植物生长物质 Plant growth regulator/mg · L <sup>-1</sup>	苗数 No. of seedling	诱导率 Induction rate /%	平均苗高 Average height of seedling/cm	平均根数 Average roots per seedling	平均根长 Average length of root/cm
0 (CK)	30	100	4.0	3.9	3.5
IBA 0.10	30	100	4.2	5.7	3.9
IBA 0.50	30	100	4.5	5.6	3.4
NAA 0.05	30	100	3.9	4.4	3.3
NAA 0.10	30	100	3.6	4.6	2.8
NAA 0.20	30	100	3.8	4.5	2.8

## 2.5 试管苗的移栽

试管苗的根的吸收功能较差,而叶片的蜡质化程度低,气孔闭合不灵,极易散失水分。由于在含糖的培养基上生长,植株光合作用能力极低。而且试管苗从试管内移到试管外,由异养变成自养,环境由无菌变为有菌,由恒温、高湿、弱光变为自然变温、低湿、强光,变化十分剧烈,因此,必须有一个逐步锻炼和适应的炼苗过程,才能够提高试管苗的移栽成活率。木薯试管苗根长1.5~2.0 cm时,将培养瓶移到室外阴棚中炼苗一周左右,待叶片变成浓绿色时,打开瓶盖取出小苗,洗干净苗根部的培养基,立即假植到沙床上,盖膜保湿。木薯试管苗叶片的蜡质化程度极低,若天气干燥,试管苗出瓶后叶片会立即萎蔫,所以,木薯试管苗假植后,沙床需立刻盖膜保湿。

假植的时间和沙床中水分的多少对木薯组培苗的成活率影响很大。沙床中的水分过多,假植2~3 d后,木薯小苗根颈处出现水浸状,然后腐烂折断死亡;若沙床中水分过少,则会造成小苗茎叶萎蔫死亡。

沙床盖膜后,由于膜内湿度大,小苗茎叶上易长霉菌,在木薯组培苗移栽前,用土菌灵(强力敌克松)20%可湿性粉剂,按4~7 g/m<sup>2</sup>的用量与沙混合进行灭菌处理。假植2周后,成活率在50%~70%。

将假植成活的小苗移植菜园熟土与细沙(1:1)的混合基质中,成活率可达90%以上。

## 3 讨论

用木薯茎段很容易诱导腋芽萌发获得无菌苗。茎段培养的优点是培养技术简单易行,繁殖速度快。按理论计算,每年可增殖10<sup>5</sup>~10<sup>12</sup>倍,有利于优良品种的繁殖;本研究中,在茎段腋芽初代诱导、丛芽诱导、生根诱导的三个阶段,多数处理的接种茎段基部或多或少都有愈伤组织产生,但实验中获得单芽和丛芽,都是直接从腋芽诱导产生的,这种“以芽繁芽”方式繁殖的种苗变异少,性状均一。

从本研究的情况看,木薯试管苗的移栽对技术的要求比较高,因此,若在生产上应用,还需对移栽技术作进一步的研究,以简化移栽程序,提高移栽成活率。

## 参考文献:

- [1] 沈光. 广西木薯产业的发展前景与对策 [J]. 热带农业科学, 2001, 90 (2): 24-27.
- [2] 李开绵, 林雄, 黄洁. 国内外木薯科研发展概况 [J]. 热带农业科学, 2001, 89 (1): 56-60.
- [3] 韦本辉. 广西大有希望的产业——木薯业 [J]. 广西经济, 2000 (5): 24-25.
- [4] 韦本辉. 中国木薯蕴具巨大产业经济开发潜势 [J]. 中国食物与营养, 2001 (5): 17-19.
- [5] 刘进平, 吴繁花. 木薯外植体表面消毒和启动培养的研究 [J]. 广西热带农业, 2004, 94 (5): 1-3.
- [6] 杭玲, 陈丽娟, 蔡炳华, 等. 木薯离体培养与快速繁殖 [J]. 亚热带植物科学, 2001, 30 (1): 24-26.
- [7] 莫饶, 吴繁花, 叶剑秋, 等. 木薯离体培养的研究 [J]. 华南热带农业大学学报, 2003, 9 (1): 2-5.
- [8] 谭凤巧. 多效唑对木薯试管苗的矮化作用 [J]. 广西热作科技, 1997, 62 (1): 46-47.

(责任编辑 裴润梅)