

# 观赏桑树九纹龙组培快繁技术研究

李永兴 姜放军 周小艳 张俊杰

(湖南生物机电职业技术学院,湖南长沙 410127)

**摘要** 利用观赏桑树九纹龙夏季的顶芽进行组织培养,筛选出九纹龙在不同组培阶段的最佳培养基配方,探讨不同发育阶段的培养条件,使试管苗驯化成活率达90%以上。

**关键词** 九纹龙;顶芽;培养基;培养条件

当代园林号称“生态园林”,以植物造景为主,追求植物的多样性,而湖南园林植物种类较少,开发新的园林植物很有现实意义。观赏桑树枝条弯曲盘旋似飞龙行走的九纹龙,在园林树种中特色突出。其枝条独特优美,无论是着叶期还是落叶后,其观赏性都独具特色,折上几枝(去掉皮层)与鲜花搭配插于瓷瓶,别有趣味。若用九纹龙做盆景,能产生“一寸三弯”的艺术效果。另外,桑叶碧绿,桑葚鲜红,既有绿化作用,又可建成观光果园。九纹龙对环境的适应性很强,抗旱、抗寒,耐瘠薄,耐修剪,可培养成中干树形或高干乔木,孤植、成行栽植、片植都能产生强烈的视觉冲击。目前,用常规嫁接法进行繁殖,由于接穗数量少,不易繁殖大量桑苗。运用组培法进行工厂化育苗,国内尚无报道。笔者利用组织培养的方法,实现了对九纹龙的组培快繁,培育出了大批性状稳定的优质桑苗。现将研究结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

九纹龙顶芽。

### 1.2 外植体的采集与消毒

从夏季桑园中选择生长健壮的一年生嫩枝,切取2~3cm顶芽,除去外层包裹的叶片,用洗衣粉洗去表面污垢,自来水冲洗1h以上,置于超净工作台上,用无菌水冲洗2次,75%的酒精消毒30s,取出后再用1%的次氯酸钠溶液消毒8~10min,小心倒去次氯酸钠溶液,然后用无菌水冲洗4~6次,将外植体放在消毒过的接种盘内,用无菌滤纸吸去外植体表面的水分,接入已高压灭菌的MS培养基中,进行预培养,光照强度1500~2000Lx,光照时间8~10h,早晚温差不得超过6℃。

### 1.3 初代培养

接种于MS培养基上的外植体,经10d左右的预培养,选取无污染、粗壮的转接在初代培养基上。培养条件为:温度25±2℃,光照强度1500~2000Lx,光照时间10~12h。培养基配方筛选结果见表1。

当桑树外植体转接2周后,1~4号培养基上的外植体剪口处开始膨大,陆续产生愈伤组织,4周后,苗高1~2cm;2~3号分化率高,达87.5%以上;5号腋芽虽然膨大,但生长缓慢,长势差,且易褐化,其分化率只有47.5%。由此可见,九纹

表1 九纹龙初代培养情况

序号	培养基//mg/L	接种数 个	成活 数量	分化 数量	分化率 %
1	MS+BA0.5+IBA0.5	40	38	30	75
2	MS+BA1.0+IBA0.5	40	40	35	87.5
3	MS+BA2.0+IBA0.5	40	40	37	92.5
4	MS+BA3.0+IBA0.5	40	38	25	62.5
5	MS+BA5.0+IBA0.5	40	35	19	47.5

注:以上培养基均附加蔗糖3%,琼脂6~8g/L,pH值5.8。

龙初代培养基最佳配方为MS+BA(1.0~2.0)mg/L+IBA0.5mg/L。

### 1.4 增殖培养

当初代培养的试管苗长至2cm后,及时进行增殖培养,以达到快繁目的。在增殖培养过程中,培养基附加蔗糖3%,琼脂6~8g/L,pH值5.8。培养条件是:温度25±2℃,光照强度1500~2000Lx,光照时间12~14h,早晚温差不得超过6℃。培养结果见表2。

表2 九纹龙增殖培养结果

序号	培养基//mg/L	接种数 量//个	增殖系数	生长情况
1	MS+BA 2.0+ NAA 0.5	20	1.5	生长迅猛,褐化率高,难以控制
2	MS+BA 1.5+ NAA 0.5	20	4	生长旺盛,每株分化3~5个小芽
3	MS+BA 1.0+NAA 0.5	20	>3.5	生长旺盛,每株分化2~3个小芽
4	MS+BA 0.5+ NAA 0.5	20	0	生长缓慢,矮壮、无分化,后期长势弱

由表2可知,继续转接在初代培养基上的试管苗,在4号培养基中生长缓慢,有的甚至停止生长,增殖系数低,说明此培养基不适合九纹龙的继代培养,必须更换培养基;而1号桑苗生长虽好,但易褐化,增殖倍数低,也不适合增殖培养;2号桑苗不仅生长旺盛,而且具有较高的增殖系数,因此MS+BA 1.5mg/L+NAA 0.5mg/L最适合九纹龙增殖培养。将初代培养获得的小苗,剪成长1cm左右带侧芽的小段,转接在2号培养基上,4周左右,苗高4cm以上,每株可分化出3~5个小芽,增殖倍数达4倍以上,之后每18~20d继代1次,很快获得大批丛生苗。

### 1.5 壮苗与生根

当试管苗增殖到一定规模后,需进行生根培养,使其成为完整植株。

**1.5.1 壮苗。**试管苗在增殖过程中,生长快、分化率高,且激素用量多,苗木较弱,生根时,单株会产生多个桑芽,从而影

(下转第23页)

**基金项目** 湖南生物机电职业技术学院立课题“观赏桑树组培快繁技术研究”。

**收稿日期** 2007-07-23

土壤类型有相关性。本次分析共按土壤类型选出450个样品,进行铜、锌、铁、锰、硼、钼、氯7种微量元素的有效养分分析。分析结果见表1。

表1 各县市区土壤微量元素的有效养分含量统计

(单位:mg/kg)

项目	有效硼	有效锌	有效铁	有效锰	有效铜	有效钼
平均	0.620	0.790	15.420	17.060	1.220	0.086

**2.2.2 微量元素肥料施用中存在的问题。**由于过去几年强调施用锌、硼肥,此次调查中发现,有一部分菜地、果园土壤中的有效锌、有效硼、有效铜含量过高,是平均值的几倍甚至几十倍。土壤中缺乏微量元素,增施微量元素肥料虽然有较好的增产作用,但它也不是万能的,而且微量元素在土壤中的含量范围要求很窄,过量施用必然会引起土壤污染。因此,今后施用微量元素肥料时,一定要做到用量适宜。施用高氯复混肥时要根据作物品种确定适宜用量,避免因不合理施肥带入大量的氯而对作物造成生理性病害。

### 3 调查成果的应用

#### 3.1 普及科学施肥知识,提高全社会科学施肥的素质

目前很多农民每年要施用多种肥料,但对为什么要施用这些肥料、施用多少为宜不清楚。因此,我们通过举办培训班、进行电视、广播讲座、利用科普刊物、印发明白纸等多种形式大力宣传科学施肥知识。通过印发明白纸,结合土壤(上接第21页)

响驯化成活率和苗木的质量。因此,必须对试管苗进行壮苗培养。将试管苗剪成长1cm的带叶小段,转接在培养基MS+BA 0.5mg/L+IBA 0.5mg/L+CCC 4.0mg/L上,3周后苗高达4cm以上,且苗木粗壮,无桑芽分化。

**1.5.2 生根培养。**将壮苗培养的试管苗切除长势较差的叶片,转接在生根培养基上进行生根培养。试验结果见表3。

表3 九纹龙试管苗生根培养情况

序号	培养基//mg/L	接种株数//株	生根株数//株	生根率%	根系发育情况
1	1/2MS	40	34	85	根少、细长
2	1/2MS+NAA 0.5	40	40	100	根多、发达
3	1/2MS+NAA 1.0	40	36	90	根较多、细长

注:1/2MS为大量元素,微量元素用量减半,蔗糖含量2.5%。

由表3可知,2号培养基即1/2MS+IBA/NAA 0.5mg/L,生根率达100%。经试验,转接后10d,从试管苗剪口基部生长出5~7条嫩白色的幼根;20d后,根长达3~5cm,苗高3~4cm,此时为试管苗的驯化适期。

在生根培养基上的试管苗,以1/2MS+NAA 0.5mg/L培养基生根率最高。

**1.5.3 试管苗驯化。**试管桑苗在培养室中处于高温无菌环境,其光合作用能力弱,基本无合成自身所需营养物质的能力,且易受外界病毒因素感染,移出后无法适应外部环境条件,难以成活,必须进行驯化。驯化前,将营养钵下部2/3装上营养土,上部1/3装上新鲜蛭石粉,整齐地摆放在苗床上(营养土、蛭石粉已灭菌)。苗床宽度1~1.2m,长度视温室大小而定。驯化时,将培养瓶移出培养室,放在温室内(遮光

调查成果,搞好科学施肥的试验示范等措施,让农民亲眼看到科学施肥的益处,真正掌握科学施肥技术,全面提高我市的科学施肥技术水平。

#### 3.2 推广配方施肥技术,提高产品质量水平和施肥效益

调查显示,我市大部分土壤缺锌、缺硼,部分土壤缺钾,故补微、增钾及配方施肥的增产、增收效果显著。具体措施:以增施有机肥为主,高产田稳氮、减磷、稳钾肥、增施微肥,中低产田增氮、增磷、因地制宜补施钾肥和微肥。通过举办培训班、召开现场会、散发技术材料等手段,推广测土配方施肥技术。为了让农民得到实惠,看到益处,我们免费为农民化验土壤,再根据土壤化验结果为农民出具配方施肥指导书。

#### 4 效益分析

充分利用本次土壤养分调查成果,加大以增施有机肥、补施钾和补微为主的配方施肥技术推广力度,到2006年底推广面积达6.8万公顷,累计增加1.5亿元的直接收入。

#### 5 问题与建议

(1)需要进一步加强土壤养分临界值试验,在经费许可的情况下,应研究各种主要作物的土壤养分临界值。

(2)应进一步研究黄瓜、西红柿、西葫芦、辣椒等保护地主要蔬菜不同产量水平下的作物需肥量和肥料利用率。

(3)保护地西红柿发生缺钙、缺镁现象比较普遍,应进行钙、镁调查及施肥研究。

50%),打开瓶盖,锻炼2~3d,然后向培养瓶注入少量自来水,使培养基自然降温,从无菌转向有菌环境继续驯化2~3d。最后小心地用镊子将苗取出,用温水洗净试管苗根部的培养基,并浸泡生根液,移栽至浇透水的营养钵中,搭上小拱棚,用遮阳网蔽荫。每天早晚各喷1次水,确保介质内水分和空气相对湿度能满足驯化苗生长的需要,10d后陆续揭去小拱棚,苗木发出新根,梢部长出新叶,然后移栽大田,进行常规管理。驯化成活率达90%以上。

#### 2 结果与讨论

(1)九纹龙组培过程中,所用外植体最好选取一年生的嫩梢,采摘时间宜在晴天上午进行,以降低接种污染率。

(2)九纹龙初代培养基为MS+BA 1.0~2.0mg/L+IBA 0.5mg/L;增殖培养基为MS+BA 1.5mg/L+NAA 0.5mg/L;壮苗培养基为MS+BA 0.5mg/L+IBA 0.5mg/L+CCC 4.0mg/L;生根培养基为1/2MS+IBA/NAA 0.5mg/L。

(3)试管苗生根率达100%,驯化成活率达90%以上。

(4)培养过程中出现了试管苗褐化现象。解决褐化等组培过程中的常见问题,以减少材料浪费、降低培养成本,以便工厂化大规模生产是今后研究的方向。

#### 3 参考文献

- [1] 孙琳霞,李玉红,刘忠坤.桑芽体组培快繁技术的研究[J].广西蚕业,2004,41(2):4-8.
- [2] 郑淑湘,孔令汶.桑树组培叶片不定芽诱变研究[J].蚕业科学,1998,24(4):202-205.
- [3] 卢绪兴,徐军海,刘发余,等.农桑12、14号组培快繁技术研究[J].北方蚕业,2004,25(2):15-16.
- [4] 邱璐,陈善娜.桑树组培快繁中褐化问题的研究[J].云南大学学报,2000,22(1):76-78.