

# 桉叶唐棣初代培养影响因素研究

杜保国<sup>1</sup>, 杨锋利<sup>2</sup>, 杨途熙<sup>3</sup>, 魏安智<sup>3</sup>

(1. 绵阳师范学院 生命科学与技术学院, 四川 绵阳 621000 2. 绵阳师范学院 城乡建设与规划学院 四川 绵阳 621000

3. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:** 为了探索影响桉叶唐棣初代培养无菌苗建立的因素, 现以带芽茎段为外植体, 研究了不同消毒方式的消毒效果以及基本培养基类型和激素组合对初代培养的影响。结果表明: 10%次氯酸钠 10 min 和 0.1%升汞 2 min 混合使用的消毒方式, 取得了较好的消毒效果, 污染率和致死率均较低, 分别为 11.2%和 9.5%; MS 培养基为较适宜的初代培养, 其增殖芽数、茎芽长分别为 2.45 和 1.18 cm; 外植体在 MS+IAA 0.1 mg/L+6-BA 2.0 mg/L 上生长最好。

**关键词:** 桉叶唐棣; 初代培养; 影响因素

**中图分类号:** Q 949.751.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)20-0143-03

**第一作者简介:** 杜保国(1978-), 男, 硕士, 讲师, 现主要从事植物生态学和树木生理学研究 and 教学工作。E-mail: dubaoguo1978@yahoo.com.cn.

**通讯作者:** 魏安智(1961-), 男, 教授, 现主要从事植物抗逆分子生物学, 经济植物遗传育种及植物资源利用等领域的教学和科研工作。E-mail: weianzhi@126.com.

**收稿日期:** 2010-07-29

桉叶唐棣(*Amelanchier alnifolia* Nutt)为蔷薇科苹果亚科唐棣属, 落叶小乔木或灌木<sup>[1]</sup>, 原产地为北美中西部, 是北美重要的经济树种, 也是加拿大优良的乡土果树之一。桉叶唐棣为深根性, 主根明显, 根系发达, 多分布在 40 cm 土层内, 有较强的固土能力。其喜光、耐寒、耐旱, 对气候和土壤有较强的适应能力, 可在栗钙土、黑钙土、褐色土和棕壤等多种土壤上生长。果实为梨果状浆果, 含糖量 11%~19%, 蛋白质 1.9%~9.7%。每 100 g 鲜果含钙 88 mg, 为百果之首, 含镁 400 mg、钾

## 参考文献

- [1] 王玉勤, 杜永芹, 倪林娟. 火焰南天竹的扦插繁殖法[J]. 上海农业科技, 2004(5): 97.
- [2] 杜永芹, 倪林娟, 王玉勤, 等. 观赏林木新品种火焰南天竹的引进与繁育技术研究[J]. 上海农业科技, 2007, 23(3): 38-41.
- [3] 黄一青, 王青华. 火焰南天竹的组织培养[J]. 农业科技通讯, 2002(11): 1.
- [4] 杜永芹, 倪林娟, 王玉勤. 耐寒彩叶树种火焰南天竹的快繁技术研究[J]. 上海农业学报, 2004, 20(4): 1-4.

- [5] 曹汝义. 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.
- [6] 吴丽君. 木本植物组织培养技术在林业科研与生产中的应用与局限[J]. 福建林业科技, 2003, 30(1): 67-69.
- [7] 曹昆, 李霞. 木本植物组织培养不定芽诱导研究进展[J]. 江苏林业科技, 2008, 35(5): 43-48.
- [8] 周南端, 黄一青, 王青华. 火焰南天竹的组织培养[J]. 农业科技通讯, 2002(11): 17.
- [9] 李慧. 彩叶树种火焰南天竹的离体快繁研究[J]. 江苏农业科学, 2010(1): 74-76.

## Study on Tissue Culuture of *Nandina domestica* 'Fire power'

DENG Yu-ying<sup>1</sup>, LV Xiur-li<sup>2</sup>

(1. Changzhou Institute of Engineering Technology, Changzhou, Jiangsu 213164; 2. Shanghai Institute of Garden, Shanghai 200232)

**Abstract:** Taking stem tip of *Nandina domestica* as explants, the condition of tissue culture were studied. The results showed that the optimal medium for inducing first generation was 1/2WPM+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, the optimal medium for proliferation was 1/2WPM+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L, the optimal medium for take root was 1/2WPM+IBA 0.1 mg/L, survival ration was 90%.

**Key words:** *Nandina domestica* 'Fire power'; tissue culuture

244~300 mg。果实味道清香甜美,除直接鲜食以外,主要用于酿酒、制造高级饮品、食品和保健药品,也是上等的调味佳品,还可以制茶或提取天然色素,是第三代水果的佼佼者<sup>[2]</sup>。目前加拿大已生产出以果酱、果汁、果酒为主的几十种系列产品和药品。树型美观大方,花、果颇为俏丽,具有较高的观赏价值,也是不可多得的园林绿化树种<sup>[3-4]</sup>。

辽宁省干旱地区造林研究所 1997 年开始从加拿大萨斯喀彻温大学引进桤叶唐棣,经过多年的栽培,在我国北方地区生长结果正常,经济性状明显,现正进行大面积推广,急需大量优质苗木<sup>[5]</sup>。桤叶唐棣虽可通过种子繁殖<sup>[6]</sup>,但繁殖的植株容易出现性状差异,丧失母本的某些优良性状<sup>[7]</sup>。组织培养不但可以在较短的时间内获得大量的苗木,而且可以保持母株的优良性状。而建立无菌苗体系是组培繁殖的前提条件,该试验旨在对影响桤叶唐棣初代培养无菌苗建立的因素进行研究,以期寻求高效、稳定的组培快繁技术体系,为进一步的快速繁殖提供材料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料采自陕西扶风县上宋乡 2001 年从辽宁引种栽植的唐棣园。选择生长健壮,无病虫害的植株,取发育良好的带芽茎段,用湿毛巾包裹后立即带回实验室进行处理,备用。

### 1.2 试验方法

1.2.1 外植体的处理和消毒 将枝条剪成 1.0~1.5 cm 的带芽茎段,剪掉叶片,在流水下冲洗 5 h,然后进行消毒处理,方法见表 1,各处理均用无菌水冲洗 5 次。将经过消毒的外植体在超净工作台上剪去与药液接触的茎段两端,然后剪成 1 cm 左右的带芽小段,接种到 MS+IAA 0.1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L 培养基中<sup>[8]</sup>,每瓶接种 1 个外植体。

1.2.2 初代培养基本培养基的选择 采用 MS、N6、H、GD 和 White 5 种不同类型的基本培养基,均添加 IAA 0.1 mg/L+6-BA 2.0 mg/L,从外植体的启动萌发、生长和增殖等方面进行比较,选择适宜的初代基本培养基(表 2)。

1.2.3 不同激素组合对初代培养的影响 在选出最佳基本培养基的基础上,分别添加不同的激素(表 3),以研究激素对初代培养的影响,选择较适宜的激素组合。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同消毒处理对外植体的影响

接种后 5 d 时发现部分 1 号和 2 号处理的培养基表面变得粗糙、不光滑,有细菌污染的迹象;7 d 时部分 1 号处理培养基中出现真菌菌落,外植体的芽尖和叶腋处出现少量白色的菌丝,并且在逐步增多扩大。到 20 d 时

统计结果(表 1),发现 3 号处理较为理想,污染率和致死率均较低,分别为 11.2%和 9.5%。而升汞消毒 8 min 处理 1 的污染率最高,为 32.5%升汞消毒 10 min 处理 2 的致死率最高,为 20.4%。

表 1 不同消毒方法的消毒效果

处理	消毒方法/min			污染率	致死率
	70%酒精	10%次氯酸钠	0.1%升汞	/%	/%
1	0.5	—	8	32.5	13.3
2	0.5	—	10	12.4	20.4
3	0.5	10	2	11.2	9.5

### 2.2 初代基本培养基的选择

试验采用 MS、N6、H、GD 和 White 5 种具有代表性的不同类型的基本培养基,添加相同激素,即 IAA 0.1 mg/L+6-BA 2.0 mg/L,从外植体的启动萌发、生长和增殖等方面进行比较,结果见表 2。

表 2 基本培养基类型对初代培养的影响

培养基	增殖芽数	平均茎芽长/cm	苗生长状况
MS	2.45	1.18	萌发早 多为丛芽,生长健壮
N6	1.33	0.95	萌发较早,生长较好
H	2.07	0.70	萌发较早 生长较好萌发较晚,生长不良
GD	1.20	0.68	生长不良
White	0.62	0.38	几乎无萌发 生长不良

在培养过程中发现,接种 2 周左右,MS 培养基上的外植体就开始萌发,芽鳞膨大,逐渐展开。N6 和 H 培养基上的外植体萌发较 MS 的晚 2 d 左右,而在 White 培养基上的外植体仅个别腋芽稍有萌动,其它几乎未见萌发,且大部分外植体的茎杆细弱,表面有大量的颗粒状愈伤组织产生,最后逐渐死亡。由此可见,高盐浓度的 MS 培养基较适宜于桤叶唐棣带芽茎段的初代培养,其增殖芽数、茎芽长均高于试验中的其它培养基,分别为 2.45、1.18 cm。

### 2.3 不同激素组合对初代培养的影响

将茎段接种在添加不同激素的 MS 培养基上,其中以第 2 个处理即 MS+IAA 0.1 mg/L+6-BA 2.0 mg/L 生长最好,15 d 时芽鳞开始萌动并生长,5 周左右部分芽长成 2 cm 左右的茎段,并且生长旺盛,颜色嫩绿,叶片舒展,在增殖芽数和茎芽长两方面均达到最大值(表 3)。第 3 个处理的外植体萌发时间要比第 2 个处理的晚 5 d 左右,而在 1 号处理中,有 20%左右的带芽茎段未见萌发,芽的萌发时间也较 2 和 3 处理的晚,且其诱导的苗长势较细弱,叶片多为卷曲状,几乎无伸长生长。

表 3 不同激素组合对初代培养的影响

处理	激素/mg·L <sup>-1</sup>			增殖芽数	茎芽长/cm
	IAA	6-BA	KT		
1	0.1	1.0	—	1.54	0.74
2	0.1	2.0	—	2.54	1.25
3	0.1	0.5	0.5	2.30	1.10

### 3 结论与讨论

#### 3.1 消毒方法的选择

外植体消毒的成功与否是建立组培快繁体系的先决条件,试验中采用 10% 次氯酸钠 10 min 和 0.1% 升汞 2 min 混合使用的方式,取得了较好的消毒效果。其中 1 号处理的污染率最高,2 号处理的污染率虽较低,但 20.4% 的外植体死亡,其死亡的原因可能是由于消毒剂的毒害作用。根据陈振光<sup>[9]</sup>等人的报道,升汞虽然消毒效果较好,但外植体残留严重,对植物组织和细胞有杀伤作用。次氯酸钠能够分解成具有杀菌效能的氯气,然后散失到空气中,所以较长时间的次氯酸钠和短时间的升汞配合使用,能够起到很好的消毒效果,又不至于对外植体造成较大的毒害。宋敏<sup>[10]</sup>在对栓皮栎的组织培养研究中也证实了这一结论,即次氯酸钠和升汞相互配合使用可以起到较好的消毒作用。

#### 3.2 基本培养基对初代培养的影响

根据何松林<sup>[11-12]</sup>等人的研究报道,基本培养基是植物组织培养重要的基质,不同的植物种类以及不同的外植体类型对培养基成分要求也有差异。因此,选择合适的培养基类型对于植物组织培养成败至关重要。试验结果表明(表 2),MS 培养基较适宜于桉叶唐棣带芽茎段的组织培养,其增殖芽数、茎芽长等指标均高于试验中的其它培养基。这和前人<sup>[13]</sup>的研究结果较为一致,木本植物组织培养中应用最为广泛的是 MS 培养基,它的无机盐(如钾盐、铵盐及硝酸盐)含量均较高,微量元素种类较全,浓度也较高,我国近 5 a 来在树种成功的离体培养中,多数选用 MS 培养基。钟宇<sup>[13]</sup>等人也认为  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比率和总 N(盐)水平有影响器官形成的作用,在 MS 培养基中  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  为 0.5,硝态氮作氮源,作用温

和,效果更为理想。所以,绝大多数培养基配方和绝大多数植物组织培养所要求  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  的比率较低,甚至不含  $\text{NH}_4^+$ 。

#### 参考文献

- [1] 中国树木志编辑委员会. 中国树木志 [M]. 2 卷. 北京: 中国林业出版社, 1985.
- [2] 林宝山. 尼尔森唐棣的组织培养和快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(6): 589.
- [3] 步兆东, 郭浩, 陈国山, 等. 桉叶唐棣营养钵育苗试验初报 [J]. 落叶果树, 2002(3): 7-9.
- [4] 步兆东, 郭浩, 陈国山, 等. 桉叶唐棣营养钵育苗技术 [J]. 林业实用技术, 2002, 9(3): 32.
- [5] 郭浩, 张俊佩, 步兆东, 等. 半干旱地区桉叶唐棣 7 个品种引种试验 [J]. 中国果树, 2005(2): 27-29.
- [6] Pruski K, Nowak J, Grainger G. Micropropagation of four cultivars of saskatoon berry (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1990, 21: 103-109.
- [7] Brian D B, Bandara M S, Karen K T. Bud scale maturation in Saskatoon berry (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) plantlets following *in vitro* hormonal treatments [J]. Acta horticulturae, 1998, 520: 203-208.
- [8] 杜保国, 杨述熙, 魏安智, 等. 桉叶唐棣组织培养研究 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(2): 400-404.
- [9] 陈振光. 枇杷离体培养研究进展 [J]. 福建农学院学报, 1991, 20(4): 422-426.
- [10] 宋敏. 栓皮栎离体培养再生植株的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2003.
- [11] 何松林, 十鸟三和子, 孔德政, 等. 基本培养基及凝固剂对文心兰试管苗生长发育的影响 [J]. 北京林业大学学报, 2001, 23(1): 29-31.
- [12] 彭信海, 宾秋实. 植物组织培养在林木遗传育种的应用 [J]. 经济林研究, 1998, 16(2): 54-55.
- [13] 钟宇, 张健, 罗承德, 等. 西洋杜鹃组织培养技术体系研究(1)—基本培养基和外植体的选择 [J]. 四川农业大学学报, 2001, 19(1): 37-39.

## Study on the Influencing Factors of Initial Culture of *Amelanchier alnifolia* Nutt

DU Bao-guo<sup>1</sup>, YANG Feng-f<sup>2</sup>, YANG Tu-xi<sup>3</sup>, WEI An-zhi<sup>3</sup>

(1. College of Life Science and Biotechnology, Mianyang Normal University, Mianyang, Sichuan 621000; 2. College of Urban and Rural Development and Planning, Mianyang Normal University, Mianyang, Sichuan 621000; 3. College of Life Science, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

**Abstract:** Stems with buds were used as explants to study how disinfection methods, basic medium and different hormone affect the primary culture of *Amelanchier alnifolia* Nutt. The results showed that the best disinfection method was using 10% NaClO for 10 minutes and then 0.1% HgCl<sub>2</sub> for 2 minutes, it had lower contaminated rate and death rate; MS medium was the best one for primary culture with high multiplication and length of buds, 2.45 and 1.18 cm respectively; explants grew well in the medium of MS with IAA 0.1 mg/L and 6-BA 2.0 mg/L.

**Key words:** *Amelanchier alnifolia* Nutt; initial culture; influencing factors