

蓖麻无菌系建立方法的研究

谭德云¹ 陈祥梅² 王光明¹ 岳 霆¹ 李敬忠¹ 孙丽娟¹ 刘宏光¹ 陈 军¹

(1. 山东省淄博市农业科学研究院 255033; 黑龙江八一农垦大学植物科技学院 大庆 163319)

摘要:以蓖麻成熟种子为材料建立无菌系,研究了不同播种方式、不同支持物、不同培养基对种子发芽的影响。结果表明:蓖麻种子剥去种皮在以纱布为支持物的培养基上,以 1/2MS 培养液浸湿,污染率低,仅为 1.7%,出芽时间提前了 27d,幼苗长势均好于其它处理。

关键词:蓖麻;无菌播种;组织培养;快速

蓖麻(*Ricinus communis* L.)在分类学上属于大戟科蓖麻属,原产于非洲东部,在温带地区属一年生草本植物,而在热带和亚热带地区,蓖麻呈灌木或乔木状。俗称红麻、大麻子、牛蓖等。种籽可榨油,其含油率达 40.0%~58.8%,蛋白质为 20%,可溶性糖 3%,纤维素 25%左右。蓖麻油有许多用途,既耐严寒又耐高温,在-8~-10℃不冰冻,在 500~600℃不凝固和变性,可用作飞机、轮船、汽车和高速机床的高级润滑剂,皮革整修的软化剂等,并广泛用于纺织业助染、农药的乳化剂、医药上的缓泻剂,而且还是许多芳香物质的原料。叶可用来养殖蓖麻蚕,茎秆是优质的纤维板和造纸原料。

进行蓖麻组织培养技术的研究,不仅有利于蓖麻种质资源的保存,而且为今后大面积推广良种蓖麻提供可参考的实验数据。

1 材料与方法

1.1 材料

淄博市农业科学研究院培育的审定品种:淄蓖 5 号。

1.2 方法

1.2.1 种子处理

①.完整种子:取淄麻 5 号成熟种子,流水下冲洗

30min,置于超净工作台上,先在 75%酒精中浸泡 30s,倒去酒精,再倒入 1%NaClO 浸泡 15~20min(其间不停摇动),倒去 NaClO,用无菌水冲洗 3~5 次,接种于 MS 培养基上。

②.去种皮:取蓖麻成熟种子,小心剥去种皮(避免损伤胚),置于超净工作台上,先在 75%酒精中浸泡 30s,倒去酒精,再倒入 1%NaClO 浸泡 15~20min(其间不停摇动),倒去 NaClO,用无菌水冲洗 3~5 次,接种于 MS 培养基上。接种于不同培养基上。

1.2.2 培养基处理

①MS 固体培养基:附加琼脂 0.65%(强度 $\geq 900\text{g/cm}^2$),蔗糖 3%。

②1/2MS 固体培养基:大量元素减半,其它同 MS 固体培养基。

③1/2MS 以纱布为支持物培养基:以 1/2MS 液体培养液(不附加琼脂,其它同培养基处理 2)浸湿纱布,铺在锥形瓶底部,后灭菌。

以上各培养基 pH 均为 5.6~5.8。塑料膜封口。按常规方法配制分装后,121~126℃高压灭菌 15min,冷却后备用。

1.3 培养条件

培养室温度为 25±2℃,以日光灯为光源,连续光

表 1 不同播种方式对种子出芽及生长的影响

处理	培养基	代号	播种总数	芽率(%)	平均值(%)	污染率(%)	平均值(%)	出芽时间	平均值(d)
完全种皮	MS 固	A1	100	79		23		30	
	1/2MS 固	B1	200	82	82	25	23.3	25	25.7
	1/2 纱布	C1	100	85		22		22	
剥去种皮	MS 固	A2	200	92		2.5		8	
	1/2MS 固	B2	200	93	94	2.3	2.2	7	6
	1/2 纱布	C2	300	97		1.7		3	

照 12h/d, 光强 2000lu。

2 结果与讨论

2.1 不同播种方式对种子出芽及生长的影响

从表 1 可以看出, 蓖麻去种皮播种从污染率、出芽时间、出芽率上都要优于带种皮播种。完全种子播种, 污染率平均值为 23.3%, 剥去种皮后, 污染率仅为 2.2%, 原因在于成熟蓖麻种子具有种阜, 种阜表面不光滑, 给灭菌工作带来较大困难, 致使带皮播种污染率高; 剥去种皮后, 去除了种阜, 使外植体光滑易灭菌, 从而大大降低了污染率。从出芽时间上看, 完全种子在不同培养基上出芽平均时间为 25.7d, 而剥去种皮后, 出芽时间缩短至 6d, 可见差异是很明显的, 可能是由于种皮的存在而阻碍了种子的吸水, 使种子出芽时间延长。这与张玉霞等人的研究结果不同。可能是由于试验条件不同, 而使实验结果不同。两种处理出芽率上差异也很大, 完全种子播种出芽率为 82%, 而剥去种皮后芽率大大提高, 达 94%。芽势明显好于前者。综上所述, 蓖麻组织培养中, 快速得到无菌外植体, 以剥去种皮为好。

2.2 不同培养基对种子出芽及生长的影响

从表 2 可以看出, 3 种培养基的对比中, 以 1/2MS 培养液浸湿的纱布培养基为最好, 污染率低, 但

表 2 不同培养基对出芽的影响

处理	污染率(%)	出芽率(%)	出芽时间(d)
MS 固	12.8	85.8	19
1/2MS 固	13.7	87.5	16
1/2MS 纱布	11.9	91	12.5

结果差异不大。原因在于污染率与外植体来菌和操作方法有关, 而与培养基类型本身无关。出芽时间短, 出芽率高, 效果较明显。依次顺序为: 1/2MS 纱布培养基 > 1/2MS 固体培养基 > MS 固体培养基。纱布的吸水性好, 可源源不断地将水分和养分快速输送给萌动的种子, 同时透气性好, 从而促进种子发芽, 缩短发芽时间。虽然低离子浓度的培养基更有利于种子吸水, 但 MS 固体培养基和 1/2MS 固体培养基两种培养基差别不大, 可能是由于蓖麻是耐盐植物, 对离子浓度的要求不是很严格。3 种培养基从幼苗的生长状况看, 以 1/2 MS 纱布培养基上的苗叶柄短而粗壮, 幼苗生长快, 长势好。而在 MS 固体培养基和 1/2MS 固体培养基上的苗长势细弱, 子叶展开时间晚, 可能

由于子叶并没有完全吸水膨胀。而很难张开。

2.3 不同时间各处理出芽率的变化

由图 1 可以看出, 6 种处理中, 以 1/2MS 培养液浸湿纱布, 种子剥去种皮播种最早达到发芽, 仅为

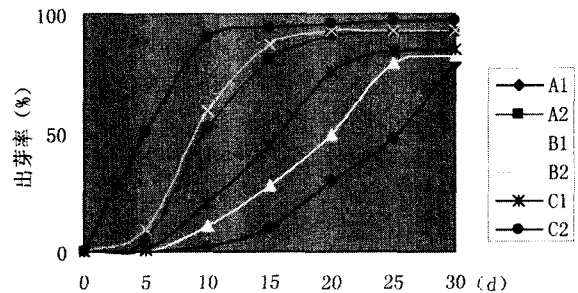


图1 不同时间各处理出芽率

3d, 达到发芽时间顺序依次为: C2 > B2 > A2 > C1 > B1 > A1。图中可以看出: C2、B2、A2 三条曲线走势较陡, 说明能在短时间内快速吸水而达到出芽。而 C1、B1、A1 三条曲线坡度较小, 种子吸水慢, 较晚达到发芽高峰期, 这更说明了充足的水分是种子萌发的必要条件。C2 处理较 A1 处理出芽时间缩短了 27d, 而芽率提高了 18%, 污染率也降至 1.7%。这对缩短蓖麻的培养周期、降低生产成本非常有利。

综合比较种子发芽率、发芽速度及幼苗生长状况可以看出: 以 1/2MS 液体培养液浸透纱布为支持物, 剥去种皮播种可有效缩短蓖麻组织培养中无菌系建立时间, 并可降低成本。

3 结论

蓖麻组织培养无菌系的建立采用以纱布为支持物, 以 1/2MS 液体培养液浸透, 剥去种皮后播种, 发芽后再转入 MS 固体培养基上壮苗, 可在短期内建立无菌系, 并有效降低成本。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴. 第二册. 第一版. 北京: 科学出版社. 1972. 582~606
- [2] 严兴初, 等编著. 蓖麻种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社. 2007. 1~2
- [3] 中国作物学会, 国家科委农村科技司, 湖南省农学会编. 中国作物栽培. 北京: 科学普及出版社. 1991. 35~37
- [4] 曹致义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社. 1996. 95~97
- [5] 张玉霞, 苏明, 宋桂云, 等. 影响蓖麻种子萌发因子的研究. 哲里木畜牧学院学报. 1997, 7(1): 9~12
- [6] 王晓红, 谭晓风, 王义强. 非洲菊 F1 种子的无菌培养试验. 经济林研究. 2004, 22(2): 42~43