

木薯产业化组培育苗技术研究

时 群,何贵整,陈乃明,陈丽文,梁小娟,杨利平

(钦州市林业科学研究所,广西 钦州 535000)

摘要:以“NE199”和“钦州本地”木薯优良品种为材料,进行木薯产业化组培育苗技术研究。结果表明:组培微型扦插培养基使用 $MS+BA\ 0.06\sim0.08\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}+GA_3\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}$,培养光照强度 $1\ 500\sim3\ 000\ lx$,培养温度 $25\sim30\ ^\circ C$,繁殖系数可达 $4.0\sim4.2$,腋芽萌芽率达 90% 以上,玻璃化率和叶片黄化率可控制在 2% 和 6% 以内,移栽基质为黄心土:河沙 $=8:1$,移栽成活率可达 90% 以上,可以实现木薯组培育苗产业化生产。

关键词:木薯;组织培养;微型扦插;产业化

中图分类号:S533.043

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)11-0025-03

木薯不仅是热带、亚热带地区的一种重要经济作物,而且也是非粮作物中最佳的生物质能源品种,是燃料乙醇的主要原料,已列为国家重要的战略资源^[1-3]。广西是我国最大的木薯产区和淀粉加工基地,木薯种苗需求量很大^[4]。利用组织培养技术快速繁殖木薯种苗是良种推广的最佳途径^[5-7],但是木薯组培育苗中存在玻璃化、芽分化少、叶片黄化等问题,制约了组培苗规模化生产。钦州市林业科学研究所引进的“NE199”和“钦州本地”木薯优良品种为材料,针对木薯组培苗产业化生产中常见的一些问题,改进技术,优化生产流程方面进行了研究,旨在推动优质木薯种苗的生产及在广西的辐射推广服务。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为“NE199”和“钦州本地”木薯优良品种。

1.2 方法

1.2.1 外植体处理 将木薯秆切成 $25\sim30\ cm$ 长的插条,基部浸蘸 $100\ mg\cdot L^{-1}$ 的 IBA 溶液约 $1\ m$,扦插在黄心土:河沙 $(8:1)$ 基质中,待萌发新芽时,切取由新芽长出的约 $10\ cm$ 长的茎段作外植体。将新芽叶子去掉后,用自来水冲洗干净,在超净工作台上,在 70% 酒精中浸泡 $30\ s$ 后,用 0.1% $HgCl_2$ 溶液浸泡消毒 $8\ min$,再用无菌水冲洗 $4\sim5$ 遍。

1.2.2 无菌芽的诱导 将已经处理好的外植体材料剪成带 $1\sim2$ 个腋芽的茎段,接种到芽诱导培养基中,培养 $5\sim10\ d$ 后,茎段的腋芽开始萌动、生长、伸长,一般 $20\sim25\ d$ 可长成 $3\sim6\ cm$ 长的茎段。

1.2.3 试管苗的扩繁 组培微型扦插技术扩繁,将在芽诱导培养基上长出来的 $3\sim6\ cm$ 长的茎段,剪切成 $1\sim2\ cm$ 长、带 $1\sim2$ 个腋芽的小茎段,接种到无菌组培微型扦插培养基上。培养约 $20\ d$,长至约 $6\sim8\ cm$ 、具多叶片和完整根系的试管苗后,观察统计繁殖系数(带叶茎节位数),腋芽(或顶芽)萌动率、黄化苗百分率、玻璃化率以及生长情况。每瓶选取 $1/3$ 量的健壮试管苗剪去基部根系,切取茎段重复上述过程进行扩繁操作。每瓶约有 $2/3$ 量的试管苗留在原瓶中炼苗后可进行移栽。

丛生芽繁殖技术扩繁:芽诱导培养基上长出的单芽萌发成丛生芽后,再把丛生芽剪切分成单芽,培养约 $20\ d$,观察生长情况。选取一部分单芽在继代培养基中继续诱导丛生芽进行培养扩繁;另一部分单芽转入生根培养基中进行生根诱导。

1.2.4 培养基及培养条件 芽诱导培养基: $MS+BA\ 0.1\ mg\cdot L^{-1}$;组培微型扦插培养基设置:

$S1: MS+6-BA\ 2.0\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}$; $S2: MS+6-BA\ 1.0\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}$; $S3: MS+6-BA\ 0.2\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}$; $S4: MS+6-BA\ 0.1\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}$; $S5: MS+6-BA\ 0.2\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}+GA_3\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}$; $S6: MS+6-BA\ 0.1\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}+GA_3\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}$; $S7: MS+6-BA\ 0.08\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}+GA_3\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}$; $S8: MS+6-BA\ 0.06\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}+GA_3\ 0.02\ mg\cdot L^{-1}$

收稿日期:2012-09-04

基金项目:钦州市科学研究与技术开发计划资助项目(20123602)

第一作者简介:时群(1970-),女,广西壮族自治区全州县人,学士,高级工程师,从事林木及药用植物生物技术与开发。E-mail:shiqunhao@163.com。

0.02 mg·L⁻¹。

在这些培养基中均加入 3.0%蔗糖和 0.30%琼脂,pH5.6~5.8,培养温度(25±2)℃(进行温度试验时除外),光照时间 12 h·d⁻¹,光照强度 1 500~3 000 lx(进行光照试验时除外)。

1.2.5 光温条件设置 以 S8 为基本培养基,光照强度设 500、1 000、1 500、2 000、2500、3 000 lx;培养温度设 10、15、20、25、30℃。

1.2.6 移栽及管护 移栽宜在塑料遮荫大棚中进行,移栽基质按黄心土:河沙为8:1的比例拌匀,用 8 cm×12 cm 的营养袋装好备用。移栽前一天用 0.1%高锰酸钾溶液进行消毒,移栽时用清水把基质淋透。移栽前小心取出小苗,用自来水冲去附着在根上的培养基,移栽在营养袋基质中,棚内相对湿度保持在 90%以上,温度控制在 15~30℃,每间隔 7 d 喷施 1 次杀菌剂及复合肥。

表 1 不同生长调节剂及对比对木薯组培微型扦插的影响

Table 1 The effect of different growth regulators and ratio on micro-cuttage of cassava tissue culture							
培养基 Medium	繁殖系数 (节位数) Propagation coefficient	腋芽萌 发率/% Axillary bud sprouting rate	株高/ cm Plant height	玻璃化率/ % Vitrification rate	叶片黄 化率/% Leaf yellow rate	出根率/% Rooting rate	生长情况 Growth condition
S1	1.8	10.5	1.2	40.5	90.5	10.2	茎芽未见伸长、萌发,叶黄
S2	2.2	15.2	1.5	30.2	88.6	20.3	茎芽未见伸长、萌发,叶黄
S3	3.0	60.3	2.5	10.0	50.3	50.6	茎芽伸长、萌发,叶微黄
S4	3.0	70.6	2.9	10.5	30.5	68.6	茎芽伸长、萌发,叶微黄
S5	3.2	62.5	3.2	5.5	20.5	70.0	茎芽伸长、萌发,叶绿
S6	3.5	75.3	4.0	4.0	20.6	70.5	茎芽伸长、萌发,叶绿
S7	4.2	95.6	6.5	2.0	5.0	96.8	茎芽伸长、萌发,叶绿
S8	4.0	90.6	6.2	2.0	5.0	96.0	茎芽伸长、萌发,叶绿

2.2 培养温度和光照强度对木薯组培微型扦插的影响

温度对木薯微型扦插的影响较大,从表 2 可见,温度在 15℃以下,繁殖系数、腋芽萌发率、出根率较低,玻璃化率较高,试管苗叶片发黄,极少萌动发芽,最后大部分死亡,木薯组培微型扦插适

2 结果与分析

2.1 不同生长调节剂及对比对木薯组培微型扦插的影响

接种到无菌组培微型扦插培养基上的茎段,培养约 20 d,从表 1 可见,在 S1 培养基中 6-BA 浓度为 2.0 mg·L⁻¹时,小苗叶片黄化率达 90.5%,难以继续培养,随着 BA 浓度不断降低,小苗叶片变绿、腋芽萌发,玻璃苗减少,小苗生长健壮,在培养基 S7 中 6-BA 浓度为 0.08 mg·L⁻¹时,繁殖系数达到 4.2。在 S5、S6、S7、S8 培养基中加入 GA₃ 0.02 mg·L⁻¹使小苗节位数增加,茎伸长,获得较高的繁殖系数,叶片变绿,顶芽长势好。通过对比,认为试管苗在培养基 S7 中扩繁,繁殖系数较高,腋芽萌发,茎节伸长,叶片青绿,植株生长健壮。

宜的温度为 25~30℃。光照强度对木薯微型扦插有一定的影响,光照过弱,低于 1 000 lx 时,小植株细弱,叶片黄化、腋芽不萌动;当光照强度达到 1 500 lx 以上时,新芽萌发生长,叶片青绿舒展,小植株长势快,根系发达,茎粗壮。

表 2 培养温度和光照强度对木薯组培微型扦插的影响

Table 2 The effect of temperature and light intensity on micro-cuttage of cassava tissue culture											
项目 Item	温度/℃ Temperature					光照强度/lx Light intensity					
	10	15	20	25	30	500	1000	1500	2000	2500	3000
繁殖系数 Propagation coefficient	1.0	1.5	3.2	4.2	4.0	2.2	3.0	3.8	4.2	4.0	4.0
腋芽萌发率/% Axillary bud sprouting rate	10.1	40.5	60.2	90.6	88.6	60.0	80.0	95.6	95.9	96.0	96.5
玻璃化率/% Vitrification rate	18.2	15.3	6.2	1.2	2.5	15.3	3.0	2.0	2.0	1.0	1.0
叶片黄化率/% Leaf yellow rate	90.5	60.3	20.5	5.0	5.0	15.0	5.0	4.8	4.5	4.2	4.2
出根率/% Rooting rate	5.2	10.5	85.3	96.0	95.8	90.5	96.2	95.6	94.8	95.0	92.3

2.3 组培微型扦插技术和丛芽繁殖技术对木薯试管苗扩繁的影响

从表 3 可以看出,两条技术路线的优缺点,丛生芽技术繁殖系数较低,培养阶段分为继代培养

和生根培养两个阶段,培养周期需 40 d,小植株叶片发黄,腋芽极少萌动,最后大部分死亡,无芽苗诱导生根。微型扦插选用低浓度生长调节剂,茎芽伸长、萌发,叶绿,繁殖系数高,继代培养和生根

培养在同一种培养基中进行,培养周期只需 20 d, 组培生产效率高,能够应用于产业化组培育苗。

表 3 两组组培技术路线比较

技术路线 Technology route	繁殖系数 Propagation coefficient	培养周期/d Periodic cultivation	玻璃化率/% Vitrification rate	叶片黄化率/ % Leaf yellow rate	出根率/% Rooting rate	试管苗生长表现 Growth performance of plantlet
丛生芽 Multiple shoot	1. 2	40	>10	>30	—	叶片发黄,极少萌动发芽
微型扦插 Micro-cuttage	3. 2	20	<5	<10	96. 8	茎芽伸长、新芽萌发,叶绿

注:培养周期指从切取茎段进行继代增殖培养开始到生根诱导完成的时间。
Note:Periodic cultivation mean the time from the beginning of cut stem segment culture to the end of rooting inducement.

2. 4 炼苗及移栽

木薯试管苗在湿度、温度、光照适合的培养室中培养,比较娇弱。欲移栽成活,必须经过炼苗以适应外界条件。将生根瓶苗移至室外培养架上,利用自然光炼苗,以 10~15 d 为宜,当叶片由浅绿转为深绿,茎木质化程度增高,即可移栽,移栽适宜温度在 20~30℃。温度在 10℃以下,木薯移栽苗叶片变黄,难以成活,不易移栽。

3 结论与讨论

木薯组培育苗的研究与报道较多,受基因型制约,不同品种建立体系的效果差异很大,因此要针对品种的特性来改变培养的技术和培养方法。组培育苗可采用丛生芽繁殖和微型扦插技术^[8],该研究表明,采用常规丛生芽组培技术扩繁“NE199”和“钦州本地”木薯试管苗难以实施,主要是在高浓度激素中,试管苗腋芽不萌发,叶片变黄、死亡;而采用微型扦插技术扩繁,培养基中激素浓度较低,继代培养和生根诱导是在同一种培养基中进行,生产周期 20 d,比常规丛生芽组培技术扩繁缩短 20 d,同时在低浓度激素培养基中,这种“以芽繁芽”方式繁殖的种苗变异少,性状均一。采用组培微型扦插技术扩繁措施为:培养基使用 MS + BA 0. 06 ~ 0. 08 mg · L⁻¹ + NAA 0. 02 mg · L⁻¹ + GA₃ 0. 02 mg · L⁻¹,培养光照强度 1 500~3 000 lx,培养温度 25~30℃,繁殖系数可达 4. 0~4. 2,腋芽萌芽率达 90%以上,玻璃化

率和叶片黄化率可控制在 2%和 6%以内,培养周期约 20 d,小植株生长健壮,根系发达,叶片舒展青绿。移栽基质为黄心土:河沙=8:1,移栽成活率可达 90%以上,可实现木薯产业化组培育苗。

温度对木薯组培微型扦插有较大影响,温度在 15℃以下,组培苗叶片变黄,芽不萌发,因此在冬天,组培室可采取加温措施使温度达到 25℃左右。温度也影响移栽成活率,温度在 10℃以下,木薯移栽苗叶片变黄,难以成活,不易移栽,在产业化育苗中,可建立温室大棚,确保幼苗安全过冬。

参考文献:

[1] 罗振敏,吴寅宝,胡平华,等. 木薯高产栽培技术[J]. 现代园艺,2009(10):45.
[2] 卢庆南,陆宇明,莫彬,等. 广西木薯产业发展现状与对策[J]. 农村经济与科技,2008,19(12):66-68.
[3] 国务院办公厅. 国务院办公厅关于促进我国热带作物产业发展的意见[J]. 中国热带农业,2010(6):4-5.
[4] 班美玲,周生茂,韦本辉,等. 广西能源木薯可持续发展的优势、问题和对策[J]. 安徽农业科学,2007,35(33):10824-10827.
[5] 覃艳,陈宇. 木薯组织培养快速繁殖的研究[J]. 广西农业科学,2007,38(1):35-37.
[6] 单雪禅. 木薯组织培养繁殖技术的研究[J]. 广西热作科技,1993(4):32-34.
[7] 莫饶,吴繁花,叶剑秋,等. 木薯离体培养的研究[J]. 华南热带农业大学学报,2003,9(1):1-5.
[8] 邹瑜,林贵美,张瑛,等. 毛葡萄产业化组培育苗技术研究[J]. 西南农业学报,2003,16(3):65-68.

Study on Industrialization Tissue Culture
Seedlings Technology of Cassava

SHI Qun, HE Gui-zheng, CHEN Nai-ming, CHEN Li-wen, LIANG Xiao-juan, YANG Li-ping
(Qinzhou Forestry Research Institute, Qinzhou, Guangxi 535000)

Abstract: Taking ‘NE199’ and ‘the Qinzhou local’ cassava as experiment materials to study industrialization tissue culture seedlings technology. The results showed that: The micro-cuttage medium using MS+BA 0. 06~0. 08 mg · L⁻¹ + NAA 0. 02 mg · L⁻¹ + GA₃ 0. 02 mg · L⁻¹, light intensity of 1 500~3 000 lx and incubation temperature of 25~30℃, the propagation coefficient could up to 4. 0~4. 2, axillary bud sprouting rate could reach above 90%, the vitrification rate and leaf yellowing rate could be controlled within 2% and 6%. With the cultivation loess: sand=8:1, the transplanting survival rate could reach more than 90%, which could achieve the industrialization of cassava plant tissue culture.
Key words: cassava; tissue culture; micro-cuttage; commercial application