

沙漠乔桑的组织培养与工厂化生产

石文山, 唐旭日, 李树丽

(滨州职业学院, 山东滨州 256624)

摘要:选取沙漠乔桑不同的外植体,通过芽的诱导、试管苗的快速增殖、试管苗生根和驯化移栽筛选出适宜的工厂化育苗工艺流程。3—6月份选取沙漠乔桑待萌发冬芽、萌发侧芽,流水冲洗干净后,70%酒精浸10s,然后用0.15%氯化汞灭菌5~10min,以不同组合的培养基对外植体进行诱导、快速繁殖、生根。结果表明:以MS+BA1.0mg/l(单位下同)+NAA0.1作诱导培养基,用MS+BA0.5+NAA0.05作增殖培养基进行快速繁殖,以1/2MS+NAA0.2作生根培养基,移栽到草炭:珍珠岩:蛭石=3:1:2的混合基质中。通过试验筛选出了一套快速繁殖体系,建立了适宜于沙漠乔桑工厂化生产的工艺流程。

关键词:沙漠乔桑;组织培养;工厂化生产;工艺流程

中图分类号:Q943.1 **文献标识码:**A

On the Tissue Culture and the Mass Production of the Desert Tall Mulberry

Shi Whenshan, Tang XuRi, Li Shuli

(Department of Bioengineering, Binzhou Vocational College, Binzhou, Shandong 256624)

Abstract: The appropriate craft of mass production has been obtained through the inducement bud and rapid multiplication and rootage and taming to transplant of tube seedling by selecting the different explants. Between March and June, the hibernacula and the lateral bud of the desert tall mulberry has been selected and washed. Then by 70% alcohol immersing them for 10s, putting out the germ with 0.15% Hg_2Cl_2 for 5~10 minutes, the explants has been induced and rapidly multiplied and taken root by the different combination of medium. The result showed that: the most suitable culture medium of bud sprouting is MS+ BA1.0mg/L+ the NAA0.1 mg/ L. The most suitable multiplication culture medium is MS+ BA 0.5 mg/L + the NAA 0.05 mg/ L. The most suitable rootage culture medium is 1/2 MS+NAA0.2 mg/L. The suitable transplanting medium is turf: perlite: vermiculite=3:1:2. Through the experiments, a set of rapid multiplication system has been obtained and the craft process of the desert tall mulberry production has been built up.

Key words: The Desert Tall Mulberry, Tissue Culture, The Factory Turns the Production, Craft Process

沙漠乔桑是人工选择与杂交而培育出的最新抗逆性优良树种,具有生长快、耐盐碱、耐瘠薄、耐风沙、抗干旱、抗寒、抗高温等特性。既能用于畜牧、养殖、酒水饮料加工、入药、造纸,蓄积木材又能防风固沙、绿化保土,作为一种生态建设和绿化经济树种具有广泛的发展前景^[1,2]。目前市场形势看好,合格苗木供不应求。沙漠乔桑的繁殖一般常用嫁接大方法,繁殖较慢、费工费

时,满足不了市场的要求^[3,4]。因此,自2002年开始笔者以沙漠乔桑的冬芽、萌发侧芽为外植体进行了组织培养研究^[5],探索出了一套沙漠乔桑的离体快速繁殖体系,建立了适宜于沙漠乔桑工厂化生产的工艺流程。

1 材料和方法

1.1 试验时间、地点

试验从2002年春天开始,于滨州职业学院植物组

第一作者简介:石文山,男,1963年出生,副教授,本科,农业推广硕士。滨州职业学院生物工程系实验实习办主任,主持植物组培中心工作,主要从事植物生理与植物组织培养的教学科研工作。通信地址:256624 山东省滨州市渤海九路北首533号滨州职业学院生物工程系。Tel:0543-3277929。E-mail: wenshanshi88@yahoo.com.cn。

收稿日期:2006-10-25,修回日期:2006-11-02。

培中心进行。

1.2 试验材料

由山西圣树科技发展有限公司购得。

1.3 试验方法

1.3.1 外植体的灭菌与处理 以沙漠乔桑待萌发冬芽、萌发侧芽作外植体。选长势良好、生长健壮、无病虫害的一年生枝条，春天3—4月份未萌发前切取待萌发冬芽，5—6月份切取萌发的侧芽，置烧杯中用自来水冲洗30min，取出后在超净工作台上用70%的酒精进行表面消毒10s，再用0.15%升汞消毒10min(萌发侧芽5min)，无菌水冲洗5~8次。冬芽驳去鳞叶和外层几片较大幼叶，萌发侧芽剥去外层小叶，接种于表1的8种诱导培养基上，筛选出最佳诱导培养基。

1.3.2 试管苗的继代增殖与生根 苗高2cm左右时转接到不同的增殖培养基(表2所列9种培养基)上，当苗高4~5cm时继续分割成单芽茎段、侧芽等进行快速繁殖培养基的筛选，苗高4cm高时进行生根培养，以琼脂作生根培养基(表3的4种培养基)筛选出最佳组合。

所有培养基的筛选采用正交与随机组合试验^[6-8]，逐步缩小范围，最后筛选出诱导、增殖和生根最优培养基。

1.3.3 驯化移栽 根长达0.5~1.0cm时进行驯化移栽，以草炭3:蛭石2:珍珠岩1的混合基质移栽成活率最

表 1 不同激素组合对芽萌发的影响

BA (mg/L)	IAA (mg/L)	接种芽数	出芽数	出芽率 (%)
0.5	-	50	41	82
0.5	0.2	50	44	88
1.0	-	50	40	80
1.0	0.1	50	46	92
1.5	-	50	37	74
2.0	-	50	31	62
2.0	0.2	50	39	78
5.0	0.2	50	30	60

注：上表为50d的统计结果

高，试管苗栽前用600倍多菌灵浸泡，栽后用600倍多菌灵喷洒至育苗盘浇透。

1.3.4 培养条件 以MS作为基本培养基，附加20%的市售葡萄糖，0.55%的琼脂，在此基础上添加不同浓度的BA、NAA等。用1N的盐酸或氢氧化钠调节pH值至5.7。培养室温度设定为25~27℃，光照强度3KLx，每天光照13h。培养瓶要求透光、透气性好，用耐高温聚丙烯薄膜作培养瓶的封口膜。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对芽萌发的影响

冬芽和萌发侧芽的诱导出芽需要的培养基基本一致，接种1周后侧芽萌发、叶片膨胀约一倍。3~5周侧芽伸长达1.5cm，其中以培养基MS+BA1.0+NAA0.1表现最好，出芽数和出芽率最高(见图1)。其结果见表1。

2.2 不同激素组合对芽增殖的影响

表 2 不同激素组合对芽增殖的影响

BA (mg/L)	IAA (mg/L)	苗高 (cm)	增殖倍数	长势
0.2	-	4.3	2.75	侧枝少
0.5	-	3.9	3.75	侧枝较多
0.5	0.05	5.5	4.25	侧枝多、愈伤很少
0.5	0.2	4	3.80	侧枝较少、愈伤多
1.0	-	4.8	3.10	侧枝少、愈伤少、根多
1.0	0.1	3.8	3.45	侧枝较少、愈伤多
1.0	0.2	3.3	3.25	侧枝较少、愈伤多
1.0	0.4	3.5	2.95	侧枝少、愈伤多
5.0	0.2	3.6	2.5	侧枝少、愈伤多

注：上表为接种19d的统计结果

表 3 不同激素组合对芽生根的影响

NAA (mg/L)	平均根数 (条)	根长 (cm)	生根率 (%)
0.1	4	3.5	94
0.2	4.5	3.9	98
0.5	3.4	3.4	95
1.0	3.2	3.2	93

注：上表为接种21d的统计结果

萌发后的桑芽不断伸长，并且出现数量不一的分枝，当苗高4cm以上并且出现分枝时及时分切成单芽茎段接种于增殖培养基中，3~4周桑芽长高并且又出现侧枝，每3~4周为一继代周期，其中以MS+BA0.5+NAA0.05培养基上的桑芽表现最好，愈伤少、侧枝多、苗高，增殖倍数在3周后即达4.25倍，比较适宜于沙漠乔桑的继代增殖培养(见图2)。结果见表2。

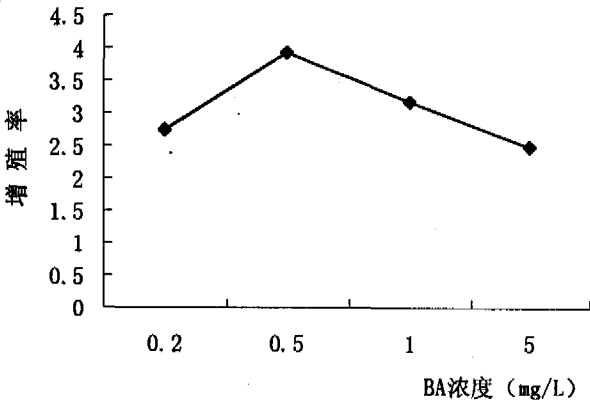


图 1 BA 浓度对试管苗增殖率的影响

通过正交试验得出沙漠乔桑的增殖培养适宜的BA浓度在0.5~1.0mg/L之间，继续采用随机组合试

验,进一步缩小范围^[9,10](见表2),试验结果显示,BA浓度为0.5mg/L增殖率最高,试管苗长势好。随BA浓度继续增加,增殖率有下降的趋势,结果见图1。

2.3 不同激素组合对芽生根的影响

将高4cm左右的桑芽接种于表3所述的生根培养基(以琼脂作生根基质)中,10d左右开始发根,2周根长达0.5~1.0cm时即可出瓶移植。以1/2MS+NAA0.2生根数和生根率最高(见图3)。结果见表3。

2.4 不同的移栽基质对试管苗移栽成活率的影响

试管苗根长达0.5~1.0cm时移到温室,经3~5d的驯化后,移栽到混合基质中,试管苗先用600~800多菌灵浸泡,栽后用多菌灵喷洒,覆膜保湿。其中以草炭

表4 不同的移栽基质对沙漠乔桑试管苗移栽成活率的影响

草炭	蛭石	珍珠岩	成活率(%)
3	2	1	96.8
1	1	0	93.7
1	0	1	95.3

3: 蛭石2: 珍珠岩1的混合基质中成活率最高(见图4),结果见表4。上述基质中的珍珠岩颗粒较大,疏松透气又保水,可以有效地提高非洲菊试管苗的移栽成

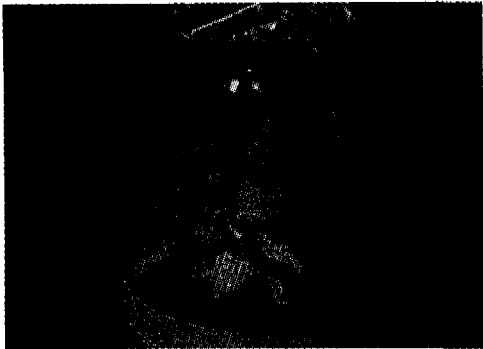


图1 萌发的侧芽

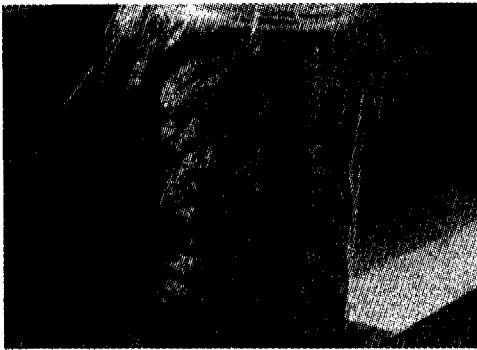


图2 试管苗增殖



图3 试管苗生根

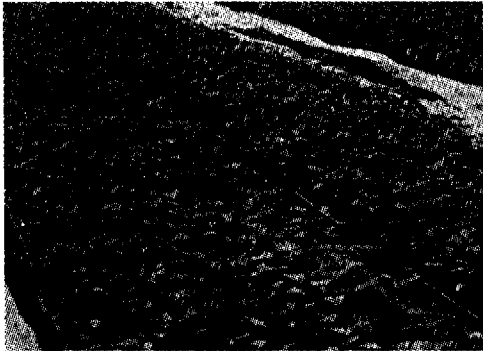


图4 移栽成活的沙漠乔桑试管苗

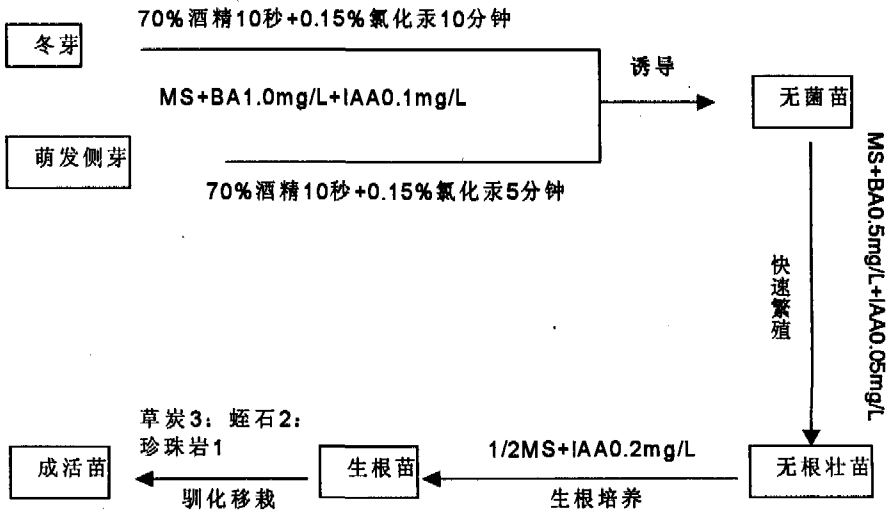


图5 工厂化生产工艺流程

活率。加上生根苗的药剂浸泡和栽后药剂喷洒会有有效的抑制杂菌孳生,提高移栽成活率。

3 结论

冬芽和萌发的侧芽是沙漠乔桑离体培养适宜的外植体,冬芽一般来自冬剪沙藏的枝条,萌发的侧芽来源比较丰富,结合春天修剪、去顶等选取生长旺盛的母株作为外植体的来源。冬芽外植体的适宜灭菌时间为0.15%氯化汞 10min,萌发侧芽的适宜灭菌时间为0.15%氯化汞 5min,外植体灭菌成功率最高。

侧芽萌发诱导的最适宜培养基为 MS+BA1.0+NAA0.1。

沙漠乔桑快速增殖的适宜培养基为 MS+BA 0.5+NAA0.05,一般以 3~4 周为一继代周期,增殖倍数可达 4 倍,最适合沙漠乔桑试管苗的增殖和生长。

1/2MS+NAA0.2 是沙漠乔桑生根的适宜培养基,诱导生根所需时间短,生根率高,根粗壮,植株挺拔、生长健壮。

在混合基质草炭 3:蛭石 2:珍珠岩 1 中移栽沙漠乔桑生根苗,试管苗用 600~800 倍多菌灵浸泡并栽后喷洒相同倍数的多菌灵,移栽成活率最高,植株移栽后

缓苗快,生长旺盛。

参考文献

- [1] 任兆光.抗逆性强、多用途的桑树新品系“沙桑”.农业新技术,2003,(3):33.
- [2] 高利.绿化致富好树种.内蒙古林业,2003,(12):38.
- [3] 徐立,余茂德,杨金富,等.不同桑树材料冬芽组织培养试验.蚕学通讯,2002,(1):10-11.
- [4] 孔令汶.不同桑树品种的叶片培养及植株再生试验.蚕业科学,1990,16(4):198-202.
- [5] 石文山,李树丽.沙漠乔桑的组织培养和快速繁殖技术.安徽农业科学,2006,21:87.
- [6] 江年琼,张睿,郑易之.驱蚊香草快繁体系的建立及工厂化育苗主要影响因素研究.中国农学通报,2006,(9):59-62.
- [7] 成家胜.植物组织培养与工厂化育苗技术.北京:金盾出版社,2003:56-73.
- [8] 崔德才,徐培文.植物组织培养与工厂化育苗.北京:化学工业出版社,2003:180-203.
- [9] 梅家训,丁习武.组培快繁技术及其应用.北京:中国农业出版社,2003:39-46.
- [10] 王蒂.植物组织培养.北京:中国农业出版社,2004:156-176.

(责任编辑:陶冶之)