

毛竹种子“以芽繁芽”组培快繁初步研究*

李 蓉¹ 郭起荣² 曾炳山³ 何高峰⁴

(1 广州市林业科学研究所有限公司 广东 510515

2 国际竹藤网络中心 北京 100102

3 中国林业科学研究院热带林业研究所 广州 510520

4 江西南昌市林业局 南昌 330038)

摘 要: 以毛竹种子为外植体, 通过“以芽繁芽”方式找到了较好的外植体消毒技术、增殖培养基、生根培养基和炼苗移栽技术等, 初步建立了毛竹种胚外植体“以芽繁芽”组培快繁体系。其中最佳消毒时间为10%次氯酸钠溶液0.1%升汞各20min, 消毒成功率可达37%; 最佳增殖培养基为MS+TDZ0.5 mg/L+KT2.0mg/L, 增殖4~5代则衰退; 生根培养基以1/2MS+IBA1.0mg/L+KT0.5mg/L+AC0.1g/L效果较好; 炼苗移植成活率可达69%, 可应用生产。

关键词: 毛竹; 种子; 以芽繁芽; 增殖; 生根; 初探

A Preliminary Study of Tissue Culture and Propagation of Moso Bamboo by Shoot Proliferation

Li Rong¹, Guo Qirong², Zeng Bingshan³, He Gaofeng⁴

(1Guangzhou Forestry Science Institute, Guangzhou, Guangdong, 510515

2International Center for Bamboo and Rattan, Beijing, China, 100102

3The Research Institute of Tropical Forestry, Guangzhou, Guangdong, 510520

4Nanchang Forestry Bureau, Nanchang, Jiangxi, 330038)

Abstract: This study optimized the technologies for disinfection of explants, propagation culture medium, rooting medium, seedlings transplanting, etc. by means of shoot proliferation with Moso bamboo seeds as explants, and preliminarily established the tissue culture and propagation system for explants of moso seeds by shoot proliferation. The best disinfection method is to immerse seed explants in 10% sodium hypochlorite for 20 minutes and then in 0.1% mercuric chloride for another 20 minutes, with the rate of disinfection being 37%; the best propagation culture medium is MS +TDZ 0.5 mg/L+ KT2.0 mg/L, but no matter what medium had been used, there would be a recession after four to five subcultures; the best rooting medium is 1/2 MS+IBA 1.0 mg/L+ KT0.5 mg/L+ AC0.1 g/L; seedling transplanting achieves a good result with the survival rate up to 69%, which can be used for production.

Key Words: *Phyllostachys edulis*, seed, shoot proliferation, multiplication, rooting

毛竹 (*Phyllostachys edulis*) 是集经济效益、生态功能和观赏价值于一身的竹种, 产生着巨大的社会、经济和生态价值。随着对毛竹种质的逐渐深入研究利用, 需要突破传统“移母竹”的繁殖方式, 组培快繁是其便捷途径之一^[1,2]。

在毛竹组培方面, 谭宏超和谢庆华等以毛竹种子为材料进行过无菌苗诱导^[3,4]; 周宏、韩文军等以毛竹春笋为外植体进行愈伤组织诱导获得了成功, 并找到了减轻或避免褐变的方法^[5,6]。本研究以毛竹种子为外植体诱导丛芽, 希望“以芽繁芽”的方式获得大量丛芽及生根苗, 为毛竹组培技术平台的建立逐步积累技术^[7]。

1 材料与方法

1.1 外植体消毒

材料: 广西南宁开花毛竹植株产生的种子。

方法: (1)挑选色泽鲜明、颗粒饱满、无病虫害的毛竹种子, 剥去种壳待用; (2)在超净工作台上, 将干种子一端的小尖头去除, 用75%乙醇擦洗1min; (3)用10%次氯酸钠溶液消毒15—20min, 蒸馏水清洗3次; (4)再用0.1%升汞消毒20—30min, 清洗3次, 完成消毒后, 为避免交叉感染分开接种, 1瓶培养基1粒种子。

1.2 基本培养基对丛芽诱导及增殖培养的影响

采用1/4 MS、1/2 MS、3/4 MS、MS和

* 国家自然科学基金 30460111, 科技支撑2006BAD19B0305资助科技条件, 平台项目2005DKA21003。



B5进行单因子对比试验, 培养一段时间后, 根据丛芽诱导率等指标寻找出适合的基本培养基。

1.3 不同激素配比和浓度对丛芽诱导及增殖培养的影响

将生长调节素BA、TDZ、KT分别设计量级较大的浓度进行单因子试验, BA设1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 5个水平, TDZ 设0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1.0 7个水平, KT设1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 5个水平。根据试验结果缩小激素浓度范围再设计对比试验, 寻找效果较佳的浓度, 最后将几种激素搭配筛选出最佳激素浓度配比。

1.4 不同激素配比和浓度对生根培养的影响

以1/2MS为基本培养基, 添加不同浓度的NAA、IBA、KT等多种激素, 补加活性炭, 同时在增殖培养基的基础上减少蔗糖浓度进行生根, 筛选出最佳生根培养基。

1.5 培养条件

在无特殊说明的情况下, 以上试验培养条件为: 培养温度24—26℃, 光照1600—2000Lux, 每天辅助12—14h光照。

2 结果与分析

2.1 外植体选择和消毒

用0.1%升汞和10%次氯酸钠灭菌, 10d后

开始观察并统计污染率、发芽率和死亡率, 隔4天调查1次, 直到不再出现污染为止, 结果显示: 10%次氯酸钠溶液消毒20min, 蒸馏水清洗3次, 再用0.1%升汞消毒20min, 无菌水洗3次, 即处理4的消毒效果最好, 无菌活体的发芽率可达37% (见表1)。

2.2 基本培养基对丛芽诱导及增殖培养的影响

将获得的无菌种子苗接种到大量元素的对照培养基上, 1个月后调查, 数据显示MS培养基对增殖影响最大, 丛芽诱导率高达65% (见表2)。因此MS培养基最适应毛竹增殖生长, 故下面的丛芽诱导实验均采用MS作为基本培养基。

2.3 不同激素配比和浓度对丛芽诱导及增殖培养的影响

以5个BA浓度水平与7个TDZ浓度水平进行单因子试验, 30d后调查, 试验结果如下:

结果显示, BA浓度为2—3mg/L和TDZ浓度为0.05—1.0mg/L时 (即处理2、3和处理5、6) 丛芽诱导率较高, 产生的丛芽相对较多, 效果较好, 较适合芽苗增殖。在激素浓度过高或过低时, 增殖效果较差, 有的丛芽诱导率甚至为0。统计结果显示, 芽苗高增长量与丛芽诱导率没有显著关系。经过丛芽诱导培养后, 大部分植株上萌发出小芽丛, 有些从节间萌发出丛生

表1 不同灭菌时间对污染率发芽率的影响

处 理	接种数 /粒	污染率 /%	发芽率 /%	死亡率 %
1	48	72.9	8.0	19.1
2	45	66.7	26.7	6.6
3	44	56.8	20.0	23.2
4	45	49.0	37.0	14.0
5	44	50.0	30.0	20.0
6	44	43.0	23.0	34.0

表2 基本培养基对毛竹芽苗诱导的影响

处理号	基本培养基	无菌外植体/个	丛芽诱导率/%
1	1/4 MS	20	20
2	1/2 MS	20	30
3	3/4 MS	20	50
4	MS	20	65
5	B5	20	45

腋芽。根据以上结果将激素浓度范围缩小,使各处理增殖倍数达到最大,从中筛选出适合的激素配比。

通过表4可知,BA浓度范围内,处理2增殖效果最好;TDZ浓度范围内,处理7效果最佳;KT浓度范围内,处理10结果相对较好。但将3组进行整体比较后,增殖效果顺序应为TDZ>BA>KT,TDZ组在丛芽诱导方面都有较强的优势,增殖情况最好。根据以上试验数据设计激素浓度配比试验,筛选最佳增殖培养基(见表5)。

表5显示,处理7效果最佳,丛芽诱导率达到了83.33%,故增殖最佳培养基为MS+TDZ 0.5mg/L+KT2.0mg/L。同时发现加入KT的组合丛芽诱导效果均相对较好,故KT对毛竹丛芽诱导有一定的促进作用。

2.4 不同激素配比和浓度对生根培养的影响

在细胞分裂素不变动的情况下,继代增殖超过4—5代,增殖会出现衰退现象,丛芽增加数明显减少。故一般在增殖2—3代后,将长势较好的增殖苗从基部切开,接种到8种生根培养基上进行壮苗生根,30d后进行调查。

根据表6,在生根数量、生根率和高增长量几个指标方面,处理4效果最好,但在根长方面,处理5效果相对较好。由于影响因子较多,产生的结果也较复杂,所以将数据通过主成分分析确定影响生根率和生根长度的主要因子,从中选择效果较好的培养基。

主成分分析显示,第1主成分F1主要综合了生根数量、生根率、高增长量、生根长度、叶片增加数5个指标的信息;F2主要综合了生根率等指标的信息;F3则主要综合了生根数量、生

表3 BA、TDZ浓度对毛竹无菌种子苗丛芽诱导的影响

处理号	BA (mg/L)	TDZ (mg/L)	接种数 /丛	丛芽诱导率 /%	高增长 /cm
1	1.0	—	20	30.0	2.990
2	2.0	—	20	75.0	4.235
3	3.0	—	20	60.0	2.690
4	4.0	—	16	31.3	1.563
5	5.0	—	16	31.3	0.963
6	—	0.001	16	0.00	2.194
7	—	0.005	16	0.00	2.175
8	—	0.010	16	18.8	1.519
9	—	0.050	16	68.8	3.200
10	—	0.100	16	87.5	4.363
11	—	0.500	16	82.5	4.800
12	—	1.000	16	68.8	4.850

表4 BA、TDZ和KT浓度对毛竹丛芽增殖的影响

处理号	BA (mg/L)	TDZ (mg/L)	KT (mg/L)	接种数 /丛	丛芽 诱导率/%	高增长 /cm
1	1.5	—	—	28	39.3	2.343
2	2.0	—	—	28	64.3	2.439
3	2.5	—	—	28	42.9	2.854
4	3.0	—	—	28	39.3	2.661
5	—	0.1	—	20	45.0	3.560
6	—	0.2	—	20	55.0	3.345
7	—	0.5	—	20	70.0	3.500
8	—	1.0	—	20	50.0	3.165
9	—	—	1.0	16	18.8	1.756
10	—	—	2.0	16	31.3	1.481
11	—	—	3.0	16	25.0	1.963
12	—	—	4.0	16	18.8	1.625
13	—	—	5.0	16	12.5	2.281



表5 不同激素组合对毛竹丛芽增殖的影响

处理号	B A (mg/L)	TDZ (mg/L)	IBA (mg/L)	KT (mg/L)	接种数 /丛	丛芽诱导率 /%	高增长 /cm
1	2.0	—	—	—	28	46.4	3.018
2	2.0	—	—	0.5	28	60.7	3.532
3	2.0	—	0.5	—	28	35.7	2.079
4	2.0	—	1.0	—	28	46.4	2.954
5	—	0.5	—	—	32	78.1	3.413
6	—	0.5	—	1.0	32	81.3	3.281
7	—	0.5	—	2.0	24	83.3	4.588
8	—	0.5	—	3.0	32	75.0	3.447

表6 不同处理对生根率、生根数量、根长和高增长量的影响

处理号	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	KT (mg/L)	接种数 /株	生根数量 /条	生根率 /%	根长 /cm	高增长 /cm
1	1.0	0.3	—	24	27	45.8	0.134	0.654
2	1.0	0.6	—	28	25	57.1	0.162	0.671
3	2.0	0.3	—	28	32	46.4	0.156	0.427
4	2.0	0.6	—	28	56	71.4	0.183	1.325
5	1.0	—	0.5	28	35	67.9	0.287	0.864
6	1.0	—	1.0	24	24	50.0	0.213	0.574
7	2.0	—	0.5	24	31	66.7	0.213	0.671
8	2.0	—	1.0	28	21	42.9	0.113	0.475

根长度等指标的信息。将实验所得数据标准化之后带入主成分公式，得出各处理的主成分值见表7。

以F1为x轴，F2为y轴将处理1—8进行比较，结果显示，由于只有处理5和处理7位于第一象限，且处理5大于处理7，故处理5效果最好。因此，处理5（1/2 MS + IBA 1.0 mg/L + KT 0.5 mg/L + AC 0.1 g/L + 20 g/L琼脂8.8 g/L）对壮苗生根影响最大。但从总体来看，生根长度不够，故最佳生根培养基还有待于进一步调整，以利于下一步研究。

3 结果与讨论

(1) 初步建立了毛竹种胚外植体“以芽繁芽”组培快繁体系。最佳消毒时间为10%次氯酸钠溶液和0.1%升汞各20min，消毒成功率可

达37%；最佳增殖培养基为MS+TDZ0.5mg/L+KT2.0mg/L；生根培养基以1/2MS+IBA1.0 mg/L+KT0.5mg/L+AC0.1g/L效果较好；炼苗移植成活率可达69%，长势良好（见图1—3）。



图1 TDZ+KT诱导增殖

表7 不同处理对壮苗及生根影响的主成分值

处理号	F 1	F 2	F 3	综合值
1	-1.00118	-0.75622	-0.37485	1.25468
2	-0.78731	0.19706	-0.00185	0.81160
3	-1.00797	-0.44076	-0.22825	1.10012
4	3.76021	-1.07472	-0.99426	3.91078
5	1.62268	1.1809	1.02307	2.00689
6	-0.52992	0.52154	0.60236	0.74352
7	0.4359	1.52106	-0.36889	1.58229
8	-2.08613	-0.44844	-0.19397	2.13378



图2 生根结果

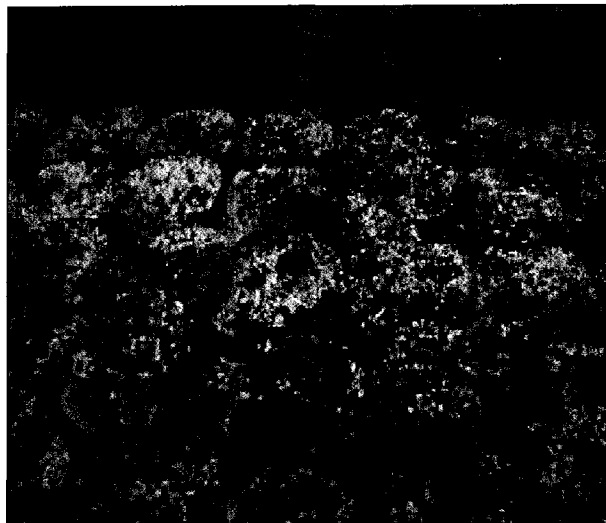


图3 组培苗移栽

(2) 芽苗生根数量可达5-6条, 平均生根数为2条。但根都比较粗短, 不细长, 没有须根。可以调整激素浓度促进生根。

(3) TDZ能使增殖倍数高达8-10倍, 但在增殖4-5代之后会逐渐衰退, 且日趋严重。寻求一种固定的增殖培养基将是下一步研究的重点。TDZ价格昂贵, 生产应用时待于寻求替代品。

参考文献

- 1 江泽慧. 世界竹藤[M]. 吉林: 辽宁科技出版社, 2002
- 2 郭起荣. 珍稀毛竹新品种——厚壁毛竹[J]. 世界竹藤通讯, 2003, 1(3): 40-44
- 3 谭宏超, 王灵昭, 尹芳, 等. 竹子组织培养技术的初步研究. 林业科技通讯, 1998(5): 2627
- 4 谢庆华, 邢溪艳, 谭汝学. 毛竹种子组培技术初步研究[J]. 林业科技通讯, 2000(12): 18-20
- 5 周宏, 何钢. 毛竹愈伤组织培养研究[J]. 湖南林业科技, 2005, 32(4): 41-42
- 6 韩文军, 周宏, 何钢. 毛竹愈伤组织培养中褐变现象的研究[J]. 湖南林业科技, 2004, 31(3): 4-5
- 7 李蓉, 曾炳山, 何高峰, 等. 竹子组织培养的研究进展及趋势[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(11): 4405-4407, 4434

国外动态

印度竹材制浆造纸

印度竹材造纸发展较早, 于1951年建立了第一座竹浆厂, 至19世纪50年代中叶, 竹浆产量曾达到全国纸浆总产量的73.6%。虽然之后一段时间处于下降趋势, 随着竹产业的变革发展, 目前印度是世界上使用竹材造纸最多的国家。在该国竹是造纸的主要原料。全国近百个造纸厂中1/2以上是以竹子为原料。估计竹材在造纸原料中的比例为45%-60%。20世纪80年代中期竹浆产量为310万t, 本世纪末产量

达400万t。用竹浆生产的纸品种繁多, 有牛皮纸、包装纸和新闻纸等, 还制成贴面纸、证券纸和文具纸等高级用纸。印度将近60%的制浆来自竹子, 竹子易腐蛀, 大约20%的竹原料遭到破坏。印度林业研究所对防腐剂的种类、性能、采取的处理方法以及经济效益作了大量研究和评估。

——竹业信息