维普资讯 http://www.cqvip.com

辣木组织培养试验

罗云霞[1], 陆 斌[2], 陈 芳[2], 陈 娟[2], 石卓功[1]
(1.西南林学院, 云南 昆明 650224; 2.云南省林业科学研究院, 云南 昆明 650204)

摘 要:辣木种子消毒试验结果表明,用15%H_2O_2浸泡6~8 h、0.1%升汞处理25 min后将种子接种于MS培养基中,10 d后种子发芽率达78.2%。组培试验结果表明,在MS+6-BA 0.10 mg/L+KT 0.50 mg/L培养基中,辣木茎段产生大量不定芽,繁殖系数为6.0倍,芽生长良好;将不定芽切割后接种于MS+6-BA 0.10 mg/L+KT 0.50 mg/L培养基中,增殖倍数可达4.8倍;在1/2MS+IBA 0.1 mg/L培养基中,小苗生根率高达98%,平均单株生根数和根长分别为4.8条和2.0 cm;将生根苗移栽于珍珠岩+营养土(1:2,V/V)的混合基质中,30 d后移栽成活率达80%。

关键词:辣木;组织培养;不定芽;炼苗移栽

中图分类号:Q949.748.5 **文献标识码**:A **文章编号**:1004-874X(2007)06-0036-03

Study on tissue culture of *Moringa Oleifera* Lam

LUO Yun-xia[1], LU Bin[2], CHEN Fang[2], CHEN Juan[2], SHI Zhuo-gong[1]
(1.*Southwest Forestry College, Kunming* 650224, *China*; 2.*Yunnan Academy of Forestry, Kunming* 650204, *China*)

Abstract: The disinfectionn effects of *Moringa oleifera* Lam seeds soaked by 15% H_2O_2 for 6~8 hours, 0.1% $HgCl_2$ for 25 minutes were preferable. And the germination rate of seeds was up to 78.2% after being inoculated on MS media for 10 days. On the media of MS+6-BA 0.10 mg/L+KT 0.50 mg/L, the segment produced lots of adventious buds, the reproductive coefficient was 6.0. On the same media of MS+6-BA 0.10 mg/L+KT 0.50 mg/L, the proliferation multiple of cutted adventious buds reached 4.8. On the media of 1/2MS+IBA 0.1 mg/L, the rooting rate of seedling was up to 98%, the rooting number was 4.8 and length was 2.0 cm. The survival ratio was 80% when rooting seedlings were transplanted on the mixed stroma of pearl stone and nutrition soil (1:2, V/V) for 30 days.

Key words: *Moring oleifera* Lam; tissue culture; adventious buds;acclimatization and transplant

辣木(*Moringa Oleifera* Lam),又称鼓槌树,为辣木科(*Moringaceae*)辣木属(*Moringa Adans*)多年生速生乔木,原产于印度西北部的喜马拉雅山南麓,现广泛种植于亚洲、非洲和中美洲的30多个热带、亚热带国家和地区[1]。辣木用途广、经济价值高,是一种多功能的经济树种,其叶片、果荚、种仁中含有丰富的维生素、纤维、蛋白质以及钙、镁、磷、钾等人体必需矿物质元素[2];其药用价值也很高,叶片中的糖苷类化合物具有降血压功效,果荚可治疗肝、脾疾病和关节炎,树根、树皮、树脂等也可用于某些疾病的治疗。

在辣木原产地,由于资源丰富,通常采用种子育苗和扦插进行繁殖。但是,随着辣木使用功效和潜在市场价值的发现,种植辣木的地区越来越多,传统的种子育苗已不能满足市场需要[2]。为此,开展辣木组培快繁技术研究可以解决引种初期面临的种苗缺乏问题。在辣木组织培养方面,国内仅有一篇相关报道[3];而利用辣木种子产生不定芽的微繁殖,国内外尚未见报道。本研究对辣木的种子消毒方法,以及不定芽诱导、增殖、生根培养基的配方和移栽基质进行了探讨,以期筛选出最佳的种子消毒方法和繁殖培养程序,为辣木的组织培养和快速微繁殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 种子消毒试验

选择饱满无皱缩的辣木种子,去除纸质白翼,用清水洗净、15%H_2O_2浸泡6~8 h后,采用不同消毒方法(0.1%升汞25 min、0.2%升汞20 min、饱和漂白粉溶液

收稿日期:2007-04-07
基金项目:云南省国际合作项目(2004GH07)
作者简介:罗云霞(1981-),女,在读硕士生
通讯作者:陆斌(1966-),男,研究员,E-mail:LuBin29@sina.com

维普资讯 http://www.cqvip.com

20 min、75%酒精 0.5 min+0.1%升汞 25 min、5%高锰酸钾 25 min)进行消毒。消毒灭菌后在无菌操作台上用无菌水冲洗种子 4~5 次(每次 5 min),然后用干燥无菌滤纸吸干表面水分,最后将种子接种于 MS 培养基(每升附加蔗糖 30 g、琼脂 6 g,pH 值为 5.8)中,接种后置于培养室(自然光照、室温)中培养。每个处理 3 次重复,每个重复 30 瓶以上,每瓶接种 1 粒种子。接种后 10 d 调查种子的污染率、死亡率和发芽率。

1.2 诱导培养试验

1.2.1 不同激素种类诱导培养试验 以 MS 培养基为基本培养基,设 6-BA、NAA、KT (均设 0.2、0.5、0.8 mg/L 等 3 个浓度)不同激素种类处理,将种子发芽得到的无菌苗切成 2 段接种于同一个培养瓶中,培养条件同 1.1。每个处理 3 次重复,每个重复 30 瓶,每瓶接种 2 段。接种后 15 d 调查不定芽的繁殖系数芽和长。

1.2.2 不同激素配比诱导培养试验 根据预处理试验结果和相关资料[2],将辣木无菌苗茎段接种于添加了不同激素配比 (NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.10 mg/L+KT0.50 mg/L、NAA0.20 mg/L + 6-BA0.20 mg/L+KT1.50 mg/L、6-BA0.10 mg/L+KT0.50 mg/L、NAA1.00mg/L+6-BA0.50 mg/L+ KT5.00 mg/L、NAA0.50 mg/L + 6-BA 1.00 mg/L + KT5.00 mg/L)的 MS 培养基中培养,接种方法和培养条件同 1.2.1。每个处理 3 次重复,每个重复 30 瓶,每瓶接种 2 段。接种后 15 d 调查愈伤组织和不定芽的生长情况,统计繁殖系数。

1.3 增殖培养试验

将诱导的单芽或丛生芽切割后接种于增殖培养基中,增殖培养基的设置同 1.2,培养条件同 1.1。每个处理 3 次重复,每个重复 30 瓶,每瓶接种 4 个芽。接种后 15 d 统计芽的增殖倍数。

1.4 生根培养试验

将增殖形成的 1~2 cm 的健壮小苗接种于分别添加了 IBA、NAA (均设 0.05、0.10、0.20、0.50 mg/L 等 4 个浓度)的 1/2MS 培养基(每升附加蔗糖 15 g、琼脂 6 g,pH 值为 5.8)中,培养条件同 1.1。每个处理 3 次重复,每个重复 30 瓶,每瓶接种 4 株小苗。接种后 15 d 统计生根率、单株生根数和根长。

1.5 移栽试验

将辣木生根苗置于露天炼苗 7 d 后取出,用自来水洗净根部琼脂,然后用 50%多菌灵 1 000 倍液浸泡 20 s,用湿毛巾吸干表面水分后移栽于经消毒的珍珠岩+营养土(1:2,V/V)混合基质中,移栽后 30 d 统计小苗成活率。

2 结果与分析

2.1 种子消毒试验

从不同消毒方法对辣木种子的消毒效果(表 1)可见,5 种消毒方法均能达到一定的消毒效果。其中,饱和漂白粉溶液 20 min 处理和 5%高锰酸钾 25 min 处理的种子污染较严重,污染率分别达 53.2%和 38.9%,种子周围出现一层白色不透明的物质,据观察是种子内部的分泌物感染细菌后引起的;升汞消毒处理的种子污染较轻,0.2%升汞 20 min 处理和 75%酒精 0.5 min+0.1%升汞 25 min 处理的污染率仅为 11.2%和 9.4%、但死亡率却高达 31.8%和 50.0%,而 0.1%升汞 25 min 处理的种子发芽率较理想,达 78.2%。说明辣木种子消毒采用 0.1%升汞处理 25 min 较适宜。

2.2 诱导培养试验

表 1 不同消毒方法对种子的消毒效果

处 理	种子总数(粒)	污染数(粒)	死亡数(粒)	发芽数(粒)	污染率(%)	死亡率(%)	发芽率(%)
0.1%升汞 25min	108	17	6	85	16.4	5.4	78.2
0.2%升汞 20min	108	12	34	62	11.2	31.8	57.0
饱和漂白粉溶液 20min	108	57	11	40	53.2	10.1	36.7
75%酒精 0.5min+0.1%升汞 25min	108	10	54	44	9.4	50.0	40.6
5%高锰酸钾 25min	108	42	21	45	38.9	19.4	41.7

2.2.1 不同激素种类对辣木不定芽诱导的影响 据观察,同一株苗的上段茎尖诱导出的腋芽在接种后 5 d 开始萌动,下段茎段在接种后 3 d 开始膨大、产生少量愈伤组织,接种后 10 d 愈伤组织长出大量不定芽,既有单芽,也有丛生芽。从接种后 15 d 的诱导结果(表 2)可知,随着 6-BA 浓度的提高,不定芽的繁殖系数也不断提高,当 6-BA 浓度为 0.8 mg/L 时繁殖系数高达 5.44 倍;随着 NAA 和 KT 浓度的提高,不定芽的繁殖系数逐渐降低,最高时也不到 3 倍。从表 2 还可看出,6-BA 对促进不定芽伸长的作用比 NAA 和 KT 略差,说明 6-BA 有利于不定芽的增殖,而 NAA 和 KT 更有利于不定芽的伸长。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 2 不同激素种类对辣木不定芽诱导的影响

激素种类	浓度(mg/L)	繁殖系数(倍)	芽长(cm)
6-BA	0.2	1.48	1.36
	0.5	4.84	1.25
	0.8	5.44	1.08
NAA	0.2	2.93	1.33
	0.5	1.96	1.34
	0.8	1.09	1.59
KT	0.2	2.07	1.31
	0.5	1.59	1.49
	0.8	1.03	1.51

注:繁殖系数=诱导后芽数/诱导前芽数

2.2.2 不同激素配比对辣木不定芽诱导的影响 将辣木茎段接种于添加了不同激素配比的 5 种培养基中,培养 3 d 后基部开始肿大并产生少量愈伤组织,接种后 15 d 各培养基处理的愈伤组织都很明显,且均诱导出不定芽。其中,6-BA0.10 mg/L+KT0.50 mg/L 处理的诱导效果最好,繁殖系数达 6.0 倍,愈伤组织出现最早、而且较疏松,芽伸长不明显,丛芽明显;NAA0.05 mg/L+6-BA0.10 mg/L+KT0.50 mg/L 处理和 NAA0.50 mg/L+6-BA 1.00 mg/L+KT5.00 mg/L 处理诱导不定芽的效果较明显,繁殖系数分别为 4.2 倍和 3.5 倍,丛芽明显;而 NAA0.20 mg/L+6-BA0.20 mg/L+KT1.50 mg/L 和 NAA1.00 mg/L+6-BA0.50 mg/L+KT5.00 mg/L 诱导不定芽的效果最差,繁殖系数仅为 3.0 和 3.5 倍,芽伸长不明显,丛芽也不明显。

2.3 增殖培养试验

试验采用添加了不同浓度 6-BA、NAA、KT 的培养基进行辣木不定芽的增殖培养,结果表明,NAA 和 KT 对芽增殖的影响不明显,同时添加这 2 种激素的培养基的芽增殖倍数均不足 3 倍,而 6-BA 浓度为 0.80 mg/L 时芽的增殖倍数最高,为 4.5 倍。试验结果表明,适于辣木不定芽继代增殖的培养基为 MS+6-BA0.10 mg/L+KT0.50 mg/L,增殖倍数可达 4.8 倍,这与不定芽诱导的最佳培养基配方相同,大大简化了组培程序,降低了辣木组培的成本。

2.4 生根培养试验

由表 3 可以看出,当 IBA 浓度为 0.10 mg/L 时,辣木小苗的生根率最高(98%),且主根白色、粗壮,单株生根数达 4~5 条,平均根长为 2.0 cm;在添加了 NAA 的培养基中,小苗的生根率随 NAA 浓度的提高而降低,生根率仅为 40%~80%,单株生根数为 1.7~2.3 条,不利于移栽成活。

表 3 不同激素种类对辣木生根诱导的影响

激素种类	浓度(mg/L)	生根率(%)	单株生根数(条)	根长(cm)
IBA	0.05	82	5.9	1.8
	0.10	98	4.8	2.0
	0.20	85	2.5	1.8
	0.50	81	7.2	1.1
NAA	0.05	80	2.3	1.4
	0.10	75	2.2	1.8
	0.20	50	1.8	0.7
	0.50	40	1.7	0.5

2.5 移栽试验

将生根苗露天炼苗 7 d 后,移栽于珍珠岩+营养土(1:2,V/V)混合基质中,30 d 后移栽成活率达 80%。

3 结论与讨论

本研究结果表明,辣木种子消毒的最佳方法是 15%H_2O_2 浸泡 6~8 h 后再用 0.1%升汞浸泡 25 min,发芽率可达 78.2%;辣木不定芽诱导和增殖培养都可采用 MS+6-BA0.10 mg/L+KT0.50 mg/L 培养基,繁殖系数和增殖倍数分别达 6.0 倍和 4.8 倍,形成不定芽所需的时间短,且丛生芽数量多、质量高,由于辣木不定芽生长非常迅速,营养消耗也快,建议 20 d 左右更换 1 次培养基;适于辣木小苗生根的培养基为 1/2MS+IBA 0.10 mg/L,生根率达 98%,单株生根数达 4.8 条。在本试验中,辣木的移栽成活率还不太理想,主要是辣木的根比较细弱,在清洗和移栽过程中极易受损。本试验采用珍珠岩+营养土(1:2,V/V)混合基质进行移栽,成活率高(80%),效果较好。

本试验借鉴了其他植物组织培养的技术和经验[4-5],探讨了辣木组织培养中各环节的激素种类、浓度及其配比,但有关外植体类型、培养基选优、继代增殖有关途径等问题仍有待进一步探讨。

参考文献:

[1] 卢重镇.辣木——生命之树[M].台湾:华香园出版社,2003.

[2] 陈惠民,周佳莹.植物中的钻石——高经济价值的辣木[M].台湾:商周出版社,2005.

[3] 黎国运,李大周.辣木组培育苗技术研究总结[J].热带林业,2006,3(1):31-31.

[4] Zhang X S, George E F.Hormonal regulation of post pollination development of Dorit aeinopsis flowers by auxin and ethylene[J].Acta phytophysiolgica sinica,1995,25(2):21-28.

[5] 龙春林,程治英.大野芋种子形成丛生芽的微繁殖[J].云南植物研究,2005,27(3):327-330.