

浩浩巴组织培养和快速繁殖

姚 军 张燕玲 林 荣

(广西植物研究所, 桂林 541006)

摘 要 浩浩巴顶芽、茎段在 MS 基本培养基中培养, 附加植物激素 1~2 mg/L 的 BA 或 ZT 和 0.2mg/L 的 NAA 配合使用明显促进芽苗形成。诱导生根采用两步生根法能有效地提高生根率。试管苗移栽获得成活。

关键词 浩浩巴; 组织培养; 植物激素; 两步生根法

TISSUE CULTURE AND RAPID PROPAGATION OF JOJOBA

Yao Jun Zhang Yanling Lin Rong

(Guangxi Institute of Botany, Guilin 541006)

Abstract Shoot tip, stems of jojoba (*Simmondsia chinensis*) were culture in vitro on MS medium. In combination of ZT (1~2mg/L) or BA (1~2 mg/L) and NAA (0.2 mg/L) markedly stimulated the bud formation. The number of rooting plants were increased by a two-step procedure involving different media. Transplanting of the test-tube plantlets in the field was succeeded.

Key words Jojoba; tissue culture; plant hormones; a two-step procedure to induce roots

浩浩巴 (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneid.) 是西蒙得木科多年生常绿木本油料植物, 原产美国西南部和墨西哥西北部的荒漠地带, 其种子含有 45~50% 的可代替鲸蜡油的液态蜡, 是一种耐高温高压的高级润滑油, 广泛应用于机械、航空等行业, 具有极高的经济价值, 世界许多国家和地区都积极引种栽培, 我国的云南、福建、广西等省区于 1978 年开始引种, 现已普遍开花结果, 种植浩浩巴已经成为一种新兴的产业。

浩浩巴是雌雄异株植物, 在造林管理上的雌雄株比例为 15:1⁽¹⁾, 因实生繁殖雌雄株比例约各占 50%, 而且苗期性别难以区分, 加上无性繁殖率低, 影响了浩浩巴生产的发展。因此进行浩浩巴成年树组织培养, 繁殖出高产、抗病和适生的无性系便可按比例的种植浩浩巴, 并加速优良植株的繁殖。用组织培养法繁殖浩浩巴国内外已有若干报道^(1, 2, 3), 但因诱导生根和试管苗移栽技术未彻底解决而未能投入生产应用。本文报道浩浩巴成年优良植株的组织培养快速繁殖技术。

1 材料和方法

采用6年生植株上当年抽出的幼嫩枝条作外植体,常规表面消毒后将带有茎尖或腋芽的外植体切割成长为1 cm的小段,在无菌条件下接种于培养基中。培养基采用MS^[4]、White^[5]、WPM^[6]基本培养基,附加1%~4%糖分进行对比试验,细胞分裂素BA或ZT 0.5~5.0 mg/L单独或和生长素NAA 0.002~0.2 mg/L配合使用;培养基用粉状琼脂4~5 mg/L进行固定,pH为5.8,培养基在1 kg/cm²、120℃饱和蒸汽下灭菌20 min。接种材料在25±2℃的培养室中培养,每天光照10 h,光照强度约2 000 lx。

分化试验,每处理接种材料20块,重复3次,培养一个月后统计形成芽数、嫩梢数和梢长,然后求其平均值,并检验各处理差异显著性。诱导生根每处理30株,重复3次,培养60 d后记录生根情况。

2 结果和讨论

2.1 无菌培养物的建立

消毒后的浩浩巴外植体在附加了一定浓度的ZT、BA和低浓度的NAA的培养基中培养10天后,外植体表面开始形成淡黄色、结构紧密的愈伤组织,20天后顶芽、腋芽开始萌动伸长,继续培养,顶芽、腋芽长成约0.5~1 cm长、带1~2个节的嫩梢,切下嫩梢,培养于同一培养基,嫩梢迅速生长并抽出新芽,20天后新芽长成约4~5 cm长、带3~4个节的枝条,可继代培养或诱导生根。

2.2 基本培养基对器官形成、增殖与生长的影响

浩浩巴的芽苗在含相同浓度细胞分裂素的不同基本培养基中培养,其结果(表1)表明,这3种基本培养基虽然在嫩梢长度上无差异,但在形成的芽和嫩梢的数量上,MS培养基显著优于其它两种基本培养基。考虑到MS培养基属于高浓度盐分的培养基,因此浩浩巴芽苗更适合在高盐分培养基中培养,所以我们选定MS培养基为以后试验的基本培养基。

2.3 糖分浓度对器官形成的影响

培养基的渗透压对于诱导细胞分裂、增殖有重要的作用。糖分浓度对器官分化的影响与改变培养基的渗透压有关,同时糖分也是组培苗碳源供给者,直接影响细胞的分化与生长。在MS培养基中采用1%、2%、3%、4%的不同糖分浓度的试验结果(表2)表明,不同的糖分浓度在芽、嫩梢形成和嫩梢长上均有差异,其中以3%浓度为最佳。

2.4 植物激素对器官形成的影响

茎段培养于附加了不同浓度的细胞分裂素ZT、BA单独或低浓度生长素NAA配合使用的1/2 MS培养基中,试验结果(表3)表明,细胞分裂素对浩浩巴芽苗的增殖与生长是必需的。在对照中,培养的芽仅自身生长形成一个芽或梢。BA、ZT在一定浓度范围内对茎段腋芽和顶芽的生长和增殖都有促进作用,但它们的作用程度又十分不同。从表3可以

表1 培养基对器官形成的影响¹⁾

基本培养基	芽数(个)	嫩梢数(条)	梢长(cm)
MS	2.10 ^a	1.30 ^a	3.63 ^a
White	1.20 ^b	0.70 ^b	3.16 ^a
WPM	1.25 ^b	0.70 ^b	3.07 ^a

1) 表内字母不同表示在5%水平下差异显著,下表同。

表2 糖分浓度对形成芽、苗的影响

糖分浓度(g/L)	芽数(个)	嫩梢数(条)	嫩梢长(cm)
10	1.10 ^b	—	—
20	1.50 ^b	0.25 ^c	0.38 ^c
30	2.20 ^a	1.10 ^a	4.10 ^a
40	1.20 ^b	0.70 ^b	2.98 ^b

看出, ZT 明显促进芽苗的形成, 在 3.0 mg/L 浓度范围内随浓度升高, 形成的芽、嫩梢数也随着增加; 而 BA 处理的培养基中, 诱导效果比 ZT 差, 无论 ZT 还是 BA, 当其浓度为 3.0 mg/L 时, 形成的芽, 嫩梢均产生变态状, 表现为叶子肥大、透明, 成玻璃状, 此外当 NAA 和 ZT 或 BA 配合使用时, 低浓度的 NAA 对芽、嫩梢形成起促进作用, 从表 3 中看出, 0.2 mg/L 的 NAA 和 2.0 mg/L ZT 或 1.0 mg/L BA 配合使用时, 其所形成芽、嫩梢数及梢长显著高于其它组合, 因此促进浩浩巴芽苗的增殖的培养基以 MS+ZT 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 或 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 为适宜, 浩浩巴芽苗在这两个培养基中培养以 3~4 倍速度增殖, 形成有效梢为 75%。

2.5 植物激素对生根的影响

木本植物试管苗在诱导生根中是很困难的, 在浩浩巴试管苗诱导生根中尤其突出。国外曾有人把试管苗基部先刻伤, 然后浸入 PVP 液和 10^{-3} M IBA 液若干时间再放于含 10^{-5} M NAA 或 10^{-5} M IBA 的 1/2 B₅ 或 1/2 MS 培养基中诱导生根^[2]。这种方法虽有一定的生根率, 但作法复杂, 不利于大量繁殖。为了找出有效的诱导生根方法, 我们分别采用一步生根法和两步生根法进行浩浩巴诱导生根试验, 结果表明(表 4、5), 一步生根法诱导生根不理想, 生根率最高仅为 30%, 而且苗基部的愈伤组织也随着生长素浓度升高而增多, 形成的根较粗和短小, 影响了移栽成活; 两步生根法则有效地提高了生根率, 其中以无根苗在含 5.0 mg/L IBA 的 1/2 MS 培养基中培养 4 天后转入无生长素的 1/2 MS 培养基中培养的处

表 3 激素对器官增殖与生长的影响

浓度或比例 (mg/L)	芽数 (个)	嫩梢数 (条)	嫩梢长 (cm)
ZT : NAA			
0 : 0	1.00 ^c	0.35 ^c	1.30 ^c
0.5 : 0	1.50 ^{bc}	0.50 ^c	1.70 ^{bc}
1.0 : 0	1.85 ^{bc}	1.35 ^b	1.85 ^{bc}
2.0 : 0	2.50 ^b	2.00 ^a	3.00 ^b
3.0 : 0	3.15 ^b	2.50 ^a	4.00 ^a
5.0 : 0	3.00 ^b	1.30 ^b	2.24 ^b
0.5 : 0.002	1.25 ^c	1.05 ^b	2.00 ^b
1.0 : 0.02	3.00 ^b	2.50 ^a	5.34 ^a
2.0 : 0.2	5.00 ^a	3.00 ^a	7.20 ^a
3.0 : 0.5	2.00 ^{bc}	1.70 ^b	2.50 ^b
5.0 : 1.0	1.55 ^{bc}	1.10 ^{bc}	1.00 ^c
BA : NAA			
1.0 : 0	2.10 ^{bc}	1.20 ^b	2.57 ^b
3.0 : 0	3.00 ^b	0.90 ^b	2.52 ^b
5.0 : 0	1.80 ^c	0.95 ^b	1.81 ^{bc}
1.0 : 0.2	4.20 ^a	3.24 ^a	4.50 ^a
3.0 : 1.0	2.30 ^b	1.00 ^b	1.80 ^{bc}
5.0 : 2.0	1.80 ^c	0.80 ^b	1.60 ^c

表 4 植物激素对诱导生根的影响

激素浓度 (mg/L)	接种数 (株)	生根株数 (株)	生根率 (%)
NAA 0.5	100	10	10
NAA 1.0	100	7	7
NAA 2.0	100	7	7
IBA 0.5	100	10	10
IBA 1.0	100	20	20
IBA 2.0	100	26	26
IBA 5.0	100	30	30

表 5 不同处理时间对生根的影响

激素浓度 (mg/L)	处理时间 ¹⁾ (d)	接种数 (株)	生根数 (株)	生根率 (%)
IBA 1.0	2	100	7	7
	4	100	23	23
	6	100	15	15
IBA 5.0	2	100	30	30
	4	100	70	70
	6	100	40	40

1) 处理后转 1/2 MS.

理生根率最高达 70%, 而且试管苗基部无愈伤组织, 根系生长良好, 平均根数 2~3 条, 最多可达 5 条, 一个月后这些根可长至 3~4 cm, 并具细小的侧根。两步生根法诱导根的效果

远优于一步生根法,原因可能是两步生根法的第一步是无根苗在生长素作用下形成较多的根原基,第二步是在无生长素的抑制作用下让根伸长并正常生长,解决了根原基的发生与根伸长之间的矛盾,并减少了愈伤组织的形成。这种分阶段诱导根的办法在一些温带果树的组织培养中已有采用^[7]。

浩浩巴无菌苗在适宜培养基中培养,约一个月后形成丛生芽,并有个别发育形成嫩梢,将丛生芽分割进行继代培养,嫩梢转入生根培养基,约40天形成根获得完整植株。

2.6 试管苗移栽

浩浩巴试管苗移栽较难成活,据了解,目前还未有有效的方法来提高试管苗的移栽成活率。我们进行了不同移栽时期、不同基土、炼苗与否以及根系生长情况对移栽成活的影响等试验。根据试验情况,移栽时期、基土和根系生长情况对移栽成活率均有一定影响,在春秋季节,采用河沙和草皮泥混合作基质,当无根苗基部有根原基突起时即可移栽,移栽后加盖保持湿润,60天后幼苗开始抽新梢,移栽获得成功。

我们采用浩浩巴成年高产的雌株茎段,用组织培养达到了快速繁殖的目的,但由于浩浩巴需要特殊的栽培环境,其试管苗亦需要某种特殊方法管理才能提高移栽成活率。目前我们移栽成活的植株生长良好,和常规繁殖的苗木无遗传上的差异,这证明了用组织培养方法来加速繁殖苗木是可行的。

参 考 文 献

- 1 Jauhar P P. Micropropagation of jojoba cultivars. *In vitro*, 1983, 19(3): 249
- 2 T L Rost, Maud A W Hinchin. Preliminary report of the production of callus, organogenesis and regeneration of jojoba (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneid.) in tissue culture. *J. Hort. Sci.*, 1980, 55(3): 299~305
- 3 郑若仙、李启任. 西蒙得木茎段组织培养中腋芽生长和增殖的激素调节. 天然产物研究与开发, 1989, 1(1): 95~100
- 4 Murashige T, F Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. plant*, 1962, 15: 473~497
- 5 White P R. The cultivation of animal and plant. New York: Ronald press, 1963
- 6 Mclown B H *et al.* A mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species. *Hort. Science*, 1981, 16:453
- 7 John H Doddds. Tissue culture of trees. American edition. The Avipublishing Company, Inc Westport, Connecticut. 1983, 71~74