

不同激素处理对山苍子雄性离体再生植株快繁的影响

李怀情, 赵佐敏, 艾勇, 王政棉, 冷云星, 鲍菊

(贵州省安顺市农业科学研究所, 561000)

摘要: 用大叶山苍子成年雄株带芽茎段为外植体, 研究不同激素种类和配比对山苍子离体培养及再生植株快繁的影响效果。结果表明: 以MS + 6-BA 2.0 mg/L + 2,4-D 1.0 mg/L培养基适于带芽茎段愈伤组织的诱导分化, 分化率达62.5%; 以MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L培养基适于芽苗增殖, 增殖倍数为5.3; 最佳生根培养基为1/2 MS + IAA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L + TA 2.0 mg/L, 生根率达83.3%。

关键词: 山苍子; 离体培养; 植物激素

山苍子属樟科木姜子属, 为优良的本本芳香油料和药材树种。其果实蒸馏所得的山苍子精油广泛应用于食品、医药、化妆品等化工、轻工及环保行业中。山苍子为雌雄异株植物, 传统栽培以种子繁殖为主, 但出苗率极低, 且幼苗期雌雄株难辨, 给生产上按合理的雌雄比例(10:1)配植带来了困难。应用生物组培技术建立山苍子雌雄两性离体再生体系并分圃繁育雌雄两性组培植株, 不仅可解决上述问题, 而且有效加快山苍子的种苗繁育。本试研究了不同的激素处理对山苍子雄株离体培养和植株再生的影响, 现将结果报道如下。

1 材料与方 法

以MS和1/2 MS(生根培养)为基本培养基。按不同阶段培养基激素配比设计, 附加不同浓度的6-BA(6-苄基腺嘌呤)和IAA(吲哚乙酸)、IBA(吲哚丁酸)、NAA(奈乙酸)和TA(三十烷醇)等植物激素。各类培养基均采用0.7%琼脂和3%白糖, PH值调至5.8~6.0, 并于121℃下灭菌18分钟, 放置备用。

1.1 外植体消毒、接种与诱导培养

采用大叶山苍子雄株当年生枝带芽茎段作为外植体, 把枝段剪成1~2 cm长的节段, 在流水中冲洗20分钟, 然后在超净工作台上用75%的酒精棉球擦试, 再用10%次氯酸钠溶液表面灭菌30~40分钟, 其间更换1次次氯酸钠消毒液, 然后用无菌水洗外植体2~3次, 最后把枝段放置在带有灭菌滤纸的培养皿中吸干水分, 然后剥取带芽茎段(0.3~0.5 cm)接种于诱导培养基中(见表1处理1~5), 每瓶接种1个外植体, 每处理接种15瓶。接种后观察外植体萌动及愈伤诱导、分化与生长情况。

1.2 丛芽增殖培养

将从芽苗切成单株或株丛、腋芽苗切成带2~3个叶片的节段接种到增殖培养基(见表1处理6~10)上, 每处理接种40株。各处理中接种丛芽和切段的质量和数量相同, 40天后统计芽苗增殖倍数。

1.3 试管苗生根培养

将增殖培养基中高2 cm以上的芽苗切成单株接种到生根培养基(见表1处理1~15)上, 所有处理接种的试管苗均来源于同一增殖培养基。35天后统计试管苗生根率, 观察试管苗生根诱导过程中的发根情况。



表1 不同培养阶段培养基激素组合处理配方

处理	培养基		激素组合 (mg/L)						
	阶段	培养基	6-BA	2.4-D	TA	IAA	IBA	NAA	AC
1		MS							
2	诱导 培养	MS	2.0	0.5					
3		MS	2.0	1.0					
4		MS	2.0					0.1	
5		MS	3.0					0.1	
6		MS	0.5					0.1	
7	增殖 培养	MS	1.0				0.1		
8		MS	1.5				0.2		
9		MS	2.0					0.01	
10		MS	2.0					0.05	
11		1/2MS							
12	1/2MS			2.0					
13	1/2MS			2.0					0.3
14	生根 培养	1/2MS			0.5	0.5			
15		1/2MS			2.0	0.5	0.5		

1.4 培养条件

培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ ，每天光照14小时，强度为2000~3000lx。在诱导启动培养阶段，先暗培养2周后再转为光培养。而生根培养阶段，则先暗培养1周再转为光培养。

1.5 驯化移栽

已诱导生根的试管苗在室外散射光下炼苗5~7天后即可移栽。而对于只有根原基而未生根的试管苗，则要在浓度为100~200 mg/L的NAA和IBA溶液中浸基部5分钟后再栽植。移栽基质为腐殖土，栽前用多菌灵伴土消毒，并制作成宽1.2 m的厢床。栽后浇足定根水，并盖薄膜保湿，晴天盖遮阳网遮荫。当棚温达 30°C 以上时，要揭膜喷雾水以降温，10天后逐步去膜与遮阳网。

2 结果与分析

2.1 对外植体萌动及愈伤组织诱导的影响

将外植体(带芽茎段)接种于诱导分化培养基中，7天后芽体开始萌芽，芽萌动率在73.3%~86.6%之间。从表2可见，不同激素配比外植体萌动率差别不明显，说明在诱导时外植体主要是消耗体内原有营养进行抽芽。经暗培养15天后，处理3、处理4和处理5的外植体切

口处出现膨大，茎皮开始形成愈组织。培养20天后，对照材料开始出现愈伤组织，但产生愈伤组织的外植体少，只有26.6%，且愈伤体积也小，只有茎段两端伤口处产生少许。处理3萌发愈伤时间最早，生长速度最快，愈伤诱导数量也多，诱导率最高达53.3%，但愈伤组织块较小。处理4的愈伤情况与处理2类似，处理5愈伤组织块最大，但数量较小，说明高浓度激素组合开始发生愈伤组织的时间比低浓度发生的时间短。

2.2 对愈伤组织分化的影响

将在诱导培养基(处理1~5)中产生的愈伤组织转入光培养后，乳白色愈伤组织逐渐转成浅绿色，继续培养20天，愈伤组织开始萌动，并逐渐产生绿色小芽点，经60天培养，出现丛生芽，形成上长芽、下长愈伤组织的状态。在所有处理中，以处理5的愈伤分化率最高，达

表2 MS培养基不同激素处理对山苍子愈伤组织诱导与分化的影响

处理	愈伤组织诱导与分化			愈伤诱导情况
	萌动率 (%)	愈伤诱导率 (%)	愈伤分化率 (%)	
1	80.0	26.6	0	切口处产生少量白色愈伤
2	80.0	40.0	60.0	愈伤体积小、乳白色
3	86.6	53.3	62.5	乳白至浅绿愈伤、颗粒状
4	80.0	46.6	60.0	乳白色、结构较紧密、团状
5	73.3	40.0	71.4	浅黄色、较疏松、团状

71.4% (见表2)，其次为处理3。处理5芽苗多，但较细长，以处理3芽苗粗壮。综合愈伤诱导、分化及芽苗长势，以处理3 (MS + 6-BA 2.0 mg/L + 2.4-D 1.0 mg/L) 较适于山苍子外植体丛芽分化。

2.3 对山苍子试管芽苗增殖的影响

将诱导分化的丛芽切成单株或株丛(2~3芽)接种于增殖培养基(处理6~10)中，培养10天后，在基部切口处逐渐产生白色愈伤组织，同时丛芽开始伸长和加

表3 MS培养基不同激素处理对山苍子芽苗增殖的作用

处理	增殖倍数			有效苗率 (%)	芽苗生长情况
	愈伤丛苗	腋芽苗	合计		
6	1.0	2.8	3.8	92.5	茎粗、叶绿、苗壮
7	1.5	2.5	4.0	90.5	叶绿、苗壮
8	2.3	1.5	3.8	87.5	长势一般
9	3.8	1.5	5.3	90.0	长势好
10	3.2	1.3	4.5	75.5	茎叶细小、基叶黄绿

粗生长,大苗叶腋间会萌发产生子芽,随愈伤组织块的发育增大,新生的愈伤开始分化绿色小丛芽,从表3显示,此阶段丛芽的再生增殖存在腋芽萌发和愈伤分化两种途径,以6-BA (0.5~2.0 mg/L) 与 IBA (0.1~0.2 mg/L)、NAA (0.01 mg/L、0.05 mg/L) 组配均能使愈伤不定芽增殖,同时产生愈伤苗和腋芽苗,在细胞分裂素6-BA 较低浓度的处理6~7中,产生的腋芽苗比例大于愈伤苗,当6-BA 浓度大于1.5 mg/L时,愈伤苗分化占主导地位,愈伤苗增殖达2.3~3.8倍,以处理9 (MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L) 的愈伤和腋芽总体增殖倍数5.3最高。同时随6-BA、NAA 浓度增加,产生的丛苗较细小,弱苗比例增高,有效苗率降低,以处理10有效苗率最低,为75.5%,当6-BA 为0.5~1.0 mg/L时,以腋芽增殖为主,有效苗率较高,达92.5%。处理9的浓度配比有效苗率达90%,幼苗长势好,增殖倍数高,适于作山苍子增殖培养。

2.4 对试管苗生根的影响

将2~3 cm高的山苍子无根试管苗接种于生根培养基 (处理11~15) 中。从表4可见,不同种类和组合的

表4 1/2MS 培养基不同激素处理对试管苗生根的影响

处理	生根率 (%)	每株根数 (条/株)	成苗天数 (天)	根系生长情况
11	23.3	1.1	38	发根慢、浅黄色、根长1cm以下
12	66.7	4.0	32	发根较快、根白色、根长2cm以上
13	73.3	5.0	32	根粗壮、白色、根长1~2cm
14	76.7	5.3	30	根粗壮、白色
15	83.3	6.2	28	发根快、根粗长 (2~3cm) 白色

生长素能促进试管苗的根诱导,使生根率达66.7%~83.3%,远高于不加生长素的1/2MS 对照培养基 (23.3%)。在每株根数上也存在优势,达4根/株以上。同时还缩短了试管苗成苗天数,平均30天成苗,因此可降低室内培养成本和缩短育苗周期。添加TA 2.0 mg/L 的培养基试管苗生根最早,7天后可见根原基突起。而不加生长素的培养基,生根最慢,一般要15天以后才陆续看见根芽,且根短,生长速度慢。处理13分别添加TA 2.0 mg/L 和0.3% AC (活性炭),能使根粗壮,苗强健,生根效果与分别添加0.5 mg/L 的 IAA 和 IBA 培养基相当。处理15 (MS + TA 2.0 mg/L + IAA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L) 发根快,根粗长 (2~3 cm),各项指标均优于其它处理。这说明TA 与 IAA、IBA 三者协同作用,最有利于促进山苍子试管苗生根。

3 结论

以山苍子成年雄株带芽茎段为外植体诱导植株再生,丛芽的增殖存在愈伤分化和腋芽萌发两种方式,要提高试管苗繁殖系数,应以愈伤分化丛芽为主要增殖途径。但芽苗的繁殖系数与成苗质量存在一定程度的负相关,在大量继代扩繁过程中,要根据试管苗的质量和繁殖倍数,酌情调整细胞分裂素和生长素的配比,合理调整增殖倍数,提高试管苗有效苗率。本试验以山苍子雄株带芽茎段为外植体,取材范围广,易于选同类型材料进行试验研究。通过不同激素组合配比试验,山苍子外植体最佳分化培养基为MS + 6-BA 2.0 mg/L + 2, 4-D 1.0 mg/L,最佳增殖培养基为MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L。生根培养基以1/2 MS + IAA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L + TA 2.0 mg/L 最好,生根率达83.3%。

三系杂交水稻不育系 Q2A 通过广东省技术鉴定

2008年6月12日,由我院水稻所和重庆中一种业有限公司育成的三系杂交水稻不育系Q2A,在广东梅州市通过了由广东省种子管理总站组织的专家技术鉴定。通过对该不育系的田间考察、室内检测、听取汇报及答疑论证后,专家组一致认为Q2A 株型较好,叶色深绿,剑叶直立,穗大粒多,农艺性状整齐一致,遗传性状稳定,不育度高,配合力强,综合性状优良,具有较好的生产应用前景。Q2A 在广东省通过技术鉴定,为我院杂交水稻新组合今后在广东省的审定打下基础,也为我院开拓广东省早晚稻市场打开通道。

(重庆中一种业有限公司 隗华军)