

枸树组织培养的研究

胡孔峰, 史洪中, 聂战胜

(信阳农业高等专科学校, 河南信阳 464000)

摘要: 对枸树的初代培养、继代培养和生根培养进行了研究。初代培养用腋芽、顶芽作为外植体, 在灭菌前用半胱氨酸处理 10min, 以防止褐变。培养出以芽丛为主, 以茎段为辅的无性繁殖系。其培养基为 MS+BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L。继代培养时采用芽丛和茎段进行增殖, 其培养基为 MS+BA0.5mg/L。在培养基中增加蔗糖的用量和降低光照, 可以减轻玻璃化现象。继代苗可以生根, 其培养基为 1/2MS+IBA0.5 mg/L, 但生根的速度较慢。

关键词: 枸树; 腋芽; 顶芽; 组织培养

The Study of Tissue Culture in Paper Mulberry

Hu Kongfeng, Shi Hongzhong, Nie Zhansheng

(Xinyang Agricultural College, Xinyang Henan 464000)

Abstract: The study of Paper mulberry is about its primary culture, secondary culture and rooting culture. The axillary and top buds are used as explants in primary culture, They are treated by ban guang an suang ahead of ten min, so it can prevent brown change and educate out bud clster for main. The optimum medium was MS+BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L. Axillary and single-bud cegments were multiplied in secondary culture. The optimum medium was MS+BA0.5mg/L. It gains cane suger to make shine lower and alleviate alss variety phenomenon secondary seedling can take root but speed is slow, The optimum medium was 1/2MS+I-BA0.5mg/L.

Key words: Paper mulberry, Axillary bud, Crest bud, Tissue culture

枸树属桑科枸树属中的一个种, 学名 *Broussonetia papeyriifera* (L.) L' Herit. ex Vent. 多年生落叶乔木。主要分布在中国、越南、日本、朝鲜和欧洲的一些国家; 具有速生、适应性强、分布广、易繁殖、热量高、轮伐期短的特点。枸树是中国特种长纤维原料资源之一, 是生产各种高档专用纸张的最好原料, 如钞票纸、书画纸、新闻纸、礼品包装纸、一次性水杯纸等, 主要是利用枸树韧皮纤维。其果实和根均可入药, 有补肾利尿, 强筋健骨的功效。其叶可作为饲料。枸树耐二氧化硫、氟化氢和氯气的的能力较强, 适宜在有气体污染严重的工矿业区作绿化树栽植。近年来从日本引进的枸树新品种光叶楮, 是制浆造纸的专用树种。该树种既可作绿化和水土保持树种, 又具有极高的经济价值。经有关科研和生产部门的合作, 在中国已完成利用光叶楮韧皮制浆, 木杆制浆的科研和中试生产, 通过了专家鉴定。为了加快调

整农业生产结构, 满足农业生产的需要, 笔者参考朱建华 (2000)^[1]、胡建刚等 (1994)^[2] 对无花果, 姜华武等 (1999)^[3] 对长穗桑等桑科植物组织培养的经验, 结合曹孜义等 (1996)^[4] 的《实用植物组织培养技术教程》, 对枸树的组培快繁技术进行了一些研究。

1 材料与方法

此项试验所用的枸树材料取自南阳市唐河县。

1.1 初代培养

于 2003 年 6 月采取生长健壮、无病虫害、新萌发的枝条作为外植体, 切取含顶芽或腋芽的茎段 3~4cm。先用自来水反复冲洗 10~30min, 将材料分为六组, 每组 20 个, 分别放在浓度为 0、100、500、1000、1500、2000mg/L 的半胱氨酸中浸泡 10min。然后用 70% 的酒精浸泡 30s, 再用 10% 的次氯酸钠消毒 15min, 最后用无菌水冲洗 5~6 次, 沥干水备用。

第一作者简介: 胡孔峰, 男, 1956 年出生, 河南信阳人, 副教授, 从事植物保护及植物组织培养的的教学和研究工作。E-mail: kongfeng56@vip.sina.com, Tel: 13837610056, 0376-6697162。通信地址: 464000 河南省信阳市农专路 1 号 信阳农业高等专科学校。

收稿日期: 2005-10-14, 修回日期: 2005-10-24。

在无菌的条件下,将顶芽切成1cm左右的茎段,切取腋芽茎段与顶芽同长,含一个芽,芽上茎节部分短一些,芽下茎节部分长一些,将原切口重新切出新茬口。每瓶接种1个芽。将外植体接种在四种培养基上,培养基中加的蔗糖均为3%,琼脂为1%;接种数共计80个,每种激素处理20个。置于温度为:25℃,光照强度为:1500Lx,每天光照12h的条件下进行初代培养(如表1)。

表1 不同激素组合对构树顶芽和腋芽的影响

MS+激素 (mg/L)	顶芽		腋芽	
	萌发数 (个)	萌发率 (%)	芽苗数 (个)	诱导率 (%)
MS+BA0.5+IAA0.1	50	250	15	75.2
MS+BA1+IAA0.1	108	540	10	50.0
MS+BA2+NAA0.2	71	355	18	90.6
MS+BA3+NAA0.3	67	335	12	60.0

注:顶芽和腋芽的种数均为20个

1.3 生根培养

当继代培养的芽苗长高到1.5~2cm时,将芽苗转移到生根培养基上,培养基用四种不同浓度的激素处理(如表3),培养基中加的蔗糖均为3%,琼脂为1%;每个处理接种20株,进行试管内生根培养;光照为1500~2000Lx,温度为25℃。

以上各类培养基的pH均为5.8,在0.15Mpa的压力下灭菌25min。

表2 不同激素组合对构树增殖的影响

MS+激素 (mg/L)	增殖芽数 (个)	增殖系数 (%)
MS+BA0.5	206	8.24
MS+BA1+NAA0.1	136	5.44
MS+BA2+NAA0.2	39	1.56
MS+BA1+NAA0.5	42	1.68
MS+BA0.5+2.4-D1	143	5.72

注:接种芽数均为25个

2 结果与分析

2.1 不同浓度的半胱氨酸对构树组织培养褐变的影响

经过半胱氨酸处理的培养1d后,对照组表现严重的褐变,外植体周围变成褐色,培养基随后也变为褐色,1周后死亡。随着半胱氨酸处理浓度升高时,抗褐变的效果也随之显著提高;但以半胱氨酸的浓度达到1500mg/L时,抗褐变的效果最显著。不同时间处理无明显差异。

2.2 不同激素种类和浓度组合对构树顶芽和腋芽的影响

由表1可以看出MS+BA 1.0mg/L+NAA 0.1mg/L培养基的外植体经过2周的培养形成愈伤组织,3周后观察有丛生芽形成。诱导率高,芽长势较好,切口处愈伤组织适当。而附加其他激素的诱导率均较低,长势不好或生长慢。对腋芽培养来说,MS+BA 2mg/L+NAA 0.2mg/L培养基是对腋芽诱导的最佳培养基,芽长势较好,但对顶芽诱导较差。附加其他激素

1.2 培养继代

选择经初代培养成功的含有多个芽的芽丛切割成单芽,并将芽丛中高达2cm以上的单芽切割成含有一个腋芽的茎段。接种在五种培养基上,每个处理接种25株,共计接种125株。培养基所加的蔗糖为2.5%和3%,各处理20个,琼脂为1%;置于温度为:25℃,光照强度为:1800Lx、1200Lx,各处理20个;每天光照12h的条件下进行继代培养(如表2)。

的芽萌发率较低,萌发也较慢。

2.3 不同激素组合对构树增殖的影响

由表2可看出,接种在MS+BA0.5 mg/L培养基上的愈伤组织,经过2周培养在切口处产生少量的愈伤组织,3周后分化出6~8个芽,芽高0.5cm左右。其增殖芽数为206个,增殖系数为8.24%;是较适合的一种培养基。接种在MS+BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基上的愈伤组织,经过2周的培养后,分化出2~4个芽,芽点较小;3周后幼苗长高到0.5~1cm左右,幼苗生长较弱。其增殖芽数为136个,增殖系数为5.44%。接种在MS+BA 2mg/L+NAA 0.2 mg/L培养基上的愈伤组织,经过2周的培养后,几乎无分化芽,3周后分化出1~2个芽点,但大多数不分化,芽点较小;其增殖芽数为39个,增殖系数为1.56%。接种在MS+BA 1 mg/L+NAA0.5 mg/L培养基上的愈伤组织,经过2周的培养后,分化出1~2个芽,芽点较小;3周后幼苗长高到0.5~2cm左右,其增殖芽数为42个,增殖系数为1.68%。接种在MS+BA0.5 mg/L+2.4-D1 mg/L培养基上的愈伤组织,经过2周的培养后,分化出4~5个芽,芽点小,3周后幼苗长高到0.5cm左右,幼苗较弱,其增殖芽数为143个,增殖系数为5.72%。

2.4 光照强度对构树增殖的影响

用1800Lx处理的苗玻璃化较多,几乎为66%,同时褐变较严重,导致幼苗的增殖率降低。当光照强度降低到1200Lx时,玻璃化苗较少形成,褐变也较轻。但是,如果光照过低会出现黄化现象。

2.5 蔗糖用量的多少对构树增殖的影响

蔗糖用量为25g/L处理的苗玻璃化较多,几乎为85%,同时褐变较严重,导致幼苗的增殖率降低。蔗糖用量为30g/L时,玻璃化苗较少形成,褐变也较轻。

2.6 不同生长素的浓度对构树生根的影响

由表3可以看出,MS+IBA1.0 mg/L 培养基比较适合构树的生根培养。接种后,经过4周的培养形成根原基,6周后观察有4~6条根形成。其IBA浓度为1mg/L时,长出的根白、短、粗、易成活;IBA浓度为0.5mg/L时,长出的根少、长短粗细不一、不易成活。其NAA浓度为0.5mg/L时,长出的根少、细弱、不易成活。NAA浓度为1mg/L时,长出的根少、细弱、极易脱落。从试验结果来看,生长素IBA处理的效果要远远好于NAA的处理。

表3 不同浓度的生长素对构树生根的影响

培养基+生长素 (mg/L)	观察结果
1/2MS+IBA0.5	生根 3~4 条, 且较粗, 长短不一。
1/2MS+IBA1.0	生根 4~6 条, 长达 0.5~1.0cm, 根白而粗。
1/2MS+NAA0.5	个别长出 1~2 条细根, 易脱落。
1/2MS+NAA1.0	个别长出 1~2 条细根, 极易脱落。

3 讨论

3.1 在木本植物构树的培养过程中, 褐变问题比较严重。褐变现象是由于植物组织中的多酚氧化酶被激活, 使易氧化的物质产生棕褐色的醌类物质。这些物质扩散到培养基后, 抑制其它酶的活性, 最后影响外植体的培养。半胱氨酸可以减少氧气与构树体内的氧化物结合, 从而达到抗褐变的目的。褐变现象在不同的植物品种间表现是不同的。由于多酚氧化酶活性的差异和易氧化醌类物质的多少, 不同植物表现褐变的程度有一定的差异。构树属桑科植物, 而桑科植物含有的组织浆

汁较多, 浆汁中含有大量的一氧化醌类物质, 所以褐变现象比较明显, 生成褐变的物质较多。通过此项试验, 笔者发现, 半胱氨酸在不同浓度的处理中, 抑制褐变的效果不尽相同; 经过1500mg/L 半胱氨酸处理后, 抑制褐变的效果比较显著。

3.2 玻璃化是组织培养中常见的现象, 其表现为培养物的嫩芽、叶片呈半透明状和水渍状, 茎叶表面无蜡质, 体内极性化合物较高, 繁殖系数有所降低, 不能诱导生根。通过此项试验, 笔者发现, 降低光照, 增加蔗糖的用量, 可降低玻璃化的程度。

3.3 试验结果表明, 构树初代培养用MS+BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L 培养基的效果较好; 继代培养用MS+BA0.5mg/L 培养基的增殖系数较高; 生根培养用1/2MS+IBA0.5 mg/L 培养基较适宜, 但生根速度较慢。如何提高构树的生根速度, 有待于进一步的探讨。

参考文献

- 1 朱建华, 关丽霞. 无花果的组织培养研究. 北方果树, 2002, (3): 9~10
- 2 胡建刚, 郭继善. 无花果的组织培养. 南京林业大学学报, 1994, (3): 73~76
- 3 姜华武, 陈中义. 长穗桑组织培养简报. 湖北农学院学报, 1999, (4): 380
- 4 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996.11

(责任编辑: 秦守亮)