

桑树侧芽的组培快繁技术初探

董晓鸣 (盐城生物工程高等学校生物工程系, 江苏省盐城市 224051)

“育71-1”是中科院蚕桑研究所育成的一个桑树新品种, 具有桑叶产量大、粗蛋白含量高、抗性强、农艺性状优良等特点。近年来在盐城地区得到大力推广, 其桑苗需求量日益增大。而传统的繁殖方法主要是嫁接法和扦插法, 这两种方法一是周期长、占地费时、繁殖指数低; 二是质量较差, 不能脱毒且易患病毒病, 故远远不能满足生产发展的需要。

利用组织培养技术快速繁殖大量脱毒苗, 已成为加快桑树良种繁育的一个新途径, 在生产上得到了广泛应用。目前, 生产上应用较多的是利用桑树顶芽生长点进行组培。因受顶芽数量限制, 其快繁速度常受到影响。本实验以桑枝的侧芽为外植体, 进行诱导培养, 以期增加生长点组织的来源和数量, 加大增殖倍数, 以满足生产上对桑苗的需求。

1 材料与方法

1.1 取材与处理 从我校桑树品种园剪取“育71-1”健壮的一年生的基部枝条, 剪成30~40cm长的枝段, 用洗涤剂浸泡、自来水冲洗干净后, 依次用75%酒精灭菌30s和0.15%HgCl₂溶液(加1~2滴吐温-80)灭菌15min, 然后用无菌水冲洗5~6次, 用无菌滤纸吸干水分后, 剪切成5~6cm长的枝段, 在无菌条件下接入装有无菌水的组培瓶内, 置20℃左右的室内进行水培, 7~10d即可见枝条上侧芽开始萌动, 30~40d长成1~4cm长的新芽。培养时应注意更换无菌水, 并减少操作中的杂菌污染。

1.2 侧芽生长点的剥离与诱导培养 切取水培枝段上1.5cm以上的新芽, 在无菌条件下分离生长点, 并接种到诱导培养基上。诱导培养基以MS培养基为基础(附加3%蔗糖, 0.6%琼脂, pH5.8, 下同), 另添加不同水平的BA与IAA, 共设5个处理, 即BA1.0mg/L+IAA0.05mg/L、BA1.5mg/L+IAA0.10mg/L、BA2.0mg/L+IAA0.15mg/L、BA2.5mg/L+IAA0.20mg/L、BA3.0mg/L+IAA0.30mg/L。

1.3 不定芽的继代培养 将诱导获得的不定芽(长1~1.5cm)从基部切下, 接种于继代培养基上。继代培养基在MS培养基基础上添加不同水平的BA和IAA, 共设6个处理, 即BA1.0mg/L+IAA0.5mg/L、BA1.0mg/L+IAA1.0mg/L、BA2.0mg/L+IAA0.5mg/L、BA2.0mg/L+IAA1.0mg/L、BA3.0mg/L+IAA0.5mg/L、BA3.0mg/L+IAA1.0mg/L。

1.4 生根培养 将获得的不定芽(大于3cm)接种在生根培养基上。生根培养基在MS、1/2MS(即MS培养基大量元素减半)加2%蔗糖的基础上添加不同水平的IBA, 共设6个处理, 即1/2MS+IBA0.5mg/L、MS+IBA0.5mg/L、1/2MS+IBA1.0mg/L、MS+IBA1.0mg/L、1/2MS+IBA1.5mg/L、MS+IBA1.5mg/L。

1.5 培养条件 温度26±2℃, 光强度1500~2000LX, 光照时间12h/d, 相对湿度50%~60%。

2 结果与分析

2.1 侧芽生长点的诱导 桑芽生长点染菌少、生长快, 经

光照培养5~7d后, 即可见明显的生长分化。20d后不定芽均可达1cm以上(见表1)。其中以BA2.0mg/L+IAA0.15mg/L的MS培养基效果最好, 其不定芽诱导率达85%。

表1 侧芽生长点诱导结果

BA 浓度 (mg/L)	IAA 浓度 (mg/L)	接种生长 点数(个)	不定芽 数(个)	诱导率 (%)
1.00	0.05	41	22	53.3
1.50	0.10	44	25	56.8
2.00	0.15	40	34	85.0
2.50	0.20	46	35	76.1
3.00	0.30	42	31	73.8

2.2 不定芽的诱导和继代培养 新生的不定芽具有较强的再生分化能力, 在添加不同水平激素的MS培养基上, 其诱导分化率不同(见表2)。通过比较, 可发现BA3.0mg/L+IAA0.5mg/L的培养基, 可促进不定芽的诱导, 其分化率较高, 为82.0%。而BA1.0mg/L+IAA1.0mg/L的培养基, 对不定芽生长具有明显的促进作用。

表2 不定芽诱导分化结果

BA 浓度 (mg/L)	IAA 浓度 (mg/L)	接种数 (个)	不定芽 数(个)	分化率 (%)	芽生 长度
1.0	0.5	42	7	16.7	+++
1.0	1.0	44	8	18.2	++++
2.0	0.5	42	19	45.2	++
2.0	1.0	40	16	40.0	+++
3.0	0.5	44	36	82.0	+++
5.0	1.0	43	9	21.0	+

2.3 不定芽的生根培养 将继代培养至3cm以上的不定芽转移到生根培养基中, 3~4d后嫩枝下切口开始膨大, 并产生瘤状愈伤块, 5~7d后即开始生根, 25~30d即可形成完整根系(见表3)。其中以1/2MS+IBA0.5mg/L的生根效果最好, 其生根率可达90.0%。此时, 该桑苗即可进行炼苗驯化, 然后移栽至苗圃中。

表3 不定芽生根结果

培养基(mg/L)	接种株数	生根株数	生根率(%)
1/2MS+IBA0.5	50	45	90.0
MS+IBA0.5	50	26	52.0
1/2MS+IBA1.0	56	43	76.8
MS+IBA1.0	52	22	42.3
1/2MS+IBA1.5	55	31	56.4
MS+IBA1.5	56	18	32.1

3 结论

桑树是组织培养较难的木本植物, 其不同品种之间组培难易程度差异也很大, 这与其遗传、生理生化特性等因素有关。实验表明, 桑树“育71-1”品种具有较好的组培特性, 能通过组织培养进行快繁而获得大量的组培苗。

收稿日期: 2007-10-12

泰兴银杏害虫的演变及其对策

李金华 印福女 (江苏省泰兴市林业技术推广中心 225400)

随种植业结构的不断调整,泰兴市大量乡土树种在一次次的结构调整中被清杂砍伐,银杏种植面积越来越大。到目前为止,我市现有银杏种植面积2.15万hm²,定植银杏树约630万株,其中挂果树达100余万株。由于树种相对单一,林业生态严重失衡,直接导致了银杏害虫的种类不断增加。通过近3年的林业有害生物普查,我们发现过去危害银杏的次要害虫现已变为主要害虫,而从未危害银杏的害虫变为现在的主要害虫和次要害虫。

1 泰兴银杏害虫演变

1.1 书籍上有过记载的银杏虫害种类 见诸报道有过记载的银杏害虫种类据不完全统计,从苗木到大树约有30多种虫害。其中根部害虫有金针虫、蝼蛄、金龟子、小地老虎、蟋蟀等;食叶害虫有尺蠖、大袋蛾、小袋蛾、黄刺蛾、舞毒蛾、樟蚕、银杏大蚕蛾、银杏茶黄蓟马等;危害新梢和枝条的有银杏超小卷叶蛾、棉铃虫、银杏草履蚧等;蛀干害虫有桃蛀螟、豆荚螟等。

1.2 新近增加的银杏害虫种类 食叶害虫有后黄卷叶螟、绿刺蛾、扁刺蛾、白茧袋蛾、蜗牛、日本龟蜡蚧等;蛀干害虫有巨马陆(啃食银杏树干基部韧皮部)、锹甲等。目前,新增的银杏害虫以后黄卷叶螟、绿刺蛾为主,危害银杏叶片。

2 银杏害虫演变原因分析

2.1 直接原因 全市目前以银杏、意杨两大树种为当家品种,大量乡土树种被清杂砍伐,林业生态平衡岌岌可危。昆虫的多食性及食物的单一性,极易引起害虫暴发成灾。诸如绿刺蛾、后黄卷叶螟目前演变为危害银杏的主要食叶害虫,扁刺蛾、蜗牛、白茧袋蛾、巨马陆、锹甲等演变为次要害虫。

2.2 间接原因 一是目前银杏产量逐年提高,市场供大于求导致白果价格急剧下滑,影响了农户生产白果的积极性,管理粗放,对银杏害虫的综合治理也不重视,从而导致了这些害虫逐渐演变为新增危害银杏树的品种。二是20世纪90年代,政府部门调整林业结构,种植以银杏为主的经济林,本世纪初又提出巩固银杏经济林,发展意杨产业。在结构调整

过程中,为数不多的乡土树种又一次被清杂砍光,导致了林业生产品种更加单一,有些昆虫没有选择地转移而危害银杏。

3 综合治理对策

3.1 掌握新增银杏主要害虫的发生规律进行综合防治 应对新增银杏害虫严密监测,掌握其生活习性,及时发布森防情报,对银杏害虫进行综合治理。要以物理防治、生物防治为主,尽可能少用化学药剂防治,尤其要注意保护天敌。通过近3年来对林业有害生物普查,我们采取野外捕捉、灯诱与室内饲养相结合的办法,摸清了后黄卷叶螟和绿刺蛾在我市的发生规律。

后黄卷叶螟一年发生4代,各代成虫期分别为5月下旬、7月上旬、8月上旬及9月上旬,以4代老熟幼虫越冬。对后黄卷叶螟的综合治理可从以下方面着手:(1)冬季清除园地杂草,并摘除越冬幼虫及蛹卷叶。(2)摘除卵块,在其待羽化前将寄生性天敌放于天敌保护笼,挂于树枝上让其羽化,寻找寄主寄生。(3)重点抓好第1代卵孵化盛期及幼虫活动取食期的防治措施,及时喷施40%乐果乳油1000倍液或80%敌敌畏乳油1000倍液,或喷微生物农药,每g含孢子数100亿以上的杀螟杆菌500~1000倍液。

绿刺蛾在我市一年发生2代,以老熟幼虫在树枝或主干上结茧越冬,翌年5月中旬~6月上旬越冬代成虫羽化产卵,卵产于银杏叶的背面,第1代卵期7d左右,6月上、中旬幼虫孵化,低龄幼虫在6月上旬群集危害,6月中、下旬幼虫分散危害即进入幼虫暴食期,7月下旬~8月上旬结茧化蛹,8月上、中旬成虫羽化产卵;第2代卵期4~5d,8月中、下旬为幼虫孵化期,8月下旬末~9月上旬为第2代幼虫暴食期,9月下旬~10月中旬老熟幼虫结茧越冬。针对绿刺蛾生活习性,采取以下治理对策。(1)铲除越冬、越冬茧。(2)摘除虫叶。绿刺蛾低龄幼虫群集危害,常使被害叶片呈枯黄膜状,目标明显易于发现,可人工摘除将其消灭。(3)用40%乐果乳

收稿日期:2007-08-16

桑树的顶芽生长点生长快,诱导出的不定芽几乎不改变原有品种的性状,因而在组培生产中得到广泛应用。但顶芽的数目有限,因而限制了其快繁速度。本实验采用桑枝侧芽为外植体,大大增加了外植体的来源和数量,极大地提高了繁殖速度,为桑苗的快速繁殖提供了一条有效途径。

桑树在正常情况下,由于顶芽对侧芽的抑制作用,其侧芽往往较为弱小,且很难进一步生长萌发。本实验中,通过分剪成5~6cm长的桑树枝段,去除了顶芽对侧芽的抑制作用,通过水培方法,促进了侧芽的生长萌发,使诱导不定芽分化的速度大大加快。

桑树为多年生木本植物,其茎秆组织疏松,因而灭菌极为困难。本实验选用0.15%HgCl₂溶液灭菌15min,效果较好,侧芽萌发后杂菌污染率低。另外在初始培养中,培养基有褐化现象,特别在细胞分裂素含量较高时现象尤为明显,

实验中通过加快转接可明显减轻。

实验发现,生根培养基中,1/2MS培养基的生根效果明显优于MS培养基。MS培养基的发根率和平均根数约为1/2MS的一半,且发根时间推迟3d,根系短而少,长势也差。推测可能是MS培养基中无机盐离子浓度高,渗透压较大,从而抑制了根原基的形成。

利用桑枝的侧芽进行组培快繁,其芽的诱导、新梢增殖、壮苗及生根移栽是一套完整的技术,其中,提高诱导成功率、增殖率是关键。本实验中通过调节培养基中激素含量到合适水平,其侧芽诱导增殖效果显著,获得了较高的增殖倍数。实验表明:侧芽诱导、分化与继代、生根的最适培养基分别为MS+BA2.0mg/L+IAA0.15mg/L、MS+BA3.0mg/L+IAA0.5mg/L、1/2MS+IBA0.5mg/L,其分化诱导率可达85%、82%、90%。