

楔叶茶藨组织培养研究

李金英¹, 张志东¹, 李亚东¹, 吴林¹, 宋宏伟²

(1. 吉林农业大学园艺学院 吉林 长春 130118; 2. 吉林省农业科学院 吉林 长春 130033)

摘要: 试验采用楔叶茶藨水培新梢为外植体, 进行了组织培养研究, 成功的建立了无性繁殖体系, 即初代培养基: MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L; 增殖培养基: MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1~0.2 mg/L+GA₃ 0.25~0.5 mg/L。

关键词: 楔叶茶藨 组织培养

中图分类号: S 793.04 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)06-0081-03

楔叶茶藨(*Ribes diacantha* Pall)是茶藨子属(*Ribes* L.)虎耳草科(Saxifragaceae)植物, 全世界约150种, 资源非常丰富^[1]。茶藨子属植物主产于北半球寒带至温带, 少数种延伸到亚洲的亚热带和南美洲的安第斯山, 非洲仅2种, 分布于阿特拉斯山, 我国约50种, 主产西南、西北至东北, 其中有些供观赏用, 有些种的浆果可食^[2]。楔叶茶藨高1~2 m, 中生灌木, 叶片有光泽, 叶基楔形, 花绿黄色, 浆果球形, 红色, 具有观赏性, 果实可食, 雌雄异株。产量低, 抗寒性好, 可作育种原始材料, 主要生长于内蒙古东部及朝鲜、蒙古、原苏联(西伯利亚远东)地区^[3,4]。茶藨属植物虽然资源十分丰富, 但除对黑穗醋栗

(*Ribes nigrum* L.)等少数栽培品种有组培研究^[5-8]外, 对一些野生种基本没有相关研究报道。该试验以楔叶茶藨为试材, 对其初代培养物建立、继代增殖培养进行了研究, 旨在探讨楔叶茶藨组培过程中的主要影响因素, 建立离体无性系, 为楔叶茶藨快速繁殖技术体系的建立提供依据。该研究结果将对茶藨属植物新野生种的组培技术研究提供重要的参考价值和借鉴意义, 也为利用楔叶茶藨组培苗进行转基因技术的应用研究提供了科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料

楔叶茶藨外植体采自吉林农业大学小浆果园。

1.2 方法

除特殊处理外, 外植体均来自越冬枝条在室内水培后萌发出的新梢, 外植体长度为1.0~2.0 cm, 试验中外植体材料表面消毒方法均为: 用适量洗涤剂浸洗数分钟后, 在流水下冲洗30 min, 在超净工作台上用消毒药剂进行表面消毒后, 用无菌水冲洗3~4次, 每次至少3 min。除消毒时间试验处理所接种的外植体数不同外,

第一作者简介: 李金英(1978-), 女, 吉林舒兰人, 硕士, 研究方向为果树生物技术。E-mail: yuxinlijinying@yahoo.com.cn。
通讯作者: 张志东(1962-), 男, 黑龙江省肇源县人, 硕士, 教授, 研究方向为果树生物技术。E-mail: curant1985@163.com。
基金项目: 吉林省科技厅资助项目(20040701-1); 农业部948重点资助项目(2006-G25); 科技部资助项目(2005DKA21002-25)。
收稿日期: 2008-12-27

[9] 郑晓英, 连雯. 提高香蕉试管苗的质量和经济效益的研究[J]. 福建农业大学学报 1995, 24(4): 405-409.

The Study of Mass-produced Techonology Tissue Culture on Banana

SHAN Qin-li¹, ZHAO Hui¹, ZHANG Fu-dou²

(1. Research of Food Crops Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650205, China; 2. Agricultural Environment and Resource Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650205, China)

Abstract: The technology and flow of production on tissue culture of young banana plant was introduced systematically in this article, and some common problem and how to resolve it in the young banana plant mass-produced procedure was analysed and discussed. Aim to reduce the cost of production and optimize the flow of production, the authors did provide a set of technical project so as to further improve the quality of young banana plant and the production efficiency.

Key words: Banana; Tissue culture; Produce; Technology

其它试验每个处理接种 30 瓶, 每瓶接种一个外植体。每个调查项目的数据均取平均值, 以 MS 为基本培养基, 附加激素 BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L。30 d 后调查统计污染率、成活率和死亡率等指标。增殖培养试验采用的基本培养基均为 MS 培养基, 除多种激素组合比较试验外, 增殖均以 MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 为基本培养基。采用高度大于 0.5 cm、生长状态基本一致的组培苗。随时观察组培苗的生长变化情况, 30 d 后调查和统计增殖倍数、污染率、死亡率等指标。

2 结果与分析

2.1 影响楔叶茶藨离体初代培养的因素

2.1.1 抗生素对楔叶茶藨离体初代培养的影响 抗生素是生物代谢的产物, 一般是通过阻断微生物的正常代谢途径使微生物致死。通过向培养基中添加抗生素可防止植物材料内部的内生细菌^[9]。针对楔叶茶藨离体初代培养中污染比较严重的问题, 对材料使用了抗生素进行消毒。由表 1 可知, 楔叶茶藨外植体使用抗生素消毒的处理与对照相比, 材料的污染率有不同程度的降低, 成活率明显提高。其中用庆大霉素 100 mg/L 溶液处理接种材料 30 min 后, 再用 0.1% 升汞消毒 8 min, 其效果比较理想, 污染率仅为 10%, 成活率达 80%, 并且使用这种处理后, 并未发现庆大霉素对组培苗的增殖和生长产生毒害作用。另外, 使用抗生素的 3 个处理的死亡率分别为 5%、10%、10%, 而对照的死亡率为 0, 说明抗生素对离体材料也有一定的伤害, 因此使用时要注意选择适宜浓度。

2.1.2 外植体采集时间对楔叶茶藨离体初代培养的影响 由图 1 可以看出, 6~9 月份, 接种外植体的污染率和死亡率普遍较高, 而其它时期接种效果相对较好。分析原因是夏季高温多雨, 接种材料容易污染, 而秋、冬季各节方面条件比较适宜材料的接种与培养。由此看来,

正确选择接种时期是组培成功的重要因素之一。

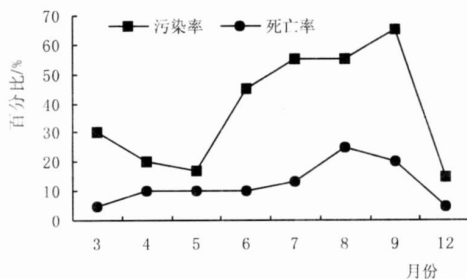


图1 接种时间对楔叶茶藨外植体初代培养污染的影响

2.1.3 外植体来源对楔叶茶藨初代培养的影响 植物的生长环境不同, 其组织表面及内部带菌情况存在很大的差异。对田间、温室和室内水培的楔叶茶藨新梢进行初代培养的研究结果表明(图2), 用 0.1% 升汞对不同来源的楔叶茶藨材料消毒 8 min, 初代培养的效果差异很大。其中水培的外植体污染率较低, 成活率较高, 组培效果最好; 田间采集的外植体污染率最高, 温室次之。

表1 抗生素对楔叶茶藨外植体初代培养的影响

处理	污染率/%	死亡率/%	成活率/%
青霉素 100 mg/L 30 min+0.1%升汞 8 min	30	5	65
庆大霉素 100 mg/L 30 min+0.1%升汞 8 min	10	10	80
链霉素 100 mg/L 30 min+0.1%升汞 8 min	40	10	50
0.1%升汞 8 min (CK)	55	0	45

2.1.4 继代培养时期对楔叶茶藨初代培养的影响 由图 3 看出, 继代过程中组培苗污染率的高低与继代培养时期有很大的关系。6~9 月份进行继代的组培苗污染率明显高于 4~5 月份和 10~12 月份。可能是 6~9 月环境中的微生物密度大, 从而造成的污染问题比较严重, 因此, 在此时期要特别注意环境的控制, 以降低污染率。

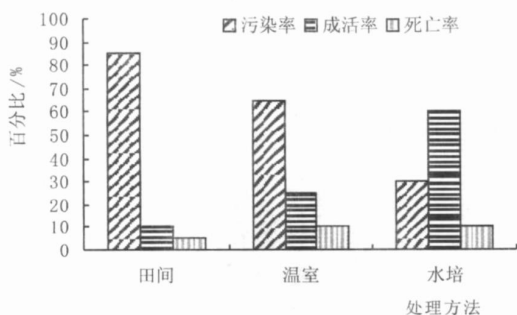


图2 材料来源对楔叶茶藨初代培养的影响

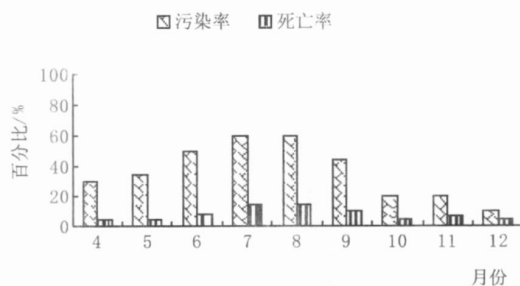


图3 继代培养时期对楔叶茶藨组培苗生长的影响

2.2 影响楔叶茶藨组培苗增殖培养的因素

2.2.1 赤霉素(GA₃)对楔叶茶藨组培苗增殖的影响 针对楔叶茶藨组培苗在 MS+BA 1.0 mg/L 培养基中节

间短、生长缓慢问题, 采用在原培养基中加入不同浓度的 GA₃ 处理, 研究了 GA₃ 对楔叶茶藨组培苗生长的影响。从图 4 看出, 楔叶茶藨增殖倍数随着 GA₃ 浓度的增

加逐渐降低,但苗高呈增高趋势。赤霉素对楔叶茶藨组培苗苗高有很大的影响,而对照中的组培苗虽然增殖倍数略高,但平均苗高均 ≤ 1.0 cm,而在 0.25~1.5 mg/L 赤霉素作用下,组培苗苗高均高于对照,平均苗高可达

1.0~1.5 cm,说明 GA₃ 具有促进组培苗伸长的作用,但对增殖并没有明显的促进作用,并且 GA₃ 浓度超过 1.0 mg/L 以后会抑制楔叶茶藨组培苗增殖生长。适宜组培苗增殖培养的 GA₃ 浓度为 0.25~0.5 mg/L。

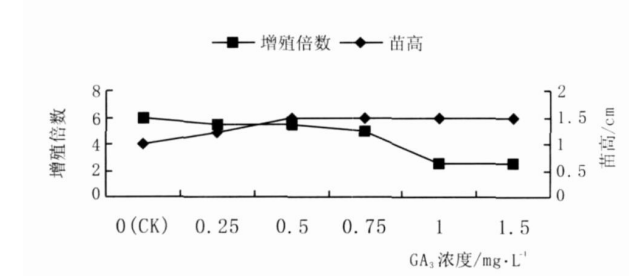


图 4 GA₃对楔叶茶藨组培苗增殖倍数与苗高的影响

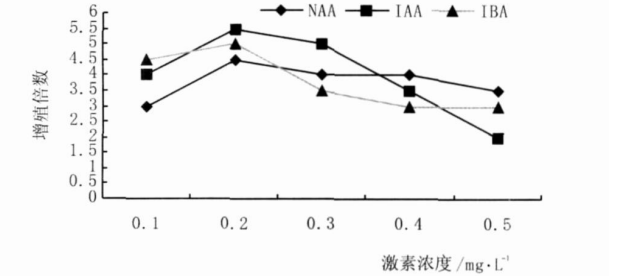


图 5 外源植物激素对楔叶茶藨组培苗增殖的影响

2.2.2 细胞分裂素 BA 与不同生长素对楔叶茶藨组培苗增殖的影响 增殖速度是影响植物组培快繁的重要因素。通常采用细胞分裂素来调节组培苗繁殖速度。在组培增殖过程中,不同植物种类对激素的种类和浓度的反应不同。试验过程中发现,在不同浓度的 NAA 中组培苗基部愈伤化比较严重,在 0.1~0.3 mg/L IAA 中组培苗增殖效果较好,但苗生长缓慢,在 0.1~0.2 mg/L IBA 中组培苗长势较好。综合考虑,楔叶茶藨较为适宜的增殖培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1~0.2 mg/L。

3 小结

楔叶茶藨初代培养过程中外植体最佳的消毒方法是用 0.1%的升汞+2 滴吐温消毒 8 min,或者在 0.1%升汞水溶液消毒前用庆大霉素 100 mg/L 水溶液浸泡楔叶茶藨茎段 30 min,污染率可以控制在 10%~55%以下。另外,水培外植体组培效果好,且采集组培材料宜在秋、冬季进行。楔叶茶藨组培苗在 4~5 月和 10~12 月期间继代增殖培养污染率低,成活率高,适宜的增殖

培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1~0.2 mg/L+GA₃0.25~0.5 mg/L。

参考文献

[1] 师治贤. 青藏茶藨子种子中的脂肪酸含量分析[J]. 西北植物学报 2004, 24(1): 149-151.
[2] 黄普华, 叶万辉. 茶藨子属植物的花粉形态及其在分类学上的意义[J]. 植物分类学报 1989, 27(5): 378-385.
[3] 张冰冰, 刘慧涛, 宋洪伟. 吉林省野生果树种质资源研究综述[J]. 吉林农业科学 2005, 30(2): 51-54, 60.
[4] 马毓泉, 富象乾, 陈山, 等. 内蒙古植物志[J]. 3 卷 3 版. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社 1989: 38-39.
[5] 赵锦, 陈瑜, 薛陈心, 等. 波兰黑穗醋栗组织培养[J]. 河北林果研究 2006, 21(4): 419-421.
[6] 刘文萍. 黑穗醋栗的组织培养快繁技术[J]. 特种经济动植物, 2005 (2): 5.
[7] 吕海波, 宋德禄. 黑穗醋栗组织培养工厂化育苗[J]. 中国林副特产, 1997, 40(1): 46-47.
[8] 郭春慧, 马凤桐. 黑穗醋栗试管苗生产工艺流程的研究[J]. 西北农业大学学报, 1991, 19(2): 65-72.
[9] 吴绛云, 黄定球. 黑穗醋栗的茎尖培养[M]//: 陈正华. 木本植物组织培养及其应用. 北京: 高等教育出版社, 1986: 369-383.

Study on Tissue Culture of *Ribes diacantha* Pall

LI Jin-ying¹, ZHANG Zhi-dong¹, LI Ya-dong¹, WU Lin¹, SONG Hong-wei²

(1. College of Horticulture Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118 China; 2. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 130033, China)

Abstract: The new shoots from water cultured branches of *Ribes diacantha* Pall were taken as experiment. The optimum media for initiating, proliferating, and rooting culture were established. The initial culture medium of *Ribes diacantha* Pall was MS supplemented with BA 1.0 mg/L and IBA 0.1 mg/L; The experiment of bud multiplication showed that: the best sub-culture medium for it *in vitro* was MS medium containing BA 1.0 mg/L, IBA 0.1~0.2 mg/L and GA₃ 0.25~0.5 mg/L.

Key words: *Ribes diacantha* Pall; Plant tissue culture