

菲白竹组培繁殖技术研究

张春霞¹ 王福升¹ 黄月英²

(1 南京林业大学竹类研究所 2 福建省三明市三元区林业局)

摘要:以菲白竹为研究材料,研究了其组织培养的微繁殖技术,为菲白竹大规模的快速繁殖提供生产指导。研究表明,外植体的取材时间以9~11月为宜。菲白竹最适宜的继代增殖培养基为MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L和MS+6-BA 3.0 mg/L,两者交替使用。适宜的生根培养基为3/4MS+NAA 0.2 mg/L+2.5%蔗糖。瓶苗移栽到基质为蛭石,有全自动间隙喷雾装置和遮阴棚的扦插池中,成活效果最好。

关键词:菲白竹;组织培养;微繁殖;移栽

Techniques for Tissue Culture and Micropropagation of *Sasa fortunei* // ZHANG Chun-xia, WANG Fu-sheng, HUANG Yue-ying

Abstract:The tissue culture and micropropagation techniques of *Sasa fortunei* were developed in this paper. The results showed that sterile regenerated plants could be easily cultivated from explants that got from September to November. The optimum subculture media were MS+6-BA 3.0 mg/L+3.0% sugar and MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+3.0% sugar, and the best rooting media was 1/2MS+NAA 0.2 mg/L+2.5% sugar. Vermiculite was the best growing medium for transplants from tissue culture.

Key words: *Sasa fortunei*; Tissue culture; Micropropagation; Plantlet

Author's address: Bamboo Research Institute, Nanjing Forestry University, 210037, Nanjing, China

我国是世界竹子的分布中心和世界竹类的研究中心,在观赏竹子的研究与利用方面有着悠久的历史,形成了独特的竹文化。随着经济的发展,人们物质生活水平和审美水平的不断提高,竹子已经成为最佳的园林植物之一。用于观赏和园林绿化的地被类竹主要有铺地竹、菲白竹、菲黄竹和翠竹等,其中以菲白竹最为市场接受。菲白竹(*Sasa fortunei*)^[1]属于混生小型竹。竿高20~30 cm,最高可达50 cm,径粗2~3 mm,竹鞭的直径3~5 mm,叶绿色夹有白色条纹,极具观赏价值。耐修剪,为优良的地被类观赏竹种^[2]。目前,菲白竹的繁殖方法为传统常规的种竹带鞭移栽技术,虽然带鞭移栽技术简单易行,但母竹耗量大,用地多,生产成本低,难以快速规模化发展资源。技术简便、省时省力的扦插技术也受生根率、繁殖速度、季节等影响。因此,常规繁殖方法不仅繁殖系数低,而且难以在短时间内大量生产优质竹苗,远远满足不了市场的需要。利用植物组织培养微繁殖技术,可以依靠其增殖速度快的特点在短时期内,周期性地实现菲白竹的快速繁殖^[3]。菲白竹的组织培养

微繁殖技术是指在无菌条件下,利用植物体的一部分,如芽,在人工控制的营养和环境条件下繁殖竹苗的方法。组织培养微繁殖速度快,首先反映在增殖方式上,只要建立起了菲白竹的快速繁殖体系,一株菲白竹1 a内可扩繁至1万株;其次是在环境限制方面,由于培养环境几乎恒定,由此可进行周年生产;同时,由于环境、养分等繁殖条件差异较小,苗木生长具有较高的一致性,也就具有较高的商品性^[4]。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用外植体为菲白竹枝条;移栽用基质为蛭石、营养土;供试激素为6-BA,KT,NAA。

1.2 方法

1.2.1 无菌系统的建立

(1)取材时间:外植体的取材分别于出笋当年的秋季9~11月及第2年的春季2~3月进行。

(2)取材方法:从田间生长健壮,性状典型的菲白竹植株上剪取当年生未展叶、枝芽饱满新秆,放入牛皮纸袋中,带回实验室。

(3)材料灭菌:将带回实验室的材料,先用自来水初步冲洗干净,然后将之剪为长3~5 cm含芽的节段,经洗涤剂浸泡15 min后,流水冲洗1~2 h。最后转入无菌操作台进行灭菌。采用75%乙醇30 s和0.11%升汞5~8 min的消毒,无菌水冲洗4~5次

收稿日期:2006-07-06

基金项目:江苏省农业三项工程项目“珍稀观赏竹、园竹优良新品种的引进与产业化技术开发”[编号: SX(2001)050],江苏省农业三项工程项目“观赏苗木新品种的引进”[编号: SX(1999)214]。

第一作者简介:张春霞(1963-),女,副研究员,主要从事竹类植物栽培及生理生态研究。

应用研究

后,切除节段的两端,留取 1.0~1.5 cm 含芽的节作为外植体,接种到初始培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L+3.0%蔗糖。30 d 后将无菌苗转入继代培养基。

(4)培养条件:接种有外植体的培养瓶,置于培养室中,每天光照 12~14 h,光照强度 1 200~1 500 lx。培养室温度 25~30℃。

1.2.2 继代增殖培养

用于菲白竹继代增殖培养的基本培养基为 MS 培养基。培养基中分别附加不同浓度及配比的细胞分裂素和生长素。细胞分裂素种类及使用浓度为:6-BA(1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/L);KT(0.1 mg/L);生长素 NAA(0.01 mg/L)。培养基中均加入浓度为 3%的蔗糖,pH 值为 5.8,以琼脂为凝固剂。约每隔 25 d 转继代 1 次。

1.2.3 生根培养

将用于生根的菲白竹丛生芽约 15 个为 1 丛,转接至生根培养基上。用于菲白竹组培苗生根的基本培养基为 3/4MS 培养基。培养基中分别附加有 6-BA(0、1.0 mg/L)与 NAA(0.02、0.1、0.2 mg/L),共 6 种配方,每种配方接种 48 瓶。蔗糖浓度为 2.5%,pH 值为 5.8,以琼脂为凝固剂。

1.2.4 瓶苗移栽

在室外平均温度达到 20℃以后,进行瓶苗移栽。

瓶苗移栽前,先打开瓶盖置于温室中炼苗 5 d 左右,注意保湿。然后取出小苗,洗去沾在根系上的琼脂,及时移栽到基质中,做好水分管理。

2 结果与分析

2.1 不同取材时期对污染率的影响

研究表明,由于用于菲白竹组培微繁的外植体是带有节的芽,相对于其他植物,外植体较大,不易灭菌,因而无菌系统的建立相对不易,主要表现为高污染率。菲白竹于 4 月上旬开始出笋长竹,6~7 月份旺盛生长,当年 12 月至第 2 年 3 月处于休眠状态。研究表明,不同取材时期所取的菲白竹的芽,经相同灭菌方法处理培养 1 个月后,污染率明显有差异。9~11 月份取当年出笋长成的新秆接种的菲白竹外植体,无菌材料的获得率 40%~50%,而于春季 2~3 月取上年出笋长成的新秆接种的菲白竹外植体,无菌材料的获得率只有 5%~15%。9~11 月份新秆上的芽处于生长分化初期,带菌少,灭菌较容易;而到了第 2 年的春季 2~3 月,新秆上的芽经过了一个冬天,携带了大量的病菌,灭菌困难,因此,于春季 2~3 月取材接种的外植体污染率明显高于 9~11 月的。

2.2 不同激素水平对继代增殖培养的影响

2.2.1 不同激素水平对芽增殖的影响

不同激素浓度对菲白竹芽增殖有不同的效果。

表 1 不同激素水平培养基对菲白竹芽增殖的影响

| 编号 | 培养基组成/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ | | | 平均增殖率/倍 | 编号 | 培养基组成/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ | | | 平均增殖率/倍 | 编号 | 培养基组成/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ | | | 平均增殖率/倍 |
|----|--------------------------------------|----|-----|---------|----|--------------------------------------|----|------|---------|----|--------------------------------------|-----|------|---------|
| | 6-BA | KT | NAA | | | 6-BA | KT | NAA | | | 6-BA | KT | NAA | |
| 1 | 1.0 | - | - | 1.01 | 6 | 1.0 | - | 0.01 | 1.12 | 11 | 1.0 | 0.3 | 0.01 | 1.54 |
| 2 | 2.0 | - | - | 2.12 | 7 | 2.0 | - | 0.01 | 1.94 | 12 | 2.0 | 0.2 | 0.01 | 2.56 |
| 3 | 3.0 | - | - | 3.01 | 8 | 3.0 | - | 0.01 | 2.94 | 13 | 3.0 | 0.2 | 0.01 | 2.78 |
| 4 | 4.0 | - | - | 3.12 | 9 | 4.0 | - | 0.01 | 2.91 | 14 | 4.0 | 0.2 | 0.01 | 3.13 |
| 5 | 5.0 | - | - | 3.29 | 10 | 5.0 | - | 0.01 | 3.15 | 15 | 5.0 | 0.2 | 0.01 | 2.91 |

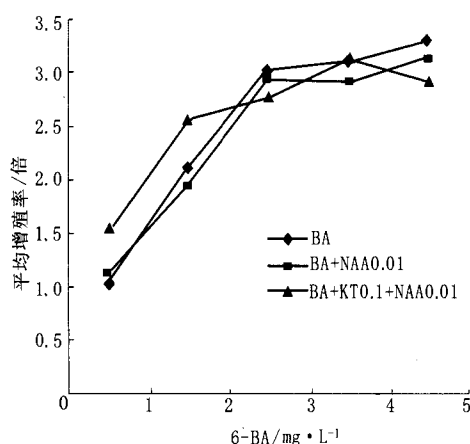


图 1 不同激素水平培养基对芽增殖率的影响
经过长达 1 a 芽继代增殖培养表明,在不同浓度 6-BA

培养基中芽的分化程度有所不同,表现在不同培养基中芽的平均增殖率有较大差异(见表 1、图 1)。

从表 1 及图 1 中可以看出,随着培养基中细胞分裂素 6-BA 浓度从 1 mg/L 提高到 3 mg/L,菲白竹的芽增殖率从 1.0 左右迅速提高至 3.0 左右;当 6-BA 浓度超过 3 mg/L 之后,菲白竹的芽增殖率不再有明显的提高。可见,在低浓度 6-BA 培养基中,芽增殖速度较慢,在高浓度 6-BA 培养基中,芽增殖速度较快;但芽丛的生长状况会出现衰退现象,有时还会出现形态变异的芽丛。附加了生长素 NAA(0.01 mg/L)之后,对菲白竹的芽增殖率没有明显的影响,但经观察对培养壮苗有一定作用。而当培养基中 6-BA 浓度低于 2 mg/L 时,培养基中附加了 KT(0.1 mg/L)后,对

芽增殖有促进作用。当培养基中 6-BA 浓度高于 3 mg/L 时,附加的 KT(0.1 mg/L),已看不到这种促进作用。综合考虑上述各种情况,为达到在最低成本下获得量多质好的瓶苗,选择菲白竹最适宜的继代增殖培养基为 3 号 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 和 8 号 MS + 6-BA 3.0 mg/L,两者交替使用。

2.3 芽苗的变异

在多次继代后,尤其是在高浓度的 6-BA 培养基中,正常生长的菲白竹芽丛中出现两种叶色变异的芽苗,原有的绿白相间的条纹消失,一种芽苗的叶片变为全绿,而另一种芽苗变为白化苗。将它们从正常生长的芽丛中分离出,分别培养在 3 号培养基中,再经多次转基后,白化苗的增殖率不断降低,生长势渐弱,呈现退化生长。叶片为全绿的绿叶菲白竹增殖率可保持在 1.8 左右,并且生长良好,经过近 1 a 的转基培养,仍保持较恒定的芽增殖率及旺盛生长势。

2.4 生根培养

2.4.1 激素对生根的影响

当瓶苗数量达到计划的基数后,就可进入了生根培养。一部分瓶苗继续用于增殖培养,一部分用于生根。菲白竹组培苗生根比较容易,在增殖培养基 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 中就已观察到有少量芽苗生根。参照此配方设计了 2 种处理、3 个水平共 6 种生根配方的生根培养基,芽丛转入生根培养基 30 d 后,瓶苗的生根情况见表 2。

表 2 不同配方培养基中的生根效果比较

| 激素 | 浓度 /mg·L ⁻¹ | 平均生 根率/% | 平均每丛 生根数/条 | 平均根 长/cm |
|-----------------|---------------------------|-------------|---------------|-------------|
| NAA | 0.02 | 87.9 | 3.1 | 4.82 |
| | 0.10 | 100 | 6.2 | 5.31 |
| | 0.20 | 100 | 7.1 | 5.41 |
| 6-BA(1.0) + NAA | 0.02 | 92.1 | 4.8 | 4.41 |
| | 0.10 | 100 | 9.5 | 5.32 |
| | 0.20 | 100 | 9.8 | 5.26 |

表 2 表明,随着培养基中 NAA 浓度从 0.02 mg/L 增加到 0.1 mg/L,菲白竹芽苗的生根率从 90% 左右提高到 100%,平均根长也有所增加,增长幅度最为明显的是每瓶苗丛的平均生根数。在 2 种处理中,平均生根数分别从 3.1 条增加到 6.2 条和 4.8 条增加到 9.5 条,增长率达到了 100%。当培养基中 NAA 浓度从 0.1 mg/L 增加到 0.2 mg/L,菲白竹芽苗的生根率、平均根长及平均每丛生根数均没有明显的增长。

从表 2 中还可看出,在添加了 6-BA 1.0 mg/L 的生根培养基中的平均生根数分别为 4.8、9.5 和 9.8

条,显著高于没有添加 6-BA 1.0 mg/L 的生根培养基中的生根数。这是由于 6-BA 的加入促进了新芽的形成,而非白竹组培苗的根均由新芽上生成的。综上所述,菲白竹生根的最佳培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L。

2.5 瓶苗移栽

经炼苗后的生根瓶苗移栽到下列 3 种环境中:一是具全自动间隙喷雾装置和遮阴棚的扦插池,基质为蛭石,喷雾时间与间隔的长短视天气状况进行调整,以竹苗叶面及基质保持湿润为准;二是塑料大棚里的营养钵中,基质为熟土 + 蛭石(1:1),每日喷水 4 次;三是塑料大棚里的营养钵中,基质为蛭石,每日喷水 4 次。约 28 d 后,菲白竹组培苗在 3 种环境中均有新根产生,移栽成活率分别为 91.2%、47.5% 和 72.1%。可见,将炼苗后的瓶苗移栽到基质为蛭石、有全自动间隙喷雾装置和遮阴棚的扦插池中,成活效果最好。

3 结 语

在进行菲白竹组织培养微繁生产时,适宜在 9~11 月份进行外植体接种,外植体选择当年生秆上分化良好、生长健壮的芽。用于芽继代增殖适宜培养基为 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 和 MS + 6-BA 3.0 mg/L,二者交替使用对培养壮苗更有利。适宜的生根培养基为 3/4MS + NAA 0.2 mg/L + 2.5% 蔗糖。移栽的瓶苗在有全自动间隙喷雾装置、基质为蛭石且具遮阴棚的扦插池中,成活效果最好。

参考文献

- [1]耿伯介,王正平.中国植物志(第九卷第一分册)[M].北京:科学出版社,1996.
- [2]张新明.观赏竹在园林绿化中的功用及其发展方向[J].竹子研究汇刊,1999,18(4):24-26.
- [3]张春霞,谢寅峰,张幼法,等.竹子组织培养研究的进展及应用前景[J].竹子研究汇刊,1999,18(3):46-49.
- [4]谭文岑,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.

(通讯地址:210037,南京市龙蟠路 159 号)

