

宁夏枸杞不同外植体离体培养芽形成的研究

郭 辉¹, 沈宁东²

(1. 青海师范大学 青海 西宁 810008; 2. 青海大学 农牧学院农林系 青海 西宁 810016)

摘 要: 研究了宁夏枸杞的不同外植体, 不同取材时间及生长调节剂的使用对离体培养芽分化形成的影响。结果表明: (1)就外植体而言, 以茎尖为外植体的芽诱导率最高, 平均达到 65.2%, 茎段次之, 诱导率平均为 44.2%, 叶片不能诱导形成芽。(2)就取材时间而言, 以 5 月份的取材对芽的诱导效果最好。(3)就生长调节剂而言, BA 和 KT 在 0.1~2.0 mg/L 的浓度范围内, 对芽的产生起促进作用, 且以 BA 为 1.0 mg/L 时效果为最好, 当 BA 或 KT 和 IBA 配合使用时, 可提高芽的诱导率, 以 IBA 0.5 mg/L+BA 1.0 mg/L 的效果最佳。

关键词: 宁夏枸杞; 离体培养; 芽分化

中图分类号: S 665.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)09-0168-03

宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)别称中宁枸杞, 旁庆(藏名)。是茄科, 枸杞属落叶小灌木, 是重要的药用植物, 茎根、皮、叶, 均可入药, 果实性柔, 味甘, 有滋补润肺、生精益气、养肝明目之功效, 藏医用果实可治由“心热”引起的头痛、健忘、失眠、情绪异常及妇科病; 果柄及叶还是猪、羊的良好饲料^[1]。近年来, 枸杞又发展成为保健饮料和食品的加工原料, 需求量日益增加。国内外的科技工作者十分重视枸杞的组织培养^[2-8]。现以宁夏枸杞的茎尖、茎段、叶片作为供试材料, 研究了不同外植

体, 不同取材时间, 不同浓度配比的生长调节剂对芽分化的影响, 为枸杞试管苗的商业化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以不同生长时期的宁夏枸杞的茎尖、幼叶、茎段为试验材料。

1.2 外植体的制备

在生长旺盛的枸杞植株上, 摘取长 5~10 cm 左右的嫩枝用清水冲洗干净。分别切取 0.5 mm 左右的茎尖, 5 mm 茎段及 3~5 mm² 的叶片, 经 75%乙醇和 0.1% HgCl₂ 溶液消毒后, 接种于各种培养基上。

1.3 培养基和培养条件

基本培养基为 MS 琼脂培养基, 蔗糖 30 g/L, pH 5.8, 琼脂 7 g/L。添加不同种类和浓度的生长调节

第一作者简介: 郭辉(1971-), 男, 甘肃永昌人, 在读硕士, 主要从事高原生物的组织培养和同工酶方面的研究工作。E-mail: xnguo-hui@163.com.

收稿日期: 2008-03-12

[4] 林荣呈, 包满珠. 香石竹的叶片培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1991(3): 205-206.

[5] 王家福, 陈振光. 百合快速繁殖条件优化[J]. 福建农业大学学报,

1999, 28(2): 152-156.

[6] 曹健, 李宝庆, 黄俊, 等. 茎尖培养对荸荠产量及球茎大小的改良效果研究[J]. 广东农业科学, 1999(6): 20-21.

Rapid Multiplication of *Euonymus Fortunei*

ZHANG Hui-ying, XUE Yan-xia, HUANG Ge

(College of Agriculture, Guangxi University, Nanning, Guangxi 53004, China)

Abstract: The materials were axillary buds of *Euonymus Fortunei*. It was studied that the effect of cytokinin, different concentration of 6-BA and different concentration of sugar on buds multiplying of *Euonymus Fortunei*, the effect of different Auxine on test-tube plantlet rooting of *Euonymus Fortunei*. The results indicated: MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L were the best Culture mediumare of buds multiplying; the best concentration of sugar of test-tube plantlet multiplying were 8%; the best Culture mediumare of rooting were 1/2 MS+IAA 0.3 mg/L.

Key words: *Euonymus fortunei*; Rapid Multiplication

剂进行处理。细胞分裂素为 KT(激动素)和 BA(苄基腺嘌呤)。二者的使用浓度均分别为 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L。添加的生长素为 IBA(吲哚丁酸),浓度为 0.1、0.5 mg/L,并分别与浓度为 0.1、0.5、1.0 mg/L 的 BA 或 KT 配合使用。每处理 10~20 瓶,每瓶接种 2~4 个材料,每隔 7 d 观察记录 1 次。

培养室温度: (24±2)℃; 湿度保持在 70%~85%; 光照强度 1 500~2 000 lx; 光照时间: 10~12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同外植体离体培养芽的形成情况

外植体供体植株的年龄、发育阶段和外植体的取材部位不同,均可导致外植体生理生化状态的差异,从而影响组织培养的形态发生。在试验中,以茎尖为外植体,茎尖在接种后,7~10 d 芽开始萌动;经 5 周培养,可产生 2~3 个芽,最终芽诱导率平均为 65.2%。以茎段为外植体,7 d 暗培养,在光下进行培养可观察到,绝大部分不带腋芽的切段变褐死亡,少部分存活的切段继续再培养 4 周后,在切口处可形成环状、结构疏松的浅绿色略透明的愈伤组织,进一步培养,极少数可分化形成 1~2 个芽;而有腋芽的茎段,在光下培养 1 周后,腋芽萌动可形成 3~4 个小芽,芽诱导率低于茎尖,平均为 44.6%;以叶片为外植体,不论任何取材,接种后经过一段时间培养,约有 70%的变成黄褐而死亡,约 30%的叶片膨大、玻璃化,无愈伤组织形成,也无芽的分化(见表 1)。

表 1 不同外植体离体培养芽的形成情况

外植体/个	接种数/个	成芽数/个	芽诱导率/%	(芽数/外植体)/个
茎尖	138	90	65.2	2.1
茎段	138	61	44.2	3.0
幼叶	138	0	0	0

表 2 不同取材时间对芽形成的影响

取材时间(日/月)	部位	接种数/个	成芽数/个	芽诱导率/%
28/4	茎尖	138	98	71.0
	茎段	138	84	60.9
16/5	茎尖	138	127	92.0
	茎段	138	99	71.7
21/6	茎尖	138	65	47.1
	茎段	138	38	27.5
23/7	茎尖	138	79	57.2
	茎段	138	44	31.9
23/8	茎尖	138	80	58.7
	茎段	138	40	29.0

2.2 取材时期对芽形成的影响

取材的时期对外植体分化形成芽有显著的影响(见表 2),分别在 4、5、6、7、8 月进行了重复试验。以茎尖为外植体,5 月取材最佳,芽的诱导率可达 92.8%,4 月和 8 月取材芽的诱导率不高,分别是 53.6%和 58.0%。以茎段为外植体,4 月取材最佳,芽的诱导率为 65.2%,7 月和 8 月取材芽的诱导率较低,分别是 31.9%和 29.7%。因此茎尖的取材最佳时间应为 5 月,茎段在 4 月取材

为好。

2.3 生长调节剂对芽形成的影响

2.3.1 细胞分裂素对芽形成的影响 由表 3 可知,加入一定量的细胞分裂素,对芽的诱导效应好于对照组,当 BA 的浓度在 0.1~1.0 mg/L 范围内,随浓度升高,形成的芽数逐渐增多,当其浓度高于 1.0 mg/L 时,虽未对芽的分化产生抑制作用,但易产生玻璃化的芽。当 KT 的浓度在 0.1~1.5 mg/L 范围内,对芽的分化起促进作用,但当其超过 1.5 mg/L 时,同样产生玻璃化的芽。因此以 BA 为 1.0 mg/L 时对芽的诱导效果最好。由表 3 可知,当 BA 和 KT 在同一浓度下,BA 对芽的诱导效果优于 KT,说明 BA 比 KT 对芽的诱导活性高。

表 3 不同浓度的 BA 和 KT 对茎尖诱导形成芽的影响

激素	浓度/mg·L ⁻¹	接种数/个	成芽数/个	芽诱导率/%	(芽数/外植体)/个
BA	0.1	30	14	46.7	1.2
KT	0.1	30	10	33.3	1.0
BA	0.5	30	16	53.3	2.3
KT	0.5	30	15	50.0	2.1
BA	1.0	30	27	90.0	3.0
KT	1.0	30	24	80.0	2.7
BA	1.5	30	28	93.3	3.5
KT	1.5	30	19	63.3	3.0
BA	2.0	30	23	76.7	3.0
KT	2.0	30	24	80.0	2.8
0	0	30	12	40.0	1.1

2.3.2 生长素与细胞分裂素配合使用对芽形成的影响 生长素和细胞分裂素配合使用时,对芽的诱导效果好于细胞分裂素单独作用(见表 3、4)。从表 4 可见,以 IBA 0.5 mg/L+BA 1.0 mg/L 的组合为最优,此时芽诱导率最高为 86.7%,产生的芽数最多为 3.5 个。

3 讨论

3.1 不同的外植体离体培养,形成芽的差异性很大

表 4 不同浓度配比的生长调节剂对茎尖诱导芽形成的影响

生长调节剂及浓度/mg·L ⁻¹	接种数/个	成芽数/个	芽诱导率/%	(芽数/外植体)/个
IBA0.1+BA0.1	30	15	50.0	1.8
IBA0.1+BA0.5	30	17	56.7	2.3
IBA0.1+BA1.0	30	19	63.3	1.5
IBA0.5+BA0.1	30	12	40.0	1.4
IBA0.5+BA0.5	30	21	70.0	2.8
IBA0.5+BA1.0	30	29	96.7	3.5
IBA0.1+KT0.1	30	17	56.3	1.3
IBA0.1+KT0.5	30	19	63.3	2.0
IBA0.1+KT1.0	30	20	66.7	2.5
IBA0.5+KT0.1	30	16	53.3	1.7
IBA0.5+KT0.5	30	17	56.7	2.4
IBA0.5+KT1.0	30	24	83.3	3.0

该试验中,采用茎尖培养效果最好,茎尖的诱导率高,芽长势强。带有腋芽的茎段虽产生的芽数多,但易

褐变, 虽然茎尖与带有腋芽的茎段为同一类型的材料, 均含有芽原基, 但离体培养后效果差异较大, 是因为茎尖从形态结构上比茎段更趋于完善, 具更强的感受态^[9]。试验中采用幼叶为外植体, 没有诱导形成芽, 这与陈继伦^[9]、Ratushnyak^[7]、马和平^[8]关于枸杞叶片的报道的结论不同。这可能与叶片的成熟状况, 培养基的成分等因素有关。

3.2 取材时间不同芽的诱导结果差异很大

4月取材, 气候较寒冷, 植株处于萌动期, 离体培养茎尖, 其反应迟钝, 芽分化率较低, 此时以茎段为外植体进行离体培养, 由于茎段中储藏有大量的养分, 反而较易于形成芽; 5月以茎尖为外植体, 取材培养, 分化形成芽的效果最好, 因为此时植株处于生长的旺盛期, 细胞分裂较强, 带菌少, 表现为植株粗壮, 长势快, 供试材料易消毒, 接种后生长能力强, 不容易发生褐变死亡; 但此时以茎段为外植体进行离体培养的效果要比4月的差。6月取材, 植株处于开花期, 养分主要供应花器官, 枝条的营养差, 不利于离体培养; 7、8月取材, 植株处于果实发育的时期, 可利用的嫩枝很少, 即使有也细瘦, 此时取材, 不论茎尖还是茎都不利于芽的形成。

3.3 生长调节剂的加入有利于芽的形成

因为细胞分裂素有促进细胞分裂、分化, 增强蛋白质合成, 促进腋芽生长的作用^[10-11], 在MS培养基中附加0.1~1.0 mg/L BA 或 0.1~1.5 mg/L KT 均可有效提高诱导率, 并以1.0 mg/L的BA效果更佳。生长素可促

进腋芽的生长^[11-12], 生长素和细胞分裂素互作对芽的诱导起促进作用, 在该试验中当0.5 mg/L NAA 与 1.0 mg/L BA 配合使用时, 对宁夏枸杞茎尖的诱导效果更好。

参考文献

- [1] 青海经济植物志编委会. 青海经济植物志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1988: 508-509.
- [2] 鲁海, 薛红霞, 安君. 枸杞组织培养及试管快繁试验初报[J]. 内蒙古林业, 2002(7): 32.
- [3] 王莉. 枸杞胚乳植物的诱导和它的倍性水平[J]. 遗传学报, 1985, 12(6): 440-444.
- [4] 张尔荣, 刘成安. 枸杞叶柄的组织培养[J]. 植物学通报, 1995 8(4): 50-51.
- [5] 陈继达, 郭东红. 枸杞叶片愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 植物学报, 1980(6): 40-41.
- [6] 曹有龙, 陈放, 罗青, 等. 枸杞髓组织体培养及高植株再生的研究[J]. 广西植物, 1999 19(13): 239-242.
- [7] Ratushnyak Y, Rudas V A, Piven N M. Regeneration of *Lythrum barbarum* L. Plants from leaf tissue, callus culture and callus protoplasts[J]. Plant Cell Reports, 1990, 9(2): 81-87.
- [8] 马和平, 李毅, 马彦军, 等. 枸杞叶片再生植株体系的建立[J]. 河北农业大学学报, 2005, 28(2): 19-22.
- [9] 黄学林, 李俊菊. 高等植物组织体培养的形态建成及其调控[M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [10] 王冬梅, 黄学林, 黄上志. 细胞分裂素类物质在植物组织培养中的作用机制[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(5): 373-377.
- [11] 曹汝义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996: 14-18.
- [12] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1990.

Study on Tissue Culture of Bud Regeneration of the Different Explants of *Lythrum barbarum*

GUO Hui¹, SHEN Ning-dong²

(1. Qinghai Normal University, Xining, Qinghai 810008, China; 2. Agriculture and Animal Husbandry College of Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China)

Abstract: Bud regeneration on the different explants, growth regulators and explants growth period in the tissue culture of *Lythrum barbarum* were investigated. The results showed: when the stem apex of *Lythrum barbarum* was used as explants. The effect of the bud regeneration was best, the bud regeneration rate was 65.2%. Stem cutting was better, it's bud regeneration rate was 44.2%. The leaf can not be regenerated into bud. In tissue culture, the explants were taken in May, the effect on the regeneration was best. When BA or KT was put into the medium with separate concentration of 0.1~1.0 mg/L and 0.1~1.5 mg/L, it promoted bud regeneration. BA 1.0 mg/L was the best concentration. When BA or KT was combined with IBA in the medium. The inducing effect to bud of combination was superior to that of BA or KT was used solely. The optimum combination was IBA 0.5 mg/L and BA 1.0 mg/L.

Key words: *Lythrum barbarum* L.; Tissue culture; Bud regeneration