

铺地竹试管快速繁殖研究

张有珍¹, 刘倩倩², 何冬冬², 樊琳², 宋李玲², 林新春²

(1. 浙江省临安市林业科学研究所, 浙江 临安 311300; 2. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300)

摘要: 以铺地竹 *Sasa argenteostriatus* 侧芽为材料, 研究其试管繁殖技术。结果表明: 铺地竹最佳增殖培养基为 MS (Murashige and Skoog) + 3.0 mg·L⁻¹BA(6-苄基腺嘌呤), 增殖系数为 5.26; 最佳生根培养基为 MS + 5.0 mg·L⁻¹IBA (吲哚丁酸); 试管苗移栽到泥炭、蛭石、珍珠岩体积配制比例为 1:1:1 的基质中, 成活效果高达 95%。图 2 表 2 参 15

关键词: 植物学; 铺地竹; 组织培养

中图分类号: S723.1

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2012)01-0151-04

In vitro micropropagation of *Sasa argenteostriatus*

ZHANG You-zhen¹, LIU Qian-qian², HE Dong-dong², FAN Lin², SONG Li-ling², LIN Xin-chun²

(1. Forestry Institute of Lin'an City, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: An efficient and reproducible protocol for large-scale micropropagation of *Sasa argenteostriatus* was developed with lateral buds as explants. A multiplication rate of 5.26 fold was obtained on Murashige and Skoog's (MS) medium supplemented with 3.0 mg·L⁻¹ benzyladenine (BA). MS medium supplemented with 5.0 mg·L⁻¹ indole-3-butyric acid (IBA) was most suitable for plantlet rooting. Rooted plantlets were hardened, acclimatized and transferred to artificial mixture (peat : vermiculite : perlite = 1 : 1 : 1) with over 95% survival. [Ch, 2 fig. 2 tab. 15 ref.]

Key words: botany; *Sasa argenteostriatus*; tissue culture

铺地竹 *Sasa argenteostriatus* 属禾本科 Poaceae 竹亚科 Bambusoideae 赤竹属 *Sasa* 的一种地被竹。铺地竹叶在生长初期为绿色, 间有白或黄色条纹, 后全变为绿色, 具有很好的观赏价值, 且枝叶浓密, 适宜于堤岸山坡或林下作防护材料栽培, 也适宜于花镜和绿坪应用。目前, 铺地竹的繁殖方法为丛状移植母竹或者以鞭根移植造园, 虽然带竹鞭移栽技术简单可行, 但母竹耗量大, 用地多, 难以快速规模化发展资源^[1]。技术简便、省时省力的扦插技术也受生根率、繁殖速度、季节等因素影响, 而且存在消耗竹种多、种苗运输不方便、劳动强度大、繁殖的系数低等问题, 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^[2]。利用竹子组织培养技术, 可以依靠其繁殖速度快的特点在短期内, 周期性地实现铺地竹的快速繁殖^[3], 已在马来甜龙竹 *Dendrocalamus asper*, 凤凰竹 *B. glaucescens*, 菲白竹 *Sasa fortunei*^[4-12] 等多个属的竹种的离体快速繁殖获得成功, 尚未有铺地竹的报道。本研究以铺地竹的侧芽为外植体, 探讨铺地竹最适的试管快繁条件, 为该竹种的扩繁和工厂化生产提供技术支撑。

收稿日期: 2011-03-21; 修回日期: 2011-06-13

基金项目: 浙江省科学技术重大专项重点项目(2006C12008)

作者简介: 张有珍, 高级工程师, 从事林业科学技术研究与推广。通信作者: 林新春, 教授, 博士, 从事竹林培育与利用研究。E-mail: lxc@zafu.edu.cn

1 材料和方法

1.1 试验材料

以浙江农林大学智能温室的铺地竹侧芽为外植体,用自来水冲洗侧芽 1 h,以 5.0 g·L⁻¹ 的次氯酸钠溶液真空抽滤消毒 20 min,再用无菌水冲洗 5 次,最后在解剖显微镜下切取长 0.8~1.2 cm 的生长点,接种于附加 1.0 mg·L⁻¹ 的 BA(6-苄基腺嘌呤)的 MS(Murashige and Skoog)培养基上进行诱导,pH 5.7,加固化剂 2.5 g·L⁻¹。将获得的铺地竹生长一致的芽作为增殖试验的材料。培养室的温度为(25 ± 2) °C,光照为 16 h·d⁻¹,光强为 2 400 lx。

1.2 试验方法

1.2.1 增殖培养 用于铺地竹增殖培养的基本培养基为 MS 培养基,附加不同质量浓度的 NAA(萘乙酸)(0, 0.3, 1.0, 3.0 mg·L⁻¹)和 BA(0, 1, 3, 10 mg·L⁻¹),共 16 个处理,每个处理 19 管。蔗糖质量浓度为 30.0 g·L⁻¹,培养基的酸碱度均调至 pH 5.7,固化剂 2.5 g·L⁻¹。接种 1 芽·管⁻¹,每芽高度约 1 cm·芽⁻¹。30 d 后观察芽的增殖数和生长状况。

1.2.2 生根培养 将要用于生根培养基的铺地竹每 3 颗芽为 1 丛,转接至生根培养基上。用于生根的培养基为附加了不同质量浓度的吲哚丁酸(0, 5.0, 10.0, 20.0 mg·L⁻¹)的 MS 培养基,共 4 个处理,16 管·处理⁻¹。蔗糖质量浓度 20.0 g·L⁻¹,培养基的酸碱度均调至 pH 5.7,固化剂 2.5 g·L⁻¹。30 d 后观察生根数、根长和根的长势。

1.2.3 瓶苗移栽 将生根的试管苗经过练苗后,用 45 °C 的温水洗净残余的琼脂后,移栽到泥炭、蛭石、珍珠岩配制比例为 1:1:1 的基质中,在健化室中练苗 2~3 周后,搬至温室进行培育,并进行适当的养护和水分管理。1 个月 after 统计成活率。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度的 NAA 与 BA 组合对铺地竹的芽增殖影响

由表 1 可见:在 NAA 质量浓度一定的情况下,随着 BA 质量浓度的增加,铺地竹芽的增殖系数基本呈逐渐上升趋势;在 BA 质量浓度一定的情况下,随着 NAA 质量浓度的增加,铺地竹芽的增殖系数大体上呈现逐渐降低的趋势;随着 BA/NAA 比值的增加,铺地竹芽的增殖系数大致上呈现上升趋势。在添加 3.0 mg·L⁻¹BA, 10.0 mg·L⁻¹BA, 10.0 mg·L⁻¹BA + 0.3 mg·L⁻¹ NAA, 10.0 mg·L⁻¹BA + 3.0 mg·L⁻¹NAA 的培养基中,铺地竹的芽增殖系数分别为 5.26, 3.58, 3.36, 3.84。并且在添加 3.0 mg·L⁻¹ BA 的培养基中铺地竹不但长势旺盛,而且不容易褐化。综合考虑上述情况,铺地竹的最佳的增殖培养基为 MS + 3.0 mg·L⁻¹BA (图 1)。

表 1 不同植物生长调节物质组合对铺地竹芽增殖的影响

Table 1 Effect of different combination of growth regulators on buds multiplication of *Sasa argenteostriatus*

BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	增殖系数	BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	增殖系数
0	0	0.21 ± 0.03	3.0	0	5.26 ± 1.29
0	0.3	0.32 ± 0.04	3.0	0.3	2.42 ± 0.56
0	1.0	0.11 ± 0.01	3.0	1.0	2.11 ± 0.65
0	3.0	0.16 ± 0.01	3.0	3.0	2.58 ± 0.51
1.0	0	2.47 ± 1.11	10.0	0	3.58 ± 1.33
1.0	0.3	1.95 ± 0.56	10.0	0.3	3.63 ± 0.70
1.0	1.0	1.58 ± 0.37	10.0	1.0	2.74 ± 0.58
1.0	3.0	1.16 ± 0.26	10.0	3.0	3.84 ± 0.71

2.2 不同质量浓度的 IBA 对铺地竹诱导生根的影响

以 4 个质量浓度的 IBA 进行铺地竹的生根实验结果(表 2)表明:铺地竹生根比较容易,在 MS 基本

培养基中即可生根，但生根率较低且根细长。随着 IBA 质量浓度的逐渐升高，生根率也由 56.3% 增加到 93.8%~100.0%，显著高于未添加 IBA 的培养基中的生根率。但是，在高质量浓度(10.0 和 20.0 mg·L⁻¹)的 IBA 培养基中铺地竹的根部较膨大，为畸形根系。在 IBA 的质量浓度为 5.0 mg·L⁻¹ 的培养基中，诱导出的铺地竹的根较粗壮，平均生根条数也较多，生长良好(图 2)。综上所述，铺地竹的最佳生根培养基为 MS + 5.0 mg·L⁻¹IBA。

表 2 不同质量浓度的 IBA 对铺地竹生根的影响

Table 2 Effects of different concentrations of IBA on rooting of *Sasa argenteostriatus*

IBA/(mg·L ⁻¹)	接种数	生根数	生根率/%	生根数/条	根长/cm	根的状况
0	16	9	56.3	2.2 ± 0.5	5.4 ± 0.29	根细长
5.0	16	16	100.0	6.5 ± 1.0	0.9 ± 0.12	根较粗壮
10.0	16	15	93.8	10.3 ± 1.3	0.3 ± 0.03	根较粗壮，根部较膨大
20.0	16	6	100.0	9.7 ± 1.0	0.1 ± 0.02	根较粗壮，根部较膨大

2.3 驯化移栽

经练苗后的铺地竹生根瓶苗移栽到泥炭:蛭石:珍珠岩配制比例为 1 : 1 : 1 的基质中，进行适当的养护管理后，其移栽成活率达 95%以上。

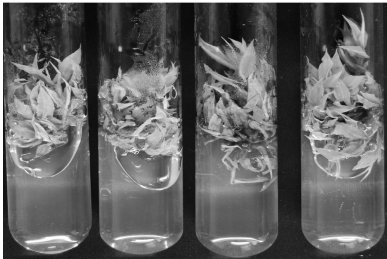


图 1 铺地竹在 MS + 3.0 mg·L⁻¹BA 培养基中的芽增殖
Figure 1 Buds multiplication of *Sasa argenteostriatus* in MS + 3.0 mg·L⁻¹ BA medium

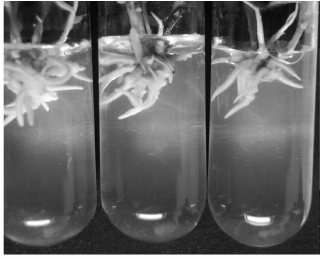


图 2 铺地竹在 IBA 5.0 mg·L⁻¹ 培养基中的生根
Figure 2 Rooting of *Sasa argenteostriatus* in MS+5.0 mg·L⁻¹ IBA medium

3 结论与讨论

细胞分裂素和生长素在调节器官分化的过程中起着重要的作用，通常使用 BA，KT(激动素)与 NAA 组合来研究对植物丛生芽分化增殖的影响。Fatima^[10]认为 BA 对竹子芽的增殖比 KT 的效果要好。本实验的结果表明，较低质量浓度的 BA 能促进芽的增殖及伸长，高质量浓度的 BA 可以明显地促进植株的增殖，但若过高则容易导致植株变态。其中最适合铺地竹的芽增殖的培养基是 MS+3 mg·L⁻¹BA，此质量浓度与非白竹、菲黄竹 *Sasa auricoma* 最适合芽增殖的 BA 质量浓度相似，说明一些亲缘关系较近的竹种其丛生芽的增殖培养基有一定的相似性^[12]。

在试管繁殖中，添加一定质量浓度的生长素有利于诱导生根^[13]，其中 IBA 和 NAA 对于很多的竹种生根有明显的作用^[14-15]。也有报道单独使用生长素诱导生根较为困难，如同时加入一定量的细胞分裂素 BA，能明显提高生根^[12]。在本实验中，铺地竹生根较易，在 MS 基本培养基中即可生根，但生根率较低，在 MS+5.0 mg·L⁻¹IBA 培养基中生根率达 100%，并且根的长势较好。另外，通过本实验还发现：低质量浓度 IBA 可以促进植株的生根，而过高质量浓度 IBA 诱导出的根较膨大，为畸形根系。高质量浓度的生长素 IBA 为何诱导出的根为变态的根系，有待于进一步的研究。

参考文献：

[1] 林树燕, 丁雨龙. 3 种观赏竹抗旱生理指标的研究及其综合评价[J]. 竹子研究汇刊, 2006, 25 (2): 7 - 9.
LIN Shuyan, DING Yulong. Researches on indexes of drought resistance of three ornamental bamboo species and corresponding comprehensive evaluation [J]. *J Bamboo Res*, 2006, 25 (2): 7 - 9.

- [2] 苏福妹, 杨文端. 丛生竹带干留节灌水扦插育苗和造林技术研究[J]. 江西林业科技, 2006 (2): 13 – 16.
SU Fumei, YANG Wenduan. Tufty bamboo's irrigation cutting raising and afforestation technique [J]. *J Jiangxi For Sci Technol*, 2006 (2): 13–16.
- [3] 卓仁英. 竹子生物技术育种研究进展[J]. 浙江林学院学报, 2003, **20** (4): 424 – 428.
ZHUO Renying. Advances of bamboo molecular breeding [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2003, **20** (4): 424 – 428.
- [4] ARYA S, SHARMA S, KAUR R, *et al.* Micropropagation of *Dendrocalamus asper* by shoot proliferation using seeds [J]. *Plant Cell Rep*, 1999, **18**: 879 – 882.
- [5] 潘学峰, 庄伟, 关朝优, 等. 马来甜龙竹组培快繁技术研究[J]. 贵州科学, 2003, **21** (4): 81 – 84.
PAN Xuefeng, ZHUANG Wei, GUAN Chaoyou, *et al.* Study on the technique of *Dendrocalamus asper* in vitro rapid propagation [J]. *Guizhou Sci*, 2003, **21** (4): 81 – 84.
- [6] 谭源杰. 勃氏甜龙竹茎段培养初步研究[J]. 竹子研究汇刊, 1994, **13** (3): 16 – 22.
TAN Yuanjie. Primary study on stem culture of *Dendrocalamus brandis* [J]. *J Bamboo Res*, 1994, **13** (3): 16 – 22.
- [7] 杨本鹏, 张树珍, 辉朝茂, 等. 巨龙竹的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004, **40** (3): 346.
YANG Benpeng, ZHANG Shuzhen, HUI Chaomao, *et al.* Tissue culture and rapid propagation of *Dendrocalamus sinicus* [J]. *Plant Physiol Commun*, 2004, **40** (3): 346.
- [8] 李在留, 辉朝茂. 珍稀竹种巨龙竹组织培养研究[J]. 林业科学, 2006, **42** (2): 43 – 49.
LI Zailiu, HUI Chaomao. Study on tissue culture of *Dendrocalamus sinicus* [J]. *Sci Silv Sin*, 2006, **42** (2): 43 – 49.
- [9] 陈懿涵, 桂仁意, 林新春, 等. 花秆绿竹试管快速繁殖[J]. 浙江林学院学报, 2008, **25** (3): 397 – 400.
CHEN Yihan, GUI Renyi, LIN Xinchun, *et al.* Micropropagation of *Bambusa oldhami* f. *striata* by tissue culture [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2008, **25** (3): 397 – 400.
- [10] FATIMA S, RANA P K. In vitro plantlet regeneration from nodal explants of field-grown culms in *Bambusa glaucescens* Willd [J]. *Plant Biotechnol Rep*, 2007, **1**: 141 – 147.
- [11] 张春霞, 王福升, 黄月英. 菲白竹组培繁殖技术研究[J]. 林业科技开发, 2006, **20** (5): 31 – 33.
ZHANG Chunxia, WANG Fusheng, HUANG Yueying. Techniques for tissue culture and micropropagation of *Sasa fortunei* [J]. *China For Sci Technol*, 2006, **20** (5): 31 – 33.
- [12] 王光萍, 丁雨龙, 黄敏仁, 等. 观赏竹的试管快繁研究[J]. 林业科学, 2005, **41** (5): 51 – 56.
WANG Guangping, DING Yulong, HUANG Minren, *et al.* Tissue culture of some ornamental bamboos [J]. *Sci Silv Sin*, 2005, **41** (5): 51 – 56.
- [13] 李胜, 杨德龙, 李唯, 等. 植物试管苗离体生根的研究进展[J]. 甘肃农业大学学报, 2003, **38** (4): 373 – 384.
LI Sheng, YANG Delong, LI Wei, *et al.* Advances of research on rooting in vitro of plant test-tube plantlet [J]. *J Gansu Agric Univ*, 2003, **38** (4): 373 – 384.
- [14] NADGIR A L, PHADKE C H, GUPTA P K, *et al.* Rapid multiplication of bamboo by tissue culture [J]. *Silv Genet*, 1984, **33**: 219 – 223.
- [15] SAXENA S. In vitro propagation of the bamboo (*Bambusa tulda* Roxb.) through shoot proliferation [J]. *Plant Cell Rep*, 1990, **9**: 431 – 434.