

# 橄榄多侧芽试管苗的诱导与应用

蔡汉权, 李粉玲, 庄哲煌, 黄志鸿

(韩山师范学院 广东 潮州 521041)

**摘要:** 用橄榄成熟胚作为外植体, 诱导胚长成无菌苗, 在成熟芽苗上诱导多分枝侧芽及生根, 筛选出 MS+6-BA 0.5+KT 1+NAA 0.5 为诱导多分枝侧芽的适合培养基, 取得 92% 的侧芽诱导率; MS+NAA 1+IBA 1 为生根培养基, 取得 88% 的生根率, 成功培育出带多分枝侧芽的橄榄苗, 为橄榄栽培的矮化密植、提高产量奠定基础。应用固-液培养基长效抑制培养物褐变, 此方法对于生物碱含量较高、培养过程容易产生褐变的植物的离体培养有一定的借鉴作用。

**关键词:** 橄榄; 多分枝侧芽; 矮化; 固-液培养基

**中图分类号:** S 667.503.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)07-0062-03

橄榄 (*Canarium album* Raeusch.) 属于橄榄科橄榄属, 是产于亚热带的一种果树, 分布于我国东南沿海一带。有较高的食用和药用价值<sup>[1]</sup>, 也是东南沿海部分地区的重要经济作物<sup>[2]</sup>。橄榄童期长, 且具有很强的顶端优势, 侧芽长期受到抑制, 侧芽萌发较慢, 在不修剪的自然情况下, 3~4 a 生树只有 2~3 级分枝, 6~7 a 生树只有 3~4 级分枝<sup>[3]</sup>。由于橄榄树体高大, 单位面积产量低、难于采摘和生产管理, 制约着这一经济作物的发展<sup>[4]</sup>。矮化密植、提高果树生产性能的技术已经在许多果树的栽培中成功应用<sup>[5-8]</sup>。目前, 针对提高橄榄生产性能的研究主要集中在田间栽培技术和病虫害的防治上<sup>[9-12]</sup>, 该研究通过多分枝侧芽橄榄苗的诱导培养, 为橄榄种植提供多分枝侧芽的砧木, 将是橄榄栽培矮化密植、提高亩产产量、方便生产管理的有效方法。橄榄的多酚氧化酶活性很高, 在离体无菌培养过程中极易被氧化引起褐变死亡, 这是橄榄等生物碱含量较高、培养过程容易产生褐变的植物共同存在的瓶颈问题<sup>[13]</sup>, 该研究应用固-液培养基长效抑制橄榄培养物褐变的方法, 是目前国内首次报道的培养方式, 将是解决这一瓶颈问题的新的培养技术。

## 1 材料与方法

### 1.1 无菌材料的获得

橄榄果实摘自潮州市红山农场, 取刚从橄榄树上摘下的花后 70~80 d 的新鲜橄榄果实, 用洗衣粉水洗净后在超净工作台上用 0.1% 的升汞溶液消毒 3~5 min, 无

菌水冲洗 5~8 次。经消毒后, 在超净工作台上用无菌利刃将果实横切, 取其胚, 将离体胚接种于 6-BA 0.5 mg/L (单位下同)+IBA 1.0+AC 0.2 g/L 的 MS 培养基上, 培养 1 周后子叶开始变绿, 6 周后长成 5~6 cm 的无菌实生苗, 作为该研究的无菌材料。

### 1.2 多侧芽的诱导方法

当实生苗长出 5~6 片叶时, 将其顶芽摘除, 分别接种于培养基 C1~C9 中进行侧芽诱导。C1~C9 培养基为: C1: MS+0; C2: MS+KT 0.5+NAA 0.5; C3: MS+KT 1+NAA 1; C4: MS+6-BA 0.5+NAA 1; C5: MS+6-BA 0.5+KT 0.5; C6: MS+6-BA 0.5+KT 1+NAA 0.5; C7: MS+6-BA 1+NAA 0.5; C8: MS+6-BA 1+KT 0.5+NAA 1; C9: MS+6-BA 1+KT 1。上述培养基均加入蔗糖 30 g/L、琼脂 9.5 g/L、活性炭 0.2 g/L, pH 值为 5.6~6.0。培养条件: 温度 23~25 °C, 每天光照 12 h, 光照强度为 2 000 lx。

### 1.3 芽的继代培养方法

将生长达 5~6 cm 长, 带 5~6 个芽节的侧芽摘除顶芽, 剪取带 4~5 个芽节的茎段接种到 C6: MS+6-BA 0.5+KT 1+NAA 0.5 培养基上进行继代培养。剪切后剩下的多个芽节仍留于原株上, 并将原株分别接种到 C6: MS+6-BA 0.5+KT 1+NAA 0.5 培养基上进行继代培养, 以获得更多的丛生芽。培养条件同上。

### 1.4 生根培养方法

生根培养是将带 2~4 个侧芽的健壮芽苗, 分别接种于 G1~G10 培养基上进行生根诱导。G1~G10 培养基为: G1: MS+NAA 0.1; G2: MS+NAA 0.5; G3: MS+NAA 1; G4: MS+NAA 2; G5: MS+IBA 0.1; G6: MS+IBA 0.5; G7: MS+IBA 1; G8: MS+IBA 2; G9: MS+NAA 0.5+IBA 0.5; G10: MS+NAA 1+IBA 1。培养基均加入蔗糖 30 g/L、琼脂 9.5 g/L、活性炭 0.2 g/L,

第一作者简介: 蔡汉权(1967-), 男, 广东潮州人, 讲师, 现从事植物组织培养的的教学和研究工作。E-mail: hanquan010@126.com。

基金项目: 广东省科技计划资助项目(2007B020705001); 韩山师范学院重点科研资助项目(413545)。

收稿日期: 2009-02-10

pH 值为 5. 6~6. 0。培养条件同上。以期比较 NAA、IBA 因子对生根培养的作用。

1.5 防止材料褐变的方法

在培养过程中用固-液培养基接种培养材料, 以减少褐变的产生。固-液培养基制作方法是: 先按传统方法配制固体培养基(含活性炭 0.2 g/L, 各激素含量依诱导配方而异), 灭菌, 冷却凝固。配制 10% 的 Vc 溶液, 灭菌后存放于冰箱备用。在超净工作台上将已经冷却的 Vc 溶液滴加在固体培养基的表面, 形成 1~2 mm 的液体层, 即为固-液培养基。

2 结果与分析

2.1 侧芽诱导的结果

橄榄带节茎段在培养 10~15 d 后, 侧芽萌动, 5 周后侧芽生长到 0.5~2 cm, 此时统计侧芽诱导及生长情况(见表 1)。

表 1 橄榄侧芽诱导的结果

Table 1 The results of olive lateral bud induced

编号 No.	激素 Hormone/ mg · L <sup>-1</sup>			接种茎数 / 个	侧芽萌发茎数 / 个	萌发率 / %	芽殖率 / 倍
	6-BA	KT	NAA				
C1	0	0	0	25	8	32	2
C2	0	0.5	0.5	25	10	40	2
C3	0	1	1	25	12	48	2~3
C4	0.5	0	1	25	18	72	2~3
C5	0.5	0.5	0	25	20	80	3~5
C6	0.5	1	0.5	25	23	92	4~6
C7	1	0	0.5	25	21	84	4~6
C8	1	0.5	1	25	22	88	3~5
C9	1	1	0	25	20	80	3~4

注: 芽殖率是指每一个带节茎段诱导萌发的平均侧芽个数。

侧芽诱导试验结果及芽生长情况: 在培养基 C1、C2、C3 中培养侧芽萌发率低于 50%, 芽殖率只有 2~3 倍, 且侧芽只萌发不生长, 可见不含 6-BA 的培养基对侧芽的萌发是不利的; 在培养基 C4 中, 侧芽诱导后有 33% 的侧芽生长, 50% 的侧芽长出新叶片, 但芽殖率不高; 在培养基 C5 中, 有 50% 的侧芽生长, 60% 的侧芽长出新叶片, 但芽萌发的时间比较长; 在培养基 C6、C8 上, 侧芽萌发个数, 萌发率和芽殖率都比较好, 侧芽萌发后生长很快, 有 83% 的侧芽长出新叶片; 在培养基 C7、C9 中侧芽萌发率和芽殖率也比较高, 但生长状况不如 C6。结果表明: C6: MS+6-BA 0.5+KT 1+NAA 0.5 是诱导侧芽的适合培养基。C6 培养基中侧芽的生长情况见图 1。

2.2 侧芽继代培养结果

侧芽培养约 7 周后, 将生长达 5~6 cm 长, 带 5~6 个芽节的侧芽摘除顶芽, 将带 4~5 个芽节的茎段接种到继代培养基上, 约 1 周后可见芽节处长出芽点, 3~4 周后各芽点萌发为新的侧芽, 芽殖率为 3~4 倍, 侧芽生长良好, 未出现侧芽发黄和变黑, 未出现侧芽愈伤化。而原株上带有多个芽节, 可达到 5~6 倍的芽殖率, 最高

在 1 个茎段上可长 18 个侧芽, 但侧芽生长相对较弱。

2.3 生根培养结果

将带 2~4 个侧芽的健壮芽苗, 分别接种于 G1~G10 培养基上进行生根诱导, 15 d 后统计生根结果(见表 2)。

表 2 生根诱导的结果

Table 2 The results of root-induced

编号 No.	激素 Hormone inoculation/ mg · L <sup>-1</sup>		接种茎数 No. Rootage / 个	生根茎数 No. Induction / 个	诱导率 Rate / %	根平均数 The average root/ 条
	NAA	IBA				
G1	0.1	0	25	2	8	2
G2	0.5	0	25	8	32	2
G3	1.0	0	25	12	48	3
G4	2.0	0	25	16	64	4
G5	0	0.1	25	3	12	3
G6	0	0.5	25	10	40	4
G7	0	1.0	25	16	64	4
G8	0	2.0	25	20	80	6
G9	0.5	0.5	25	14	56	4
G10	1.0	1.0	25	22	88	5

根诱导及生长情况: 橄榄苗在生根诱导培养基 G1~G10 上, 接种 10~15 d 后基端开始膨大, 切口愈合, 25 d 后部分苗开始有根长出, 再培养 10 d 后统计生根结果。在 G1~G3、G5 培养基上, 根数量较少; 在 G4 培养基中根较强壮; 在 G6~G8 培养基中平均生根率达 61%, 有 20% 的芽苗根系生长良好; G10 培养基生根率达 88%, 根系生长良好。结果表明: NAA 和 IBA 单独使用均可诱导根的产生, 配合使用可以提高生根率。G10: MS+NAA 1+IBA 1 是橄榄生根的适合培养基。G10 培养基上的生根情况见图 2。

2.4 固-液培养基防止材料褐变的效果

橄榄材料的多酚氧化酶活性很高<sup>[3]</sup>, 在外植体消毒和材料剪切接种后, 容易产生褐变甚至导致死亡(见图 3), 此时使用固-液培养基, 有利于控制多酚氧化酶的活性, 减少褐变的产生。固-液培养基在利用活性炭吸附代谢产物、减少光氧化的同时, 借助 Vc 溶液稀释代谢产物并将其带离材料基部, 减少了代谢产物对基部的毒害作用, 从而减少了褐变的产生。固-液培养基用于外植体消毒后接种和材料剪切后接种, 约 1 周后材料切口愈合, 分泌物减少, 即可将材料转接到固体培养基中。

3 讨论

3.1 影响多分枝侧芽诱导的关键因素

不同的外植体对多分枝侧芽的诱导有很大的影响, 不去除顶芽的外植体, 只有极少数的侧芽萌动, 但不会生长, 这是因为橄榄具有很强的顶端优势, 侧芽长期受到抑制, 侧芽萌发较慢。在不去除顶芽的情况下, 侧芽极难生长; 去除顶芽的外植体, 基本上侧芽都萌动, 且生根率比较高。

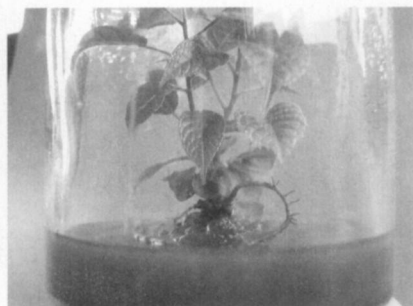


图1 橄榄侧芽生长情况

Fig. 1 Olive lateral bud growth

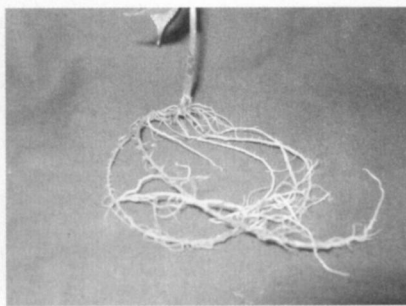


图2 橄榄生根情况(C10)

Fig. 2 Olive rooting(C10)

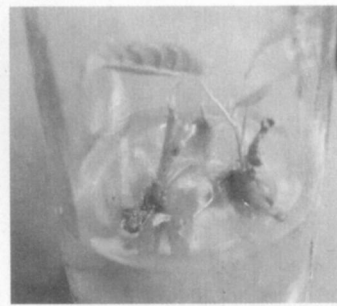


图3 橄榄材料基部褐变

Fig. 3 Browning of olive material base

细胞分裂素(6-BA)是侧芽萌发的诱导因子,生长素(NAA)是侧芽生长的促进因子,但6-BA的浓度太低不宜芽的萌发,NAA太高则对芽的生长不利。采用适当浓度的细胞分裂素和生长素的配比是侧芽诱导的关键。

芽的增殖不但受培养基成分等因素影响,而且其本身的生长状况也是主要影响因素之一<sup>[4]</sup>,所以应选择萌发力强的,植株健壮的芽条进行继代培养,更有利于侧芽的生长。

### 3.2 橄榄多侧芽试管苗应用

试验完成了橄榄多侧芽试管苗的成功诱导,为橄榄栽培提供多侧芽、须根系的砧木,使橄榄苗在苗期阶段就具有多级分支的生长状态,这一成果能否为橄榄果树的矮化密植提供前提条件,对提高橄榄亩产产量、降低采摘难度和成本、提高橄榄生产的经济效益产生有益的影响,是进一步研究和探索的重要环节。相关研究正在进行中。

### 参考文献

[1] 徐国钧. 中草药彩色图谱[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1990: 427-429.

- [2] 陈秀萍, 蒋陈谋, 林诚和, 等. 橄榄在我国近二十年来的研究进展[J]. 福建果树, 1999(4): 36-37.
- [3] 许长同, 余德生, 赖澄清. 橄榄栽培[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 34-78.
- [4] 蔡汉权, 赖钟雄, 林燕文, 等. 橄榄成熟胚培养研究[J]. 江西农业大学学报, 2005, 8(4): 548-552.
- [5] 孟庆臣, 董飞, 林静. 无病毒矮化苹果早期丰产栽培技术[J]. 北方果树, 2008(2): 15-18.
- [6] 张传例. 梨矮化密植早结丰产示范技术[J]. 南方农业, 2008(1): 33.
- [7] 宋宪军, 马国林, 许春玲. 新郑枣树矮化密植丰产栽培技术[J]. 中国林业, 2008(6): 23-25.
- [8] 包小梅, 石兴华, 泮炳良, 等. 板栗矮化密植、速生丰产栽培技术[J]. 浙江柑桔, 2008(1): 19-22.
- [9] 陈立新. 谈谈橄榄栽培技术[J]. 热带作物科技, 1995, 8(4): 56-58.
- [10] 陈成文. 橄榄栽培管理改革若干措施[J]. 福建果树, 1997(2): 55-58.
- [11] 林永高, 胡章琼. 橄榄矮、早、优栽培技术[J]. 福州农业科技, 2002(1): 65-67.
- [12] 古锦汉, 池辉云. 橄榄果实丰产栽培试验[J]. 经济林研究, 2000, 18(2): 34-37.
- [13] 蔡汉权, 李粉玲, 周山勇, 等. 几种橄榄材料的多酚氧化酶活性[J]. 亚热带农业研究, 2005(4): 36-39.
- [14] 陈振光. 植物组织培养与试管育苗[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 248-253.

## The Inducement and Application of Multi-Lateral Bud Plantlets of *Canarium album* Raeusch.

CAI Han-quan, LI Fer-ling, ZHUANG Zhe-huang, HUANG Zhi-hong  
(Hanshan Teacher's College, Chaozhou, Guangdong 521041, China)

**Abstract:** The embryo of olive, used as explant, was induced to grow up to be aseptis shoots, and cut the mature shoots for the inducement of lateral bud and radication. MS+6-BA 0.5+KT 1+NAA 0.5 and MS+NAA 1+IBA 1 were screened out as the effective substrate of lateral bud abduction and radication cultivating, and acquired lateral bud abduction rate which was up to 92% and radication rate 80% respectively, and successfully to cultivate the olive seedlings with multi-lateral bud. It established the base of using plant clone to propagate technical-breeding olive seedling rapidly. Moreover, the method of applying solid-liquid medium to inhibit cultures browning had referential experience for the excised culture of the plant which was with higher alkaloid content and prone to browning during the process.

**Key words:** Olive; Multi-branch lateral bud; Stunted; Solid-liquid medium