维普资讯 http://www.cqvip.com

湿地松丛生芽的增殖研究

黄宝祥 符树根 舒惠理
(江西省林业科学院,江西南昌 330032)

摘要 以湿地松种子无菌带子叶顶芽为外植体进行丛生芽诱导和继代培养,随着继代次数的增加,丛生芽的分化能力下降,通过改变培养条件可以改善不定芽增殖能力。试验结果表明:当培养基为改良DCR+6-BA 3.0mg/L+NAA 0.1mg/L+IBA 0.5mg/L时,最大诱导率达73%,增殖倍数2.9。

关键词 湿地松;组织培养;不定芽;增殖

湿地松生长快,干形通直,松脂产量高,是我国南方的主要造林树种之一。运用组织培养技术是解决湿地松优质种苗短缺的重要途径之一,以胚、子叶和下胚轴等幼态材料作为外植体进行丛生芽诱导已有报道,并且获得了较好的结果,但是随着继代次数的增加,芽的老化现象严重,分化能力显著下降。研究湿地松不定芽的增殖,提高增殖系数,是湿地松组织培养育苗技术的关键,本试验特研究经多次继代后的湿地松丛生芽的增殖培养技术。

1 材料与方法

1.1 外植体的培养

采摘无病虫害、长势旺的优良湿地松成熟种球,经4℃低温处理4周以上,取出种子,用0.1%高锰酸钾浸泡1~2 h,无菌水冲洗3~4次,在超净工作台上,70%酒精灭菌30s,无菌水冲洗3~4次,0.1%升汞灭菌3~4min,无菌水冲洗3~4次。将种子接种于无激素DCR培养基上获取无菌实生苗。

1.2 丛生芽的诱导

当接种于无激素DCR培养基上的种子长出带子叶的完整植株时,取其带子叶顶芽接种在丛生芽诱导培养基上诱导。

1.3 不定芽的增殖

切取丛生芽诱导培养基上2cm左右长的单芽,接种于DCR+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.05mg/L进行继代培养,继代周期25~30d。

1.4 多次继代后不定芽的增殖

选取经上述多次继代培养,当芽生长势出现衰退现象、诱导率和增殖系数明显下降时,从丛生芽上切取单芽进行增殖培养试验,基本培养基为改良DCR,研究激素水平对不定芽增殖的影响。每个处理接种25个芽,3次重复。

培养条件:温度(25±2)℃,每天光照时间14 h,光照强度1 500~2 000Lx,培养基pH值为5.8,灭菌温度121℃,灭菌时间20min。

2 结果与分析

2.1 继代次数对增殖的影响

湿地松幼嫩组织在DCR+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.05mg/L条件下培养,最大增殖倍数可以达到4.0。但是,多次继代后,芽出现老化,甚至死亡现象,生长势下降显著,约6~7次继代后的增殖系数下降至2以下,说明上述培养条件已不再适合作为其继代培养条件。

2.2 细胞分裂素的影响

从带子叶上胚轴诱导丛生芽到丛生芽增殖培养,约6~7次继代后,切取生长势出现衰退的单芽接种在改良DCR培养基上,当固定NAA 0.1mg/L时,6-BA浓度分别取1.0mg/L、2.0mg/L、2.5mg/L、3.0mg/L、3.5mg/L、4.0mg/L和5.0mg/L,研究细胞分裂素对丛生芽诱导和增殖的影响。试验结果表明,多次继代后的不定芽随着6-BA浓度的增大,诱导率和增殖系数增大。但是,6-BA浓度大于3.0mg/L时,诱导率开始下降,6-BA浓度超过5.0mg/L时,针叶发红,芽衰萎。因此,细胞分裂素适宜的浓度为2.5~3.5mg/L,最大诱导率61%,增殖倍数2.3(见表1)。

表1 不同浓度6-BA对不定芽增殖的影响

6-BA//mg/L	1.0	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	5.0
诱导率//%	33	42	49	61	52	48	47
增殖倍数	1.3	1.7	1.9	2.3	2.0	1.7	1.7

注:以上数据培养基为改良DCR+NAA 0.1mg/L+6-BA 3.0mg/L+3%蔗糖,诱导率和增殖倍数为平均值。

2.3 细胞生长素的影响

添加细胞生长素NAA有利于芽的诱导和生长,当6-BA的浓度为3.0mg/L时,观察NAA浓度分别为0mg/L、0.03mg/L、0.05mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L和0.3mg/L时,丛生芽的诱导和生长变化。试验结果表明,没有附加NAA时,不仅芽点小,生长缓慢,而且诱导率低。而随着NAA量的增加,诱导率先升后降,当NAA浓度大于0.3mg/L,丛生芽基部严重愈伤化,影响了芽的分化和生长,因此适宜的NAA浓度为0.05~0.2mg/L(见表2)。

表2 不同浓度NAA对不定芽增殖的影响

NAA//mg/L	诱导率//%	丛芽生长状态
0	14	芽点很小,生长缓慢
0.03	39	芽点小,生长正常
0.05	51	芽点较大,嫩绿,生长正常
0.10	61	芽点较大,嫩绿,生长正常
0.20	54	芽点较大,生长正常,基部轻微愈伤
0.30	40	芽点较大,衰弱,基部愈伤严重

6-BA和NAA对湿地松丛芽的诱导非常重要,尤其是初代培养阶段,NAA的协同作用效果明显。考虑到湿地松丛生芽增殖困难,本试验研究了IBA对其增殖的影响,基本

作者简介 黄宝祥(1962-),男,副研究员,主要从事植物生物技术研究。

收稿日期 2007-04-20

维普资讯 http://www.cqvip.com

培养基为DCR+6-BA 3.0mg/L+NAA 0.1mg/L,附加0.1 mg/L、0.3mg/L、0.5mg/L、1.0mg/L的IBA,诱导率和增殖有显著的提高,结果表明,附加0.5mg/L的IBA诱导率增加20%,增殖倍数2.9(见表3)。

表3 不同浓度IBA对丛生芽诱导的影响

IBA//mg/L	0.1	0.3	0.5	1.0
诱导率//%	63	67	73	69
增殖倍数	2.5	2.6	2.9	2.6

2.4 其他因素的影响

在基本培养基DCR+6-BA 3.0mg/L+NAA 0.1mg/L+IBA 0.5mg/L中分别加入GA_3和活性炭,均未发现它们对芽的伸长有促进作用。

3 讨论

(1)首次进行对湿地松幼态组织经多次继代培养后,生长势明显下降的芽的增殖培养试验。

(2)细胞分裂素对湿地松丛生芽的诱导最为重要,当外植体为幼嫩状态时,要求低浓度水平细胞分裂素,何月秋等认为DCR附加6-BA 1.0mg/L和NAA 0.03mg/L有利于初代丛生芽的诱导。而在本试验中,对于多次继代的芽,需要较高浓度的细胞分裂素促使其分化,诱导水平随6-BA浓度的增大先升后降,适宜的浓度为2.5~3.5mg/L。

(3)附加生长素能显著地促进芽的分化和生长,当NAA大于0.3mg/L,基部严重愈伤,生长势下降,适宜的浓度为0.05~0.2mg/L。

(4)附加IBA能显著地提高诱导率和增殖倍数,可能是由于NAA用量高于0.3mg/L时,丛生芽严重愈伤化,加入IBA弥补了NAA用量受到限制的缺陷。

4 参考文献

[1] 朱丽华,张艺,吴小芹.湿地松的组织培养及植株再生[J].南京林业大学学报,2004,28(6):47-51.
[2] 何月秋,叶建仁,池树友.湿地松丛生芽增殖的研究[J].西南林学院学报,2005,25(3):14-17.
[3] 何月秋,叶建仁.湿地松丛生芽的诱导及试管苗的生根研究[J].南京林业大学学报,2005,29(5):13-16.
[4] 唐巍,欧阳藩,郭仲琛.湿地松体细胞胚胎发生和植株再生[J].植物资源与环境,1997,6(2):8-11.

(上接第12页)

表2 马铃薯新品系随机区组试验特征特性考查结果

品系	植株形态	株丛繁茂	茎色	叶色	花色	晚疫病级	全生育期//d	薯形	皮色	肉色	芽眼深浅	淀粉含量//%
SD2	扩散	中等	绿	淡绿	白	无	86	长椭	黄	黄	浅	15.67
SD3	直立	中等	绿紫	绿	蓝	无	73	椭圆	淡黄	淡黄	浅	18.49
SD4	直立	中等	绿	淡绿	紫	无	80	椭圆	黄	淡黄	浅	14.51
SD5	匍匐	强	紫	绿	淡蓝	8.5	61	椭圆	紫	白	深	16.13
SD8	直立	弱	绿	绿	淡紫	8.5	93	卵圆	白	白	浅	16.30
SD9	直立	强	绿紫	绿	白	9.0	96	椭圆	红	黄	深	18.07
SD11	扩散	强	绿	浓绿	白	8.5	119	卵圆	白	白	浅	16.22
SD15	扩散	强	绿	浓绿	白	4.0	111	椭圆	黄	黄	浅	18.20
SD20	直立	中等	绿紫	绿	蓝	无	102	圆	白	白	浅	11.76
SD23	直立	弱	绿紫	淡绿	蓝	无	105	扁圆	白	白	浅	14.68
SD28	直立	弱	绿	绿	白	无	132	卵圆	白	淡黄	中	20.99
SD35	直立	弱	绿	浓绿	白	无	86	圆	白	白	浅	10.68
SD37	直立	中等	绿紫	淡绿	白	9.0	72	卵圆	黄	淡黄	浅	15.90
SD42	扩散	强	绿褐	淡绿	淡紫	9.0	87	圆	淡黄	黄	浅	18.59
米拉CK	扩散	中等	绿紫	绿	白	6.0	100	长筒	黄	黄	中	16.81

注:茎色中的"绿紫"或"绿褐"一般表示茎杆绿色,但茎基部带有紫色或褐色。

的晚疫病发病进程较缓慢,仅在收获前才达到上述最高病级。

3 小结与讨论

(1)综合产量及薯形、块茎品质等多方面特征特性而言,初步可以认为SD28、SD4、SD11、SD20、SD8、SD37、SD2、SD42和SD3等9个新品系是较有高产潜力的品种类型,其理论产量达到或超过了发达国家马铃薯生产的平均单产水平。其中,SD28植株生长直立、繁茂性强,中晚熟;块茎卵圆形,白皮淡黄肉,芽眼中等深,淀粉含量高,可以作为高产高淀粉含量的抗病品种类型作进一步地试验研究或开发;SD4、SD11、SD20、SD8和SD37等,块茎圆形或卵圆形、淀粉含量中等偏上、白皮白肉或淡黄肉、芽眼浅,可以考虑作为油炸加工品种类型作进一步地评价筛选;而SD2、SD42和SD3等品系,块茎椭圆形或长椭圆形,淀粉含量较高,黄皮黄肉或淡黄皮淡黄肉,可以作为菜用鲜食或油炸薯条加工的品种类型研究开发。对于另外的SD23、SD5、SD9、SD15、SD35等5个新品系,可以考虑在其他生产季节作进一步地评价筛选试验,以了解其在不同季节的产量表现差异及用途等的更详细情况。

(2)从初步的试验结果来看,晚疫病抗病性强弱与品种的产量表现并不完全一致,如一些植株表现完全不发生晚疫病的品系,其块茎产量结果并不理想;而一些晚疫病最终病级达到了9级的品系,其块茎产量却较高。究其原因:这些产量表现较高但植株有晚疫病发生的品系,其晚疫病的发病进程较缓慢,临近收获时才达到8.5级或9级的最高病级(似有晚疫病水平抗性品系的抗病表现),对块茎产量的形成影响不大。但真正原因,有待开展多年或多点的随机区组试验及抗病性鉴定试验等的研究探讨。

4 参考文献

[1] 唐启义,冯明光.实用统计分析及其DPS数据处理系统[M].北京:科学出版社,2002.
[2] 屈冬玉,谢开云,金黎平,等.中国马铃薯产业入世后面临的挑战与应对策略[M].哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社,2002.
[3] 赵跟虎,何二良,郭天顺.高产高淀粉马铃薯新品系90-10-58-1引育报告[J].甘肃农业科技,2003(5):8-9.
[4] JUAN LANDEO A.,缺乏主基因的马铃薯晚疫病水平抗性的培育[C].见:王军,宋伯符.中国马铃薯晚疫病防治研讨会文集.北京:中国农业科技出版社,1993:63-75.