

# 不同外源激素对青钱柳茎段组织培养的影响

乔卿梅, 程茂高, 魏志华, 王新民

(郑州牧业工程高等专科学校 药物工程系 河南 郑州 450011)

**摘要:**以改良 MS 培养基为基本培养基, 研究不同种类、不同配比的外源激素对青钱柳当年生茎段组织培养的影响。结果表明: 青钱柳茎段愈伤组织诱导最佳培养基为改良 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA, 诱导率为 83.33%, 不定芽诱导适宜培养基是改良 MS+1.5 mg/L 6-BA+0.001 mg/L NAA, 诱导率为 50.00%, 不定根诱导的适宜培养基为改良 MS+5.0 mg/L IBA, 诱导率为 40.00%。

**关键词:**青钱柳; 组织培养; 外源激素

**中图分类号:**S 792.159; S 603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)07-0125-03

青钱柳(*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja)系胡桃科青钱柳属植物, 为我国特有的单种属珍稀树种, 是国家重点保护的濒危植物之一。青钱柳是一种高大阔叶乔木, 因其树形似柳, 果实似铜钱, 色青而下垂, 故名“青钱柳”, 具有很高的观赏和药用价值<sup>[1-2]</sup>, 是一个很有发展前途的珍贵树种, 市场前景非常广阔。青钱柳种子有深休眠特性, 一般播种后需隔年甚至 2 a 后才能萌发, 自然发芽率仅为 0.1%~0.2%<sup>[3]</sup>, 扦插繁殖的成活率低, 自然生长的数量少, 在一定程度上制约了该树种的开发利用。研究青钱柳组织培养技术并实现规模化培育, 成为加速青钱柳开发利用急需解决的关键问题。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料的采集

青钱柳来源于河南省南召县宝天曼国家自然保护区内海拔 800 m 以上的河谷溪流旁, 于 5 月份的早晨采集青钱柳当年生的嫩枝, 采后立即装入保鲜袋内, 再放入 40 cm×50 cm 的泡沫箱内, 投入冰袋进行密封保鲜, 回实验室立即进行处理。

### 1.2 材料的处理

将嫩枝剪去多余枝叶, 用洗洁精溶液浸洗 0.5 h, 再用流水冲洗 1 h, 以除去外植体表面的灰尘和部分菌体。沥干后, 将嫩枝剪成 1.5~2 cm 的茎段(含有 1~2 个不定芽), 在无菌条件下用 75% 酒精消毒 2~3 s, 用 0.1% 的升汞溶液消毒 13~15 min, 再用无菌水冲洗 4 次。接种前用无菌剪刀将茎段的两端剪去少许, 接种到预先配

制好的培养基上, 每瓶接种 1 个茎段, 用双层锡箔纸封口。

### 1.3 培养基的制备

参考上官新晨<sup>[4]</sup>、乔卿梅<sup>[5]</sup>等的试验结果, 该实验对 MS 培养基进行了改良: 除 CaCl<sub>2</sub>、MgSO<sub>4</sub> 全量外, 其它元素为全量的 3/4, pH 6.0, 另增加 40% 多菌灵可湿性粉剂 1.25 g/L+200 mg/L 青霉素。在改良 MS 培养基上, 诱导愈伤组织和不定芽的外源激素(细胞分裂素 6-BA 与生长素 NAA)的配比方案采用二因素正交试验(表 1), 共设置 20 个处理, 诱导不定根的外源激素采用吲哚丁酸(IBA), 共设 6 个处理。每个处理重复 30 瓶, 按常规方法灭菌。

表 1 6-BA 和 NAA 的浓度和相对配比

浓度/mg·L <sup>-1</sup>		NAA				
		0.01	0.05	0.1	0.5	1
6-BA	2	α1	α2	α3	α4	α5
	1.5	α6	α7	α8	α9	α10
	1.0	α11	α12	α13	α14	α15
	0.5	α16	α17	α18	α19	α20

### 1.4 培养条件

用智能人工气候培养箱进行培养, 培养温度(26±1)℃, 光强度为 1 200 lx, 以 12 h 白天和 12 h 黑夜交替培养的方式进行培养。20 d 后进行愈伤组织、不定芽和不定根统计。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度的外源激素对青钱柳茎段愈伤组织的影响

将不同浓度的外源激素添加到改良 MS 培养基后, 对青钱柳茎段的诱导结果见表 2。结果显示, 改良 MS 培养基能培育出青钱柳茎段的愈伤组织和不定芽, 可作为青钱柳茎段组织培养的基本培养基; 6-BA 和 NAA 的不同浓度配比对青钱柳茎段愈伤组织和不定芽的诱导有较大的影响, 可作为诱导青钱柳茎段愈伤组织的合适

第一作者简介: 乔卿梅(1974), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事植物资源开发与栽培研究工作。E-mail: qjqm727@163.com。

基金项目: 河南省科技攻关资助项目(0624070034); 河南省杰出青年科学基金资助项目(074100510018)。

收稿日期: 2009-02-10

的外源激素。6-BA 的浓度在 0.5 ~ 2.0 mg/L 之间均能诱导出愈伤组织 这与胡冬南<sup>[9]</sup> 等研究结果相一致; NAA 在 0.1 ~ 1.0 mg/L 之间也能诱导出愈伤组织, 与上官新晨<sup>[4]</sup> 等研究结果一致。但这 2 种外源激素的最佳配比是处理 3(α 3) 和处理 4(α 4), 即改良 MS+6-BA

2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 和改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L, 二者均能诱导出良好的愈伤组织 愈伤组织浅绿色, 质地疏松, 生长速度快, 量大、无褐变 愈伤组织诱导率高, 分别为 83.33% 和 73.33%。

表 2 不同激素对比对青钱柳茎段组织培养的诱导情况

处理	培养基组成	诱导情况	诱导率/%
α1	改良 MS+6-BA 2.0+NAA 0.01	原叶腋处诱导出瘤状突起的翠绿色不定芽	26.66
α3	改良 MS+6-BA 2.0+NAA 0.1	愈伤组织浅绿色、生长旺盛、诱导量大、无褐化	83.33
α4	改良 MS+6-BA 2.0+NAA 0.5	愈伤组织浅绿色、生长旺盛 诱导量大、无褐化	73.33
α5	改良 MS+6-BA 2.0+NAA 1.0	有少量愈伤组织, 有少量褐化	30.00
α6	改良 MS+6-BA 1.5+NAA 0.01	原叶腋处诱导出瘤状突起的翠绿色不定芽	50.00
α9	改良 MS+6-BA 1.5+NAA 0.5	有少量浅色愈伤组织生成, 褐化	46.67
α10	改良 MS+6-BA 1.5+NAA 1.0	少量愈伤组织生成 褐化	30.00
α13	改良 MS+6-BA 1.0+NAA 0.1	愈伤组织浅绿色, 诱导量大 无褐化	40.00
α15	改良 MS+6-BA 1.0+NAA 1.0	有大量愈伤组织生成, 但有褐化	20.00
α20	改良 MS+6-BA 0.5+NAA 1.0	愈伤组织浅绿色, 诱导量大 有少量褐化	30.00

### 2.2 不同浓度的外源激素对青钱柳茎段不定芽的影响

表 2 表明, 处理 1(α 1) 和处理 6(α 6), 即改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 和改良 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L 能诱导出翠绿色的不定芽, 但处理 6(α 6) 的诱导率稍高于处理 1(α 1), 不定芽的诱导率达到 50%。

### 2.3 青钱柳茎段不定根的诱导

参考陈伟、张建成<sup>[7,8]</sup> 等的试验结果, 诱导青钱柳茎段不定根的外源激素选用 IBA。将青钱柳茎段一直培养在生根培养基上, 诱导结果见表 3。可以看出, IBA 可以诱导青钱柳茎段不定根的产生, 不同浓度的 IBA 诱导效果不同, 其中 IBA 在改良 MS 培养基上的浓度为 5.0 mg/L 时诱导生根效果最好, 诱导率达到 40%, 而浓度在 1.0 mg/L 时诱导效果最差 诱导出的不定根纤细, 且生根数少, 诱导率为 10%。

表 3 培养基中附加不同浓度 IBA 与 NAA 对青钱柳茎段不定根诱导的影响

处理	生根培养基组成	诱导生根结果	诱导率/%
①	改良 MS+IBA 1.0 mg/L	根纤细 生根数较少	10.00
②	改良 MS+IBA 2.0 mg/L	根纤细 生根数较少	16.67
③	改良 MS+IBA 3.0 mg/L	根正常 生根数较少	20.00
④	改良 MS+IBA 4.0 mg/L	根正常 生根数较多	33.33
⑤	改良 MS+IBA 5.0 mg/L	根较粗壮 生根数较多	40.00
⑥	改良 MS+IBA 6.0 mg/L	根纤细 生根数较少	30.00

### 3 小结与讨论

植物组织培养的成功与否涉及培养基成分、外植体类型、外源激素的种类与浓度、光照条件及植物体自身

的一些生物学特性等, 其中外源激素的种类、浓度及其对比对组织培养起着至关重要的作用。结果表明, 青钱柳茎段愈伤组织诱导的最佳配方是改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 诱导率为 83.33%; 不定芽诱导的适宜培养基是改良 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.001 mg/L, 诱导率为 50%。试验采用改良 MS+IBA 5.0 mg/L 的培养基也诱导出一定数量的不定根, 但诱导率较低, 只有 40%。因此, 青钱柳茎段组织培养技术还需进一步深入研究, 要进一步调整外源激素的配比, 要找出引起褐化现象的原因, 抑制褐化现象的发生, 进一步提高诱导率, 培育出能够规模化生产的组培苗。

#### 参考文献

- [1] 乔卿梅 王鹏, 程茂高. 青钱柳的研究现状[J]. 河南林业科技 2006 26(1): 24-26.
- [2] 舒任庚. 青钱柳植物化学成分研究简报[J]. 江西中医学院学报 1996, 8(2): 34.
- [3] 徐庆, 宋芸娟. 青钱柳的研究概况[J]. 华夏医学 2004, 6(3): 451-453.
- [4] 上官新晨, 郭春兰, 蒋艳, 等. 培养基和植物激素对青钱柳茎段和叶片愈伤组织诱导的研究[J]. 江西农业大学学报 2006 28(5): 678-682.
- [5] 乔卿梅, 程茂高, 许天运, 等. 南召宝天曼自然保护区青钱柳生长环境及土壤养分状况研究[J]. 安徽农业科学. 2007, 35(31): 9927-9928.
- [6] 胡冬南, 蒋艳, 吴少福, 等. 青钱柳组织培养的初步研究[J]. 江西农业大学学报, 2005 27(1): 39-41.
- [7] 陈伟. 生长调节剂、酚类化合物和多胺对胡桃组织培养生根的影响[J]. 福建农业大学学报 1994(4): 490-494.
- [8] 张建成, 张晓伟. 核桃试管苗生根培养的研究[J]. 河北林果研究 2005, 20(4): 361-365.

# 葡萄抗主要真菌病害与叶绿素含量的关系

刘会宁, 欧志远

(长江大学 园艺园林学院, 湖北 荆州 434025)

**摘要:** 在白粉病、霜霉病、黑痘病各自的发病盛期对 6 个供试葡萄品种进行田间病害鉴定, 同时测定各个病害健康叶和感病叶的叶绿素相对含量和绝对含量, 并对 2 组数据进行相关分析, 找出葡萄抗主要真菌病害与叶绿素相对含量和绝对含量的关系。结果表明: 叶绿素的绝对含量和相对含量与供试品种对白粉病的感病性均呈显著正相关; 叶绿素的绝对含量和相对含量与供试品种对霜霉病的感病性均呈极显著的正相关; 叶绿素的绝对含量和相对含量与供试品种对黑痘病的感病性均呈不显著的正相关。通过了解真菌病害与叶绿素含量的关系, 可为葡萄高产栽培及病害防治提供参考。

**关键词:** 叶绿素含量; 葡萄白粉病; 葡萄黑痘病; 葡萄霜霉病; 抗病关系

中图分类号: S 663.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2009)07-0127-03

葡萄属于葡萄科(Vitaceae)葡萄属(*Vitis*)植物, 是一种栽培价值很高的果树, 在世界果树生产中栽培面积和产量仅次于柑橘。我国也是葡萄主要生产国, 现在已经有东北产地、渤海湾产地、沙城产地、清徐产地、银川产地、武威产地、吐鲁番产地、石河子产地、黄河故道产地和云南弥勒产地 10 个葡萄主产地<sup>[1]</sup>。

作为一种喜光、喜干燥树种, 葡萄长期以来主要在

长江流域以北的广大地区栽培, 而我国南方特别是长江流域以南地区, 在葡萄生长季节因高温多湿造成真菌性病害较为严重, 使大多数葡萄品种的生长受到了不同程度的影响<sup>[2]</sup>。影响致病真菌引发真菌性病害的因素很多, 叶绿素含量就是其中之一。徐秉良等对 8 个不同抗病性的苜蓿品种叶片进行白粉菌接种, 并测定叶绿素含量后得出: 品种间健康叶片的叶绿素含量差异不显著; 接种病菌后品种间叶绿素含量差异显著, 而且其叶绿素含量随发病程度的增加而显著降低<sup>[3]</sup>。另外刘会宁等在葡萄霜霉病上的研究结果也表明, 同一品种 2 种鉴定方法(即田间自然鉴定及室内离体圆叶接种鉴定)的病情指数与叶绿素含量之间均存在着极显著的正相关<sup>[4]</sup>。尽管如此, 但在同一条件下, 探讨叶绿素含量与葡萄抗多种真菌病害的关系者还未进行。因此, 试验拟通过对供试品种进行主要真菌病害抗性鉴定及叶绿素相对含

**第一作者简介:** 刘会宁(1965-), 女, 陕西杨凌人, 副教授, 现主要从事葡萄种质资源优质高效栽培及抗病性研究, 已公开发表学术论文 50 余篇, 主持及参与多项省部级科学研究项目。E-mail: qiwei1990@sina.com.

**基金项目:** 湖北省教育厅重点科研基金资助项目(2002X18; D20081201)。

**收稿日期:** 2009-02-10

## Effect of Different Exogenous Hormones on Tissue Culture of *Cyclocarya paliurus* Iljinsk Stem Section

QIAO Qing-mei, CHENG Mao-gao, WEI Zhi-hua, WANG Xin-min

(Zhengzhou College of Animal Husbandry and Engineering, Zhengzhou, Henan 450011, China)

**Abstract:** The reformative MS was served as basic medium to study the effect of different types, different ratio of exogenous hormones on the on tissue culture of *Cyclocarya paliurus* Iljinsk underyearling stem section. The study showed that the reformative MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA was the best culture medium for stem section, inductivity of calli was 83.33%, the reformative MS+1.5 mg/L 6-BA+0.001 mg/L NAA was suitable for adventitious buds induced, inductivity of adventitious buds was 50.00%, and the reformative MS+5.0 mg/L IBA was suitable for adventitious roots induced, inductivity of adventitious roots was 40.00%.

**Key words:** *Cyclocarya paliurus* Iljinsk; Tissue culture; Exogenous hormones