

细叶粉葛的组织培养和快速繁殖技术的研究

胡万群

(六安市农业科学研究所, 安徽六安 237009)

摘要: 将茎尖接种于 MS+6-BA0.2mg/L+NAA0.01 mg/L 的培养基上, 获得无菌苗, 将无菌苗接种于培养基 MS+6-BA1.2mg/L+NAA0.2mg/L 或 MS+6-BA0.5mg/L+NAA0.5mg/L 上形成丛生芽, 将丛生芽切块接种于 MS+6-BA0.2mg/L+NAA0.3mg/L 培养基上壮苗, 将丛生小苗接种于 MS+NAA0.5mg/L 培养基上生根, 得到大量的整齐一致的细叶粉葛种苗。

关键词: 细叶粉葛; 组织培养; 快速繁殖; 茎尖

中图分类号 Q945.51 **文献标识码** B **文章编号** 1007-7731(2006)10-67-01

细叶粉葛 (*Radix Puerariae*), 为豆科葛属, 缠绕藤本。与普通粉葛相比, 它的块根形好, 呈纺锤形, 表面光滑, 皱纹少, 纤维少, 味甜, 出粉率高, 且耐旱, 早熟, 产量高^[1]。有关药理研究证实, 葛粉具有扩张冠状动脉, 改善心肌供血, 降低心肌耗氧量以及降压等作用^[2]。细叶粉葛常规繁殖用扦插繁殖, 但极难生根, 且生根数量少。我们通过组织培养技术已获得了大量的试管苗。本研究旨在为大面积种植细叶粉葛提供壮苗。

1 材料与方 法

细叶粉葛材料选自广西细叶粉葛基地。取细叶粉葛藤, 先用自来水冲洗干净, 再用药棉蘸取 75% 的酒精进行表面消毒; 晾干后, 用 0.1% 的升汞溶液浸泡 5min, 取出在超静工作台上用无菌水冲洗数遍^[3]。用滤纸吸干后, 取茎尖接种于培养基 (1) MS+6-BA0.2mg/L (单位下同)+NAA0.01 上, 10-30d 长出无菌苗。将无菌苗接种于培养基 (2) MS+6-BA1.2+NAA0.2; (3) MS+6-BA0.5+NAA0.5; (4) MS+KT1.0+IAA0.2; (5) MS+KT2.0+IAA0.2; (6) MS+6-BA0.5+IAA0.2 上增殖。将丛生芽接种于培养基; (7) MS+6-BA0.2+NAA0.3 上, 进行壮苗。再将丛生小壮苗接种于培养基 (1) MS; (2) 1/2MS; (3) MS+IAA0.5; (4) MS+NAA0.5; (5) 1/2MS+NAA0.5 上生根。所有培养基均含有 30g/L 蔗糖, 3.2g/L 琼脂粉, pH 值为 5.8, 培养温度为 26-28℃, 光照 10h/d, 光强在 600-1500Lx。

壮苗生根后, 将瓶盖打开, 在自然光下 2d 左右。将试管苗从培养瓶中取出, 洗净根部琼脂, 在 4-5 月份可直接移栽大田。

2 结果与分析

2.1 不同生长调节物质对比对无菌苗培养的影响 表 1 是接种 30d 统计出来的结果, 可以看出茎尖在培养基 MS+6-BA1.2+NAA0.2 和 MS+6-BA0.5+NAA0.5 两种组合上形成的苗高和芽丛的苗数较好。

表 1 不同生长调节物质对比对无菌苗培养的影响

生长调节物质组合 (mg/L)	扦插无菌苗数 (颗)	形成苗均高 (cm)	形成芽丛苗数 (颗)
MS+6-BA1.2+NAA0.2	1	1.76	26
MS+6-BA0.5+NAA0.5	1	3.23	6
MS+KT1.0+IAA0.2	1	0	0
MS+KT2.0+IAA0.2	1	0	0
MS+6-BA0.5+IAA0.2	1	0.55	3

2.2 不同生长调节物质对比对壮苗培养的影响 在继代增殖中, 由于形成的丛生芽较密集、弱小, 在生根前需要一个壮苗培养过程。尤其在培养基 MS+6-BA1.2+NAA0.2 上形成的芽丛数多, 且苗弱一点。将继代培养中的丛生芽置于培养基 MS+6-BA0.2+NAA0.3 中, 2 周后, 长到 2-3cm, 形成正常的丛生小苗。

2.3 不同生长调节物质对比对细叶粉葛试管的生根影响 待不定芽长到 2-3cm 时, 切下小苗转入生根培养基。20d 后统计结果 (表 2)。

表 2 不同生长调节物质对比对细叶粉葛试管苗的生根影响

生长调节物质组合 (mg/L)	接种苗数 (颗)	生根苗数 (颗)	生根率 (%)
MS	30	9	30
1/2MS	30	6	20
MS+IAA0.5	30	1	3
MS+NAA0.5	30	30	100
1/2MS+NAA0.5	30	22	73

从表 2 可以看出, 细叶粉葛试管苗在此 5 种组合中均可以生根, 但生根率差异很大。在培养基 MS+NAA0.5 上生根效果最好, 可达 100%, 并且苗长势旺盛, 在生产中成活率也可达 100%。

3 结论与讨论

试验结果表明, 细叶粉葛利用组织培养技术极易得到整齐一致的壮苗, 且生产上表现良好。从表 1 中发现, 无菌苗接种于培养基 MS+6-BA1.2+NAA0.2 和 MS+6-BA0.5+NAA0.5 上, 30d 后分化出丛生芽, 但在培养基 MS+6-BA1.2+NAA0.2 中形 (下转 57 页)

生壁,纤维素、木质素等次生壁物质且层与层之间经纬交错沉积于初生壁内侧。因此我认为,前期加速纤维素的水解是缩短沼气发酵启动时间的一个关键因子,而加强半纤维素的水解则是提高纤维素水解以及整个原料利用率关键因子。

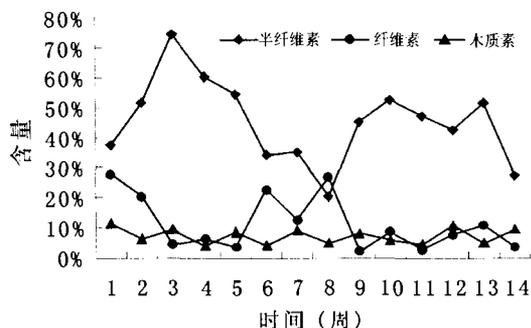


图3 发酵过程料液中纤维素、半纤维素、木质素变化

总之,从料液中纤维素、半纤维素、木质素的变化曲线,我们可以看到,半纤维素含量始终较高,而木质素与纤维素的含量相对较低。这说明加强半纤维素的降解是提高原料利用率的关键因子。同时还可以看到,半纤维素和纤维素的含量变化较大,而木质素则变化很小,可能一方面是由于木质素的难降解,另一方面是由于其在细胞壁中的分布特征。

2.5 发酵料液中纤维素、半纤维素、木质素变化与沼气发酵之间的关系 图4中所示的纤维素、半纤维素、木质素的含量是在沼气发酵某一状态时的发酵原料中相对含量,即可以简化为纤维素、半纤维素、木质素在某一状态时在原料中所占的百分比。据此,我们可以分析得出,在发酵启动至第5周纤维素的相对含量基本上是呈下降趋势,而沼气发酵产气量逐步上升,在第5周达到最大值。另外第9周、第11周,分别为沼气发酵产气的2个高峰,也是纤维素的相对含量的2个低谷之所在。结合图3可以得出,纤维素的水解状态是影响沼气发酵状态的关键因子,提高纤维素的水解效率是改善沼气发酵的运行状况有效途径之一。

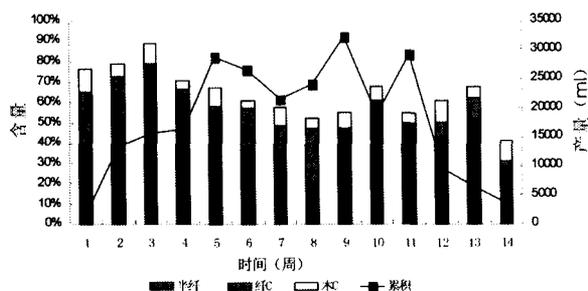


图4 发酵料液中纤维素、半纤维素、木质素变化与沼气发酵之间的关系

(上接67页)成的芽丛稍大一些,即芽数多一点;在培养基MS+6-BA0.5+NAA0.5中,形成的芽丛小一点,即芽数少一点,且幼苗偏高。对于细叶粉葛,可用芽丛切块繁殖和切断扦插繁殖,本研究认为都是较好的繁殖方式。

3 结论

(1)玉米芯可以作为沼气发酵的原料。

(2)据相关文献报道,玉米芯中,纤维素含量为32% - 36%,半纤维素含量为35% - 40%,木质素含量为15%,故可以将其作为研究纤维素、半纤维素、木质素水解对沼气发酵影响的试验对象。

(3)从玉米芯的产气情况与原料降解率来看,发酵启动时间长,原料难以直接厌氧消化。

(4)从料液中纤维素、半纤维素、木质素变化情况来看,半纤维素与木质素的降解是影响原料利用率以及纤维素利用率关键因子,纤维素的初始水解状况则是影响沼气发酵启动时间长短的关键因子。另外从图4可知,纤维素是影响沼气发酵的关键因子。因此解决原料利用率,改善沼气发酵运行状况,纤维素、半纤维素的利用率是必须要面对的问题,而提高半纤维素的降解率是首先要解决的。

(5)纤维素、半纤维素、木质素本身不能溶于发酵液中,而是必须经过相关的水解酶水解才会溶解到其中。同时我们所认为的用于沼气发酵的纤维素、半纤维素、木质素,并不是被直接利用,而是被水解为小分子物质后,才会被利用。因此,发酵料液中可溶性成分主要包括无机盐、可溶性小分子糖以及一些大分子有机物的水解产物和沼气发酵的一些残留物等。

(6)研究以木聚糖酶为主的半纤维素酶对提高水解过程中半纤维素的水解具有现实意义。

参考文献

- [1] Noike, T., Endo, G., Chang, J. E., et al., Characteristics of carbohydrate degradation and the rate limit step in anaerobic digestion [J], Biotechnol. Bioeng., 1985, 27: 1482 - 1489
- [2] Masayuki Taniguchi, Hiroyuki Suzuki, Daisuke Watanabe, et al., Evaluation of Pretreatment with *Pleurotus ostreatus* for Enzymatic Hydrolysis of rice straw [J], Journal of Bioscience and BioEngineering, 2005, 100: 637 - 643
- [3] 吕淑霞,陈祖杰. 纤维素酶应用于酒精糟废水厌氧消化中的研究 [J]. 中国沼气, 1994, 12(1): 1 - 5
- [4] 张无敌,宋洪川,李建昌等. 鸡粪厌氧消化过程中水解酶与沼气产量的关系研究 [J]. 能源工程, 2001, (4): 16 - 18
- [5] 张无敌,宋洪川,李建昌等. 水解酶提高猪粪沼气发酵产气率 [J]. 太阳能学报, 2002, 23(5): 674 - 676
- [6] 张无敌,宋洪川,尹芳等. 牛粪在沼气发酵过程中的水解酶酶活变化研究. 能源工程, 2003, (6): 21 - 23
- [7] 刘士清,李文鹏,廖昌珑. 沼气料液对木聚糖酶活性的影响 [J]. 中国沼气, 2004, 22(3): 8 - 10
- [8] 张无敌. 沼气发酵残留物利用基础. 昆明: 云南科技出版社, 2002

参考文献

- [1] 罗献瑞. 实用中草药彩色图集. 第一册. 广东科技出版社.
- [2] 黄才. 心脑血管病, 糖尿病中草药原色图谱. 广东科学技术出版社.
- [3] 胡万群, 王杨等. 人生果试管快繁和脱毒技术的研究. 皖西学院学报, 2003. 5