西蒙得木组织培养繁殖技术的研究

阙国宁 诸葛强

林鑫民

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所) (福建省科学技术委员会情报研究所)

擅要 通过对西蒙得木 [Simmondsia chinensis (Link)] 组织培养大批量繁殖技 术的研究, 探索基本培养基、生长调 节物质及蔗糖含量等对燃梢增殖及生根的影响、结果表明,采用春季生 长的 1 年生实生苗以及 6 年生高产的优株茎节作外植体, 培养于含有 ZT 1~3 mg/L 或 BA 1~3 mg/L和 NAA 0.01~0.1 mg/L 的MS培养 基中, 经30~40天, 几乎所有腋芽均能长成嫩梢, 切 取长达 4 ~ 6 cm的嫩梢, 培养于含有NAA的1/2MS 培养基中, 经 1 周暗培养, 1 个月后生 根率 达93 %,小植株移栽于含砂土的基质中,保持湿润,获得成功。用幼苗及优株作外植体的培养效 果无显著差异,说明此法不受遗传型的限制。

关键词 西蒙得木,组织培养,繁殖,外植体

西蒙得木(Simmondsia chinensis (Link))又称霍霍巴, 黄杨科西蒙得木属(现单独列为 西蒙得木科),系多年生灌木,原产美国加利福尼亚州、亚利桑那州和墨西哥北部的荒漠地 带,具有很强的耐瘠、耐沙荒、耐盐碱能力。它的种子含有44%~59%纯度高、燃点高、澄 清透明浅黄色的液体腊,该腊已被广泛用于航空、石油、机械、化妆、药品等工业 部门。近 年来它的栽培利用倍受国际上重视,许多国家竞相发展,可望成为一种新兴的产业。

我国于1978年开始引种于云南、福建、广西等地,据福建省东山县调查,5年生高产单 株产籽量达44 g, 种子含油 率达49.8 %1, 该县计划从1990年起大规模育苗造林使其 获 得 实际经济效益。鉴于西蒙得木为雌雄异株植物,实生繁殖雄株比例超过50%,而造林管理的 雌雄比为15:1[1], 加之常规方法无性繁殖率低, 为此应用组培方法繁殖高产、具抗性、适生 的无性系已引起重视,并有若干报道[1,2],然而多数属于培养基筛选及胚培养的应用等。本 文着重报道具有批量生产成年优株无性系能力的组织培养技术,据悉国内尚未见有系统的、 正式发表的文章。

材料与方法 1

第4卷 第5期

1991年10月

植物材料选自生长于福建省东山县的1年生实生苗单株及6年生丰产优株的春梢茎节 段, 经精心冲洗及无菌处理后,剪成带有二个对生隐芽长约 0.5 cm 的 节,作为接种的原始外 植体,培养于含有 20 ml 无菌培养基的试管中。为了筛选最适于西蒙得木形态发生、嫩梢增 殖、生长及生根的培养基,本试验分别就不同的基本培养基、不同的生长调节物质及配比、 不同的蔗糖含量等方面进行比较试验,其中所采用的基本培养基有。MS、SH[3]、Anderson[4]

本文于1990年10月25日收到。

¹⁾ 林鑫民等, 1989, 霍霍巴引种试验研究, 科学技术成果鉴定证书, 1989闽科鉴字001号。

和 WPM^[5];生长调节物质有: 玉米素(ZT),浓度 $0\sim10~mg/L$; 6-苄基氨基嘌呤 (BA),浓度 $0.5\sim5~mg/L$;以及奈乙酸(NAA),浓度 $0\sim2~mg/L$; 蔗糖浓度分别为10.~20.~30.~40~g/L。试验材料培养于温度为 $25\pm3~°$ 、光照强度为 3~000~lx,每日光照时间为 $12\sim14~h$ 的培养室中。全部试验各处理均重复 10~次。培养一个月后分析其培养效果,统 计 萌发率,计算每一外植体所诱导的嫩梢(芽)数(包括已伸长和未伸长的丛生芽),已伸长的嫩梢长度总和以及所伸长嫩梢的节数总和,然后求其平均值,用Duncan's 新复极差测验,以分别检验各处理差异显著性。鉴于西蒙得木组培继代培养是以无菌芽节段为材料,所诱导的芽及嫩梢数、嫩梢长度,特别是嫩梢上的芽节数直接影响连续继代培养的繁殖率,这 也是 商业性生产潜力的表现,为此,本试验将节数作为观察和统计的重要指标。

2 结果分析

2.1 愈伤组织诱导与嫩梢生长概况分析

原始节(芽)段外植体在含有ZT和微量NAA的MS培养基中,经60天培养,在原叶腋的隐芽处脱分化产生白色的愈伤组织,结构致密,表面有许多圆形突起,随着培养后培养基的逐渐变干,在白色的愈伤组织表面开始出现1~3个绿色的肉眼可见的再分化芽点,经10天,其中1~2个芽点迅速生长成长度达0.5~0.8 cm的带1个节的嫩梢,切下此嫩梢,继代培养于相同培养基中,5天后茎节内的对生隐芽就开始萌动抽生,10天后长成长约1 cm的嫩梢,一个月后,一般嫩芽长达6~7 cm,并带有5~6节,可供作继代培养或生根培养的材料。

2.2 影响嫩梢增殖与生长的因素分析

2.2.1 基本培养基 试管培养的无菌嫩梢剪成长约1cm含有一节的培养体,继代培养于含

有ZT和NAA的不同基本培养基中,其结果列于表1。从表1分析,上述四种基本培养基在嫩梢数量与长度上无显著差异,而只有在平均节数上MS显著优于其他三种,WPM最差,SH和Anderson次之,且二者无显著差异。纵观上述四种基本培养基,不但在无机盐分种类上不同,而且在总的盐分含量上也有显著差异(MS=4593 mg/L;SH=3483 mg/L;Anderson=1857 mg/L;WPM=2683 mg/L),然而就总体而言,培养效果

表 1 基本培养基对培养体缴捐增殖 与生长的影响

V=1/1-140-11										
平 均 謝 付 (注) 数	平均嫩梢长	平均节数								
(个)	(cm)	(个)								
1.98	8.6a	6.6ª								
1.98	8,1ª	5.4 b								
1.98	7.5ª	5.5 b								
1.78	8.1ª	4.5								
	平 均 數稍(芽)數 (个) 1.9 ^a 1.9 ^a	平 均 平均嫩梢长 嫩梢(芽)数 (个) (cm) 1.9 ^a 8.6 ^a 1.9 ^a 8.1 ^a 1.9 ^a 7.5 ^a								

注: 处理平均数用Duncan's新复极差测验(Duncan's multiple range test), 其差异显著性P≤0.05(表1~3用同法测验)。

差异并不十分显著,这说明西蒙得木培养体对各种无机成份的培养基具有较强的适应能力。 然而由于节数是继代培养繁殖率高低的主要标志,无疑,在本试验中 MS 应属于最佳的基本 培养基。

2.2.2 蔗糖含量 蔗糖是组培中碳源提供者,它直接影响组培过程中的分化与生长。本试验 采用10~40 g/L 的浓度,在附加有 ZT 和 NAA的MS 培养基中观察其培养效果(见表 2)。 不同的蔗糖浓度在分化的嫩梢(芽)数上虽有差异,但因各处理内变化较大,达不到显著性水准,而在嫩梢长度与节数上各处理差异较为显著,其中30 g/L 最佳,40 g/L 最差,10~20

表 2 蔗糖含量对培养体缴销增殖 与生长的影响

蔗糖含量	平均	平均嫩梢长	平均节数			
(g/L)	嫩梢(芽)数 (个)	(cm)	(个)			
10	1.9ª	4.2 b	4.8 b			
20	1,78	5.9ªb	4.8 b			
30	1.9*	7.34	5.9			
40	2.0	3.9 °	3.2 °			

g/L 次之。

2.2.3 植物生长调节剂 植物生长调节物质的含量与配比直接影响培养体形态发生进程和方向。为了便于观察与统计分析,本试验选用 MS 为基本培养基,分别附加不同浓度的细胞分裂素ZT和生长素 NAA以及单加BA,分成二组培养基以比较其增殖 与生长效果,其结果见表 3。试验表明,细胞分裂素对于嫩梢增殖与生长是必不可少的,在无激素的 1 号培养基中所测定的三个指标都最

表 3 植物生长调节剂对培养体缴稍增殖 与生长的影响

编	浓度或比例	平 均	平均	平均节数 (个)		
导	(mg/L)	嫩梢(芽)数 (个)	嫩 梢 长 (cm)			
		ZT:NA/	1			
1	0:0	1.1 b	0.78 °	1.2 cd		
2	0.5:0	2.0ab	7.7°b	5.3 b		
3	1.5:0	1.8*b	7.0ªb	6.0 b		
4	3.0:0	2.4	5.6 b	5.2 b		
5	5.0:0	2.7	3.5 bo	2.8 °		
6	1.0:0.01	2.1°b	9.5	9.3		
7	3.0:0.1	1,8ab	5.4 b	5,3 b		
8	5.0:1	1.4°bc	2.1 bo	2.4 °		
9	10.0:2	0.2 °	0.2 •	0.2		
		BA				
10	0.5	1.1 °	3,5*	2,3**		
11	1.0	1.8 b	3.5	2.84		
12	3.0	4.0	3.5	3.1		
13	5.0	1.6 bo	1.3 b	1.4		

低,而且随着培养时间的增加渐趋死亡。低浓度的ZT 附加微量的NAA能得到最佳的增殖与生长效果。高浓度(特别是高浓度的NAA)则多数不萌发,即使能生长由于太细弱也毫无应用价值,最终以明显的毒害,同样渐趋死亡。在 BA处理的各号培养基中,总的诱导效果差于ZT,然而在含有 BA 3 mg/L的培养基中能诱导出数量最多的丛生芽,这在原始外植体诱导愈伤组织再分化上具有实际应用价值。

2.2.4 优良雌株外植体增殖与生长情况分析 由于西蒙得木系雌雄异株植物,而且是以结实取油为主要栽培目的,为此,能否用组织培养法快速繁殖成年的丰产优株无性系,仍是实用性研究的关键所在。现将1个芽经每月1次共5次继代培养实际检测所得的数据列于表4。可见从丰产雌株的1个芽节开始,经约半年的以增殖嫩梢为目的的连续继代培养,就总节数而言增殖达1000倍以上,如果以同样目的继续培养,估计1年后

表 4 西蒙得木雕性优株外植体组培增殖 与生长情况

继代培	嫩梢(芽)敷	嫩村	育 长	嫩梢	节敷
养次数	总数 (个)	増殖 倍敷	总长 (cm)	増 <u>殖</u> 倍數	总节数 (个)	
1	1	_	1	_	1	_
2	2	2.0	5	5.0	4	4
3	13	6.5	57	11.4	36	9
4	72	5.5	240	4.2	167	4.6
5	505	7.0	1241	5.1	889	5.3

增殖数将超过100万倍,这就为大规模工厂化生产提供了坚实的物质基础。

2.3 生根与移栽

切取长达3~4 cm 带有 2~3节的无菌嫩梢,分别培养于含1/2MS (MS 大量元素 减半)和 Anderson 等的低盐分基本培养基中,附加低浓度的NAA或IBA,同时在培养的最初 7 天分别进行暗与光二种处理,其结果见表 5。试管嫩梢在 生 根 培 养 基 中,一般 7~10 天 就 在

培 养	**			光		培	•	养,			暗		培		养	
	基	嫩	梢	数	生	根	数	生根率(%)	嫩	梢	数	生	根	数	生根率(%	
- <u>1</u> -M	S+IB	A		100	·		53	•	53		50		·	30		60
- <u>1</u> -M	S+NA	A		100			63		63		50			47		94
And	erson	+ IBA		100			40		40 -		50			26		52
And	erson	+ NAA		100			70		70		50			42		84
平	均			100			56.5		56.5		50			36.	3	72.6

表 5 不同培养基和光处理对诱导西蒙得木嫩梢生根的影响

其基部形成愈伤组织,15~20天就长出长约0.3~0.5 cm 的根系,经1个月观察上述四种培养基和二种处理,很明显可看出经7天暗培养的生根率显著高于光培养的,在含有NAA的培养基中的生根率显著高于在含有IBA培养基中的,用1/2MS的稍好于用Anderson的,但差异不甚显著,在含有NAA的1/2MS培养基中,经最初7天的暗培养,其生根率可达94%,诱导效果最佳。

经过生根培养的试管小植株,一般具有较为发达的根条(图版 I -1~4)。这时应将其转移至自然光的环境中炼苗,在春秋季将小植株洗净栽于含沙质的黄心土或蛭石和珍珠岩中,初期保持湿润并适当通风,经过40~50天,苗木开始老熟并抽新梢,从而获得移栽成功。

我们已成功地采取西蒙得木的实生幼苗以及成年丰产的雌株外植体,经组织培养均达到 快速繁殖目的,说明此法不受个体发育及遗传型差异的限制,具有较高的实用价值,然而由 于西蒙得木需特殊的栽培环境条件,从而也增加了试管苗移栽的难度,有待进一步探索,予 以解决。

参考 文献

- [1] Jauhar, P. P., 1983, Micropropagation of jojoba cultivars, In Vitro, 19(3): 249.
- [2] Lee, C. W. et al., 1988, Jojoba oil production from embryo culture, In proceeding of the fifth international conference on jojoba and its uses, 9~20.
- [3] Schenk, R. V. et al., 1972, Medium and techniques for induction and growth of monocotyled-onous and dicotyledonous plant cell cultures, Can. J. Bot., 50: 199~204.
- [4] Anderson, W. C., 1984, A revised tissue culture medium for shoot multiplication of rhodod-endron, J. Amer. Soc. Sci., 109(3): 343~347.
- [5] Mclown, B. H. et al., 1981, A mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species, Hort. Science, 16: 453.

A Study on the Techniques for in Vitro Propagation of Jojoba (Simondsia chinensis)

Que Guoning Zhuge Qiang
(The Research Institute of Subtropical Forestry CAF)

Lin Xinmin

(The Information Institute of Fujian Science Committee)

Abstract This paper reports a method for mass micropropagation of jojoba. Plant growth regulators, basal media and sugar level were examined to determine their effects on shoot growth, shoot multiplication and rooting in vitro. The results showed that the nodel explants from 1 year old seedlings grown in spring and 6 years old, high yield, individual trees were cultured on MS medium supplemented with ZT 1~3 mg/L or BA 1~3 mg/L and NAA 0.01~0.1 mg/L. Shoots were obtained from all the axillary buds after 30~40 days of culture. Shoots measuring about 4~6 cm can be excised and rooted in 1/2 MS medium added with NAA following one week in dark for rooting. About 93 % rooting was achieved after one month. The plantlets were placed into moist chamber with sand-soil medium successfully. No major differences on in vitro propagation between young seedlings and adult plants of jojoba were found. It appears that the method may not be limited by genotype.

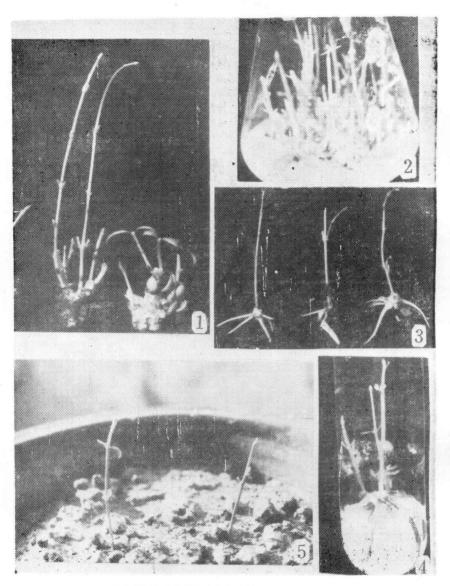
Key words jojoba (Simondsia chinensis); tissue culture; propagation; explants

欢迎订阅1992年《陕西农业科学》

《**陕西农业科学**》是陕西省农业科学院主办的综合性农业科技期刊。办刊宗旨是:立足本省,面向全国,贯彻"双百"方针,突出早地农业,提高与普及兼顾,追踪农业科学研究热点,报道最新农业研究成果,提供创新性的实用技术,竭诚为农业科研人员、大专院校师生、各级管理干部、农技推广人员及农村专业户服务。

《**陕西农业科学**》为双月刊,逢单月25日出版。16开本,48页。公开发行,每册定价0.50元,邮发代号52-50,全国各地邮局(所)均可订阅。

《陕西农业科学》编辑部



- 1. 愈伤组织上丛生芽的分化与生长;
- 2. 经二个月培养产生大量丛生嫩梢;
- 3、4. 经一个月生根培养形成完整植株;
- 5. 试管苗移栽于含沙土的蛭石中成活并开始抽梢。