

光叶楮组织培养和快速繁殖技术的研究

曹帮华^{1,2}, 宋丽红¹, 刘欣玲¹

(1. 山东农业大学林学院, 山东 泰安 271018;

2. 教育部北京林业大学森林培育重点实验室, 北京 100083)

摘要:本文以光叶楮为试验材料,研究了不同激素及其组合对外植体快速繁殖及诱导生根的影响,结果表明:MS + 6-BA_{1.5}mg/L + NAA_{0.5}mg/L为最佳增殖培养基,繁殖系数为3.4,平均芽高为4.0cm,且生长快、芽苗质量高;1/2MS + NAA_{0.3}mg/L为最佳生根培养基,生根率为72%,根系质量好;在移栽试验中发现,移栽基质以蛭石比珍珠岩更好,炼苗成活率达到88%。

关键词:光叶楮;组织培养;快速繁殖;生根率;炼苗

中图分类号:Q945.52

文献标识码:A

光叶楮(*Broussonetia papyrifera*)是1997年引进的纸浆材树种。落叶乔木,属桑科构树属,速生、适应性极强,栽培容易。喜光、耐干旱、耐盐碱,在丘陵、河滩等瘠薄土地生长良好。光叶楮用途广泛,当年种植,当年收获,可连年收获。适合造纸,树皮可生产特种纸。另外,树叶中粗蛋白的含量高,Ca, P, Zn, Fe, Mn, Cu等微量元素和氨基酸的含量丰富,是动物和鱼的优质饲料原料,发展前景广阔^[1]。

光叶楮根繁殖较为容易,但这会严重伤害母株,且扦插繁殖困难,组培再生植株研究已见报道,但组培快速繁殖技术的系统研究尚未见到报道。本文对光叶楮组培快繁及移栽技术进行了系统研究,提出了光叶楮微体快速繁殖优化程序,为光叶楮的工厂化育苗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 无菌培养物的建立

供试材料为日本光叶楮。取春天萌发的新芽作为外植体,将剪好的茎段放入无菌的小烧杯中先用70%的酒精处理,无菌水冲洗2~3次;再用0.1%升汞(加土温)处理,无菌水冲洗3~5次,把冲洗后的材料放到有滤纸的培养皿中,让滤纸吸干材料表面的水分,用剪刀剪掉茎段两头与药液接触的部分,然后把茎段剪成1.5~2cm左右的小段,最后把剪好的茎段接种到已灭菌的启动培养基上,建立无菌培养材料。

1.2 试验方法

1.2.1 芽的增殖

基本培养基为MS + Sucrose₃₀g/L + Agar₇g/L, pH值为5.8,附加不同浓度的6-BA与NAA。采用正交试验设计,共设9个处理,每个处理3次重复,30d后调查芽的增殖和嫩梢生长情况。

繁殖系数是衡量扩繁能力的一个指标,可采用不同的计算方法。方法1是以一个茎段在一定的代数内所形成的茎节的总数,即以潜在的新植株数来计算的^[2]。方法2是采用三个增殖系数Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ,Ⅰ即从一个外植体芽上产生的新芽数,Ⅱ即从一个外植体上产生的多于3个节的芽,Ⅲ即从一个外植体芽上一共新产生

的节数^[3]。这种方法对于以丛生芽繁殖的材料很适合。本试验采用方法 2 中繁殖系数 I 统计由一个外植体增殖的芽数。

1.2.2 诱导生根

基本培养基为 1/2MS,附加不同浓度的 NAA 和 IBA,其浓度分别为 0,0.1,0.3,0.5 mg/L,共设 7 个处理,每个处理 5 次重复。

1.2.3 炼苗移栽

移栽前将生根组培苗移入温室,在自然光下闭口炼苗 2~3d,再置于阴凉通风的拱棚内敞开瓶口炼苗 2~3d,然后将生根苗移出瓶外,洗去残留的培养基,移栽到不同基质中,基质在 100℃烘箱中 1h,高温灭菌,冷却后用塑料盘盛装,插前先用自来水浇透基质,压实后插入苗,将基部压实。移栽过程不时进行喷雾,防止小苗失水萎焉。移栽完毕后,将苗盘放在塑料棚中保湿,以后每天喷雾以保持基质和空气湿润,5d 后打开塑料棚,继续喷雾保湿。15d 后统计成活率和发根率。

1.2.4 培养条件

接种后试管苗放在培养室里培养,每天光照 12h,光强 1200Lx,温度保持在 25~28℃。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的 6-BA 和 NAA 配合使用对繁殖系数和芽平均长度的影响

表 1 不同处理对光叶楸繁殖系数和嫩梢生长的影响

Table 1 Effects of different treatments on modulus of propagation and seeding height of *B. papyrifera*

试验号		6-BA 浓度	NAA 浓度	繁殖系数	苗高
No. of test		6-BA concentration(mg/L)	NAA concentration(mg/L)	Index of propagation	Seedling height(cm)
1		1(0.5)	1(0.1)	2.2	1.5
2		1(0.5)	2(0.5)	2.4	3.6
3		1(0.5)	3(1.0)	2.1	1.6
4		2(1.0)	1(0.1)	2.6	2.4
5		2(1.0)	2(0.5)	2.3	4.2
6		2(1.0)	3(1.0)	2.5	2.8
7		3(1.5)	1(0.1)	3.8	2.8
8		3(1.5)	2(0.5)	3.4	4.0
9		3(1.5)	3(1.0)	3.36	3.2
繁殖系数	K_1	6.7	8.6	因子:主→次 6-BA→NAA 最佳组合:6-BA(1.5mg/L) + NAA(0.1mg/L)	
	K_2	7.4	8.1		
	K_3	10.56	7.96		
	R	1.29	0.21		
苗高	K_1	6.7	6.7	因子:主→次 NAA→6-BA 最佳组合:6-BA(1.5mg/L) + NAA(0.5mg/L)	
	K_2	9.4	11.8		
	K_3	10.0	7.6		
	R	1.1	1.7		

从表 1 中可以看出,激素对芽增殖的影响以 6-BA 的极差 R 为最大。芽增殖系数随着 6-BA 的浓度的增加而增大,当 6-BA 为 1.5mg/L 时,繁殖系数达到最大为 10.56;从 6-BA 和 NAA 配合使用对繁殖系数和芽平均长度的影响的正交直观分析图(图 1)中也可以看出,6-BA 浓度为 1.5mg/L 时,繁殖系数达到最大。对芽平均长度影响以 NAA 的极差 R 最大,且芽的平均长度随着 NAA 浓度的增大而增大,但当达到一定程度后便开始减小,NAA 为

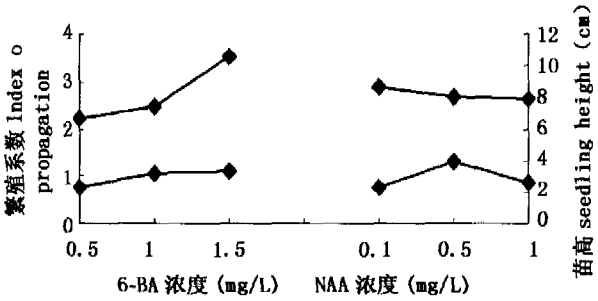


图 1 激素对繁殖系数和苗高影响的正交直观分析图

0.5mg/L时,芽高度为 11.8cm,从正交直观分析图也可以看出,NAA 浓度为 0.5mg/L 时,嫩梢长度最大。

2.2 诱导生根

诱导生根是木本植物组织培养苗木的关键问题,本试验以 1/2MS + 蔗糖 30g/L + 琼脂 7g/L,比较不同浓度的 IBA,NAA 对生根的影响,选出最适合日本光叶楮生根的激素种类和浓度,试验结果见表 2。

表 2 不同处理对光叶楮试管苗生根的影响

Table 2 Effects of different treatments on test-tube plantlet rooting of *B. papyrifera*

试验号	激素处理	生根率(%)	根的生长情况
No. of test	Treat of hormone	Rooting rate (%)	Growth of root
1	0	4	发根很少,几乎没有
2	NAA _{0.1mg/L}	24.5	根从下端试管苗茎上长出,根较少,有根毛
3	NAA _{0.3mg/L}	72	生根个数较多,根系粗壮,有根毛,根系质量高
4	NAA _{0.5mg/L}	45	愈伤组织大,根从愈伤组织上发出,根很少,根特短
5	IBA _{0.1mg/L}	18.5	根较细,无次级根
6	IBA _{0.3mg/L}	30	根细,基本无次级根和根毛
7	IBA _{0.5mg/L}	75	试管苗根数较少,平均 2.3 个,根细长且有根毛

从表 2 中可以看出,不同培养基对光叶楮试管苗生根影响较大。没用激素处理的试管苗生根率很低。用 NAA 处理的试管苗,生根率随着 NAA 浓度的增大而增大,当达到一定浓度后,生根率反而随着 NAA 浓度的增大而减少,以 NAA 浓度为 0.3mg/L 时生根率最高,平均生根数达到 5.8,且根粗壮,须根较多而长,根系质量高。以后随着 NAA 浓度的增大根长变短变粗,NAA 主要在不定根的分化阶段起作用,根原基形成以后浓度过高会抑制根的生长发育。生根率随着 IBA 浓度的增大而增大,以 0.5mg/L 最高生根率达到 75%,但是总体看来,用 IBA 处理的试管苗根细,数量较少,根系质量不高。

2.3 试管苗移栽

试管苗移栽成活情况见表 3,由表中可以看出,2 种激素处理的生根试管苗在珍珠岩中的移栽成活率都比在蛭石中的成活率低,生长状况也不好,叶片失水严重,有萎蔫现象,苗木生长不好。而移栽到蛭石中的幼苗生长良好,移栽后 20d,试管苗长高 2~4cm,叶片明显长大,在埋入基质中的茎上又长出 1~2 条新根,根长 1~3cm,原来生的根又伸长 1~2cm。造成这种结果可能与珍珠岩和蛭石保水性不同有关,珍珠岩保水性不如蛭石,不能为幼苗提供充足水分,导致幼苗萎蔫死亡。调查成活率还发现,经过 NAA 处理的试管苗成活率较高,可达到 88%,而用 IBA 处理的试管苗移栽成活率较低,这可能因为 NAA 处理的试管苗有次级根和根毛,根系质量高可以为幼苗从基质中吸收充足的水分和营养有关。

表 3 不同基质对光叶楮试管苗移栽后成活率的影响

Table 3 Effects of different growth medium on test-tube plantlet of *B. papyrifera*

试验号	不同激素处理下的生根试管苗	基质	成活率(%)
No. of test	Rooted plantlets of different hormone treat	growth medium	survival rate
1	NAA _{0.3mg/L}	珍珠岩 perlite	42
2	NAA _{0.3mg/L}	蛭石 vermiculite	88
3	IBA _{0.5mg/L}	珍珠岩 perlite	24
4	IBA _{0.5mg/L}	蛭石 vermiculite	56

3 结论与讨论

在组织培养中,生长素类物质的主要作用是促进试管苗新梢生长,诱导外植体产生愈伤组织及促进培养组织的延伸生长。细胞分裂素类物质的主要作用是促进细胞的分裂和分化,诱导胚状体和不定芽的形成^[4]。

在离体条件下器官的诱导并不是由某些物质的绝对浓度所决定,而是为那些参与分化物质间的比例关系所决定^[5]。当 BA 与 NAA 的比例低时有利于愈伤组织的形成和芽的生长,比例高时有利于芽分化。为确立光叶楮快速繁殖的适宜培养基,试验设计了不同浓度 BA 和 NAA 的组合,找出了 MS + 6-BA_{1.5mg/L} + NAA_{0.5mg/L} 为最佳增殖快繁培养基,繁殖系数为 3.4,平均芽高为 4.0cm 且生长快,芽苗质量高。

从移栽的角度考虑,应选择能诱导光叶楮试管苗生根数量多,根系质量较高的 1/2MS + NAA0.3mg/L 作为生根培养基;而扦插基质则选择保水性好的蛭石,经过 NAA 处理的生根苗在蛭石中的移栽成活率达到 88%。

参考文献:

- [1] 雷晓春,陈嘉川.速生纸材新品种——光叶楮[J].中华纸业.2003,5:55-56.
- [2] Kovac J. Micropropagation of *Actinidia kolomikta* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1993, 35(3): 301-303.
- [3] Grazia Marino, Gianpaolo Bertazza. Micorpropagation of *Actinidia deliciosa* cvs 'hayward' and 'Tomuri' [J]. Scientia Horticulturae, 1990, 45: 65-74.
- [4] 杨增海.园艺植物组织培养[M].北京:中国农业科技出版社,1996.104-108.
- [5] 韦三立.花卉组织培养[M].北京:中国林业出版社,2001.

Study on the tissue culture and rapid propagation of *Broussonetia papyrifera*

CAO Bang-hua^{1,2}, SONG Li-hong¹, LIU Xin-ling¹

(1. Forestry College of Shandong Agricultural University, Tai'an 271018; 2. Key Laboratory of

Siliviculture and Forest Conservation of Ministry of Education, Beijing Forest University, Beijing 100083)

Abstract: *Broussonetia papyrifera* were regarded as test materials in this paper. This test studied the influence of different kinds and different concentration of hormone on the tissue culture rapid propagation of *B. papyrifera*. The results shows: MS + 6-BA_{1.5 mg/L} + NAA_{0.5 mg/L} is the best optimum medium, the modulus of propagation arrived at 3.4, the average seeding height is 4.0cm, and the seedling grow fast, the bud shoot is high in quality; when the rooting index reached 72% in rooting medium of 1/2MS + NAA 0.3 mg/L, the root system is of high quality; Plantlets from test tube grew better on the growth medium vermiculite than on perlite in acclimatization stage, the survival rate reached 88%.

Key words: *Broussonetia papyrifera*; tissue culture; rapid propagation; rooting rate; acclimatization