

桔梗微体快繁与脱毒技术的研究

段祖安¹, 刘红菲², 韩传明³

(1. 山东农业大学林学院, 泰安 271000; 2. 临沂市园林处; 3. 山东省林科院)

摘要:对桔梗微体组培快繁的无菌体系的建立, 继代培养, 生根培养到移栽进行了一系列的观察研究, 结果表明, 在初代培养中, MS + BA_{0.8} + NAA_{0.02} + 30g 糖, 桔梗的萌芽率比较高; 在继代培养过程中, 继代培养基为 MS + BA_{0.5} + NAA_{0.01} + 40g 糖, 生根培养基 1/2MS + IAA_{0.1} + 30g 糖; 练苗移栽时, 栽培基质为蛭石:珍珠岩:草炭土(1:1:1)成活率较高。移栽练苗时, 首先进行室外适应性锻炼, 然后移植于栽培基质中, 待长出新根后, 移栽大田中。

关键词:桔梗; 组织培养; 微体快繁; 脱毒

中图分类号: S723.1

文献标识码: A

桔梗 (*Platycodon grandiflorum*) 属桔梗科、多年生草本植物, 有白色乳汁。根圆锥形, 茎直立, 基部叶轮生或对生。根含有多种皂苷, 具有镇咳与祛痰之功效。一般常用种子繁殖或埋根繁殖, 但是种子繁殖过程中, 会产生品质退化、变异等现象, 且当年生苗长势弱, 无法形成较高的产量, 在长期的埋根的营养繁殖过程中, 会受到病毒感染, 产量下降。为解决上述问题, 我们在 2002~2004 年间, 对桔梗组培快繁及脱毒技术进行探讨, 并在组培苗移栽技术上取得了较大的突破。

1 材料与方法

1.1 材料

试验在山东农业大学林学院进行, 材料来自于安徽省亳州, 2002 年从安徽引进。首先将桔梗放入温室中埋根催芽, 待苗生长到 20~30cm 时, 去掉顶芽, 促生侧芽, 取芽容易, 便于采取更多的外植体, 建立较多的无菌体系。

1.2 方法

取盆栽的当年生幼苗上的茎段, 用 1% 的洗衣粉溶液轻轻洗刷后, 自来水冲洗干净。于接种台上置于无菌瓶中, 75% 的酒精消毒 30s, 无菌水冲洗 2 次, 再用 0.1% 的氯化汞消毒 2min, 无菌水冲洗 3 次, 置于接种台上以备接种。将消毒后的材料减去两端, 接入启动培养基 MS + 6 - BA_{1.5mg/L} + IBA_{0.1mg/L} + 2Fe 上。10 天后芽体开始萌动, 30~40 天后, 芽体长到 1~2cm 左右, 有 3~4 片叶, 减去上部茎尖, 接种到分化培养基上进行增值培养, 获得一定数量的不定芽后, 选粗壮小苗接入生根培养基中, 其余仍旧进行分化培养。

在分化良好的培养基上, 继续培养分化苗, 直到所需的脱毒数量的苗的瓶数为止。将分化的瓶苗放入光照培养箱中, 逐步提高培养箱中的温度, 然后切去 0.5~0.7mm 的茎尖, 放入分化培养基中, 培养桔梗分化苗, 提取桔梗分化苗, 确定桔梗中是否具有病毒的存在。

本试验所用培养基为 MS 培养基, 列入筛选范围的外源激素因子有 BA、Kt、NAA、IAA、IBA。琼脂 7.5g/L, pH 值 5.8。

蔗糖在试管分化增值阶段为 30g/L, 生根阶段为 30g/L, 温度 (24℃~26℃), 光照强度 3000Lx, 光照时间 12 小时。

待试管苗长出 2~3 条以上健壮根时, 进行移栽前的封闭瓶口和开启瓶口练苗, 然后移栽。移植棚设在本校的苗圃温室内, 把遮阳网搭在温室的上面, 太阳的漫射光提供光照, 温度在 20℃~30℃。移栽基质为蛭石:珍珠岩:草炭土(1:1:1)保持温室内的空气湿度, 待小苗长出新根后, 逐步增加棚内的光照, 提高小苗的适应能力。

2 结果与分析

2.1 不定芽最佳分化培养基附加激素种类及浓度

首先, 将生长素定为 NAA0.1, 对细胞分裂素的种类和浓度进行筛选。将 BA 和 Kt 的浓度均定位 0.2、0.4、0.8、1.0 等四个水平, 试验按完全随机区组设计。观察发现, 转接 10~15 天, 小苗及开始生长, 基部膨大, 30~40 天后形成丛生不定芽。对试验结果进行统计分析得知, 细胞分裂素 BA 和 Kt 差异显著, BA 对试管苗的分化有较大作用, 以浓度 0.5mg/L 效果最好, 试管苗分化系数 8.5。

随后将 BA 的浓度固定为 2, 依照同样的办法, 对最佳生长素与浓度进行筛选。所用生长素有 NAA、IBA、IAA, 浓度为 0.01、0.1、0.2、0.4 等四个水平。结果表明, 以 NAA0.01 为最好, 分化系数为 8.0。利用正交试验设计对最佳激素配比进行筛选。BA 和 NAA 的浓度分别设 0.1、0.3、0.5、0.8 和 0.01、0.06、0.09、0.14 等四个水平。30 天后调查试管苗的增值系数。对试验结果进行极差分析得知, 激素间最佳配比为 BA0.5 + NAA0.01, 其分化系数可达 9.0

2.2 分化苗的脱毒程序及其鉴定

将分化好的无菌桔梗小苗, 放入光照培养箱中, 起初培养箱内设置的温度为 25℃, 以后每隔 10 天增加 1℃, 温度增加到 30℃后, 每隔 10 天增加 0.5℃, 增加到 35℃后, 每隔 15 天增加 0.2℃, 直到温度 50℃, 桔梗小苗全部萎蔫, 这时的温度为桔梗小苗的极限温度。在靠近这个极限温度的 49.6℃

文章编号:1002-2724(2005)06-0019-02

利用白蛾周氏啮小峰防治杨树食叶害虫试验初报

王筱宁,于洋,史玉梅,孙蕾,吴海鸥,张泽友

(1.莱西市林业局,266600)

中图分类号:S763.3

文献标识码:A

杨树是莱西市主要造林树种,杨树丰产林、通道林带、农田防护林等总面积达1.3万余 hm^2 。随着杨树面积的增加,食叶害虫的危害日益严重,利用化学农药防治,虽能控制一时,但杀伤天敌、污染环境、破坏生态平衡,导致害虫更加猖獗。2001年开始利用白蛾周氏啮小峰对我市杨树主要食叶害虫杨扇舟蛾、杨雪毒蛾等进行了防治试验,有效地控制了其危害,并摸找出最佳放蜂时间、蜂虫比例。现将防治试验情况报告如下。

1 防治示范区概况

放蜂防治示范区设在孙受镇、武备镇、姜山镇,选择三种不同林型、不同树龄分别进行放蜂防治试验。

1.1 杨树丰产林

孙受镇张格庄村3年生杨树丰产林,面积66.7 hm^2 ,主要害虫为杨扇舟蛾,虫株率76%,虫口密度15头/株。还有杨雪毒蛾、刺蛾类等鳞翅目害虫。

1.2 通道杨树林带

烟青一级路姜山镇路段,8年生杨树林带,面积26.7 hm^2 ,主要害虫为杨雪毒蛾,虫株率100%,虫口密度178头/株。还有杨扇舟蛾、刺蛾类等鳞翅目害虫。

1.3 农田防护林

周格庄镇农田林网,主要树种为杨树,树龄3~7年生,面积333.3 hm^2 ,杨扇舟蛾虫株率在80%以上,虫口密度89头/株。

2 材料与方法

2.1 材料

烟台市林业局生产的白蛾周氏啮小峰1000万只。周氏啮小峰是中国林科院杨忠岐先生1998年在烟台从美国白蛾蛹中发现的一种新天敌,寄生率高,寄主范围广,对幼虫、蛹均可寄主。室内人工饲养繁殖容易,在柞蚕蛹中的出蜂量为5000头/蛹左右。

收稿日期:2005-08-03

~49.8 $^{\circ}\text{C}$ 的范围内,按照以上操作步骤,进行逐步提高温度的方法进行高温脱毒,培养一个月后,至于无菌操作工作台上,在100的双目解剖镜下,切去0.6~0.8mm长的茎尖,放入分化培养基中进行培养。这样高温与茎尖相结合的办法,有利于桔梗小苗的快速去掉本身所带的病毒,使脱毒简便易行。鉴定采用电子显微镜观察法:将脱毒的桔梗苗切片,放入电镜(40 $\times$)下观察,并没有发现病毒粒子的存在,说明采用以上方法已经除去桔梗的病毒。

2.3 最佳生根培养基附加激素种类及浓度

试验所用小苗来自同一分化培养基上,苗高均在1.0cm以上,并具有3~4片叶。根据分化增值阶段试管苗的生长表现,将生根阶段激素种类及浓度定为BA0.0.2.0.5.0.9,NAA0.01.0.1.0.3.0.4,IAA0.1.0.2.0.3.0.加活性炭,其它条件同上。

调查生根率(生根苗数/接种数 $\times$ 100%)、生根系数(生根总数/生根苗数)及生根度(生根系数 $\times$ 根均长 $\times$ 生根率)。

试验按 $L_{16}(4_3)$ 正交设计安排。经对生根度的统计分析得知,试管苗最佳生根激素配比1/2MS+IAA0.1+30g,生根率达到95%,且发根早,根生长较快。各处理发根数量变化不大,多在1~2之间。

2.4 试管苗移栽试验

挑选苗高3cm以上、叶4片以上、根2~3条以上健壮试管苗,放温室移植棚进行7天以上的封闭瓶口的适应性炼苗和开瓶口练苗,随后进行移栽,移栽基质为蛭石:沙(1:1)的混合物,成活率达到95%。桔梗为阳性植物,要求光的透过率是60%~70%,光照强度2000~3000Lx左右,棚内湿度80%~90%之间。经过20~25天后,小苗长出新根,再逐步揭去遮阳网,增加光照,让小苗尽快适应外部环境,制造营养物质,利于进行大田移栽。

3 结论

桔梗的组织培养,最佳启动培养基为MS+6-BA1.5+IBA0.1+2Fe+30g糖;最佳分化培养基为MS+BA00.5+NAA0.01+30g糖,其增值系数为9.0;最佳生根培养基为1/2MS+IAA0.1+30g糖,生根率达到95%;试管苗移栽前进行适应性锻炼,可提高移栽成活率,成活率95%。

参考文献:

- [1]谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术.中国林业出版社1991 84~106
- [2]曹致义,刘国民.实用植物组织培养技术教程.甘肃科学技术出版社 1996