

# 桦木科植物组织培养研究进展

金建邦<sup>1</sup>, 祝遵凌<sup>1,2</sup>

(1. 南京林业大学 风景园林学院, 江苏 南京 210037; 2. 南京林业大学 艺术设计学院, 江苏 南京 210037)

**摘要:**在对国内外桦木科植物组织培养研究现状进行综述的基础上,从已有组织培养报道的桦木科植物的外植体种类、灭菌方法及污染控制、基本培养基类型及激素种类与配比等方面进行了分析;指出了桦木科组培中尚需解决的问题,以期能为桦木科植物高效组培体系的建立提供参考。

**关键词:**桦木科植物;组织培养;基本培养基;植物激素

**中图分类号:**S 503.53 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)23-0202-05

桦木科全科 6 属,100 余种,主要分布于北温带,我国 6 属都有分布,共约 70 种,其中虎榛子属为我国特产。桦木科的许多树种为北温带森林的重要组成树种,并为造林树种,其中一些树种也是亚热带山区森林中的重要成分<sup>[1]</sup>。目前,桦木科的许多植物大多采用播种和扦插繁殖,繁殖系数较低,使苗木产业化的进程难以推进。

桦木科还有许多重要的珍稀濒危植物和常用的园林绿化树种,如普陀鹅耳枥(*Carpinus putoensis*)、天台鹅耳枥(*Carpinus stientaiensis*)与盐桦(*Betula halophila*)等是我国的保护植物。白桦(*Betula platyphylla*)、欧洲鹅耳枥(*Carpinus betulus*)等因其树形优美、枝叶扶疏在园林绿化中早有应用。传统的繁殖方法既耗时又不能满足苗木商业化的需要。将植物组织培养技术应用于桦木科植物的快速繁殖,对保持桦木科许多珍稀植物的种质资源,保护物种多样性,加速推进一些优良苗木的工厂化生产,提高园林绿化苗木的多样性水平,丰富我国城市绿化的多样性具有重要的意义。到目前为止,桦木科中有很多植物组培已获得成功,如盐桦、西南桦(*Betula alnoides*)、白桦、普陀鹅耳枥等。该文从桦木科植物组织培养外植体的选择、外植体的灭菌、基本培养基的选择、激素种类及配比等方面综述了桦木科植物组织培养的研究现状和实际应用中存在的问题。

## 1 外植体的选择

外植体的选择是植物组培能否成功的关键环节。

**第一作者简介:**金建邦(1986-),男,江苏盐城人,硕士研究生,研究方向为园林植物栽培及应用。E-mail:jnjbang@yeah.net.

**责任作者:**祝遵凌(1968-),男,河南固始人,博士,副教授,现主要从事园林植物应用及园林植物栽培等研究工作。E-mail:zhuzunling@yahoo.com.cn.

**基金项目:**江苏省科技支撑计划资助项目(BE2012345);江苏省“青蓝工程”资助项目;国家林业局“948”资助项目(2011-4-44);江苏高校优势学科建设工程资助项目。

**收稿日期:**2013-05-16

母株的生长状态、年龄、基因型及外植体的取材部位和时间都影响植物组织培养的形态发生。植株的发生方式有间接发生型和直接发生型。间接发生型指外植体通过脱分化产生愈伤组织,而愈伤组织进行再分化途径从而形成不定芽、不定根或体细胞胚,直至培养成完整植株。直接发生型不经愈伤组织阶段能保持母株的优良性状,遗传性状稳定。桦木科植物组织培养所采用外植体的类型较多,如带腋芽茎段、茎尖、种子、叶片、种胚等。

以盐桦的带芽嫩茎、嫩茎茎段、嫩叶为外植体进行不定芽诱导,结果表明,带芽嫩茎是诱导芽分化的最佳外植体<sup>[2]</sup>。外植体的不同取材时期对组织培养能否成功有着较大的影响,5月中旬和下甸采取的平欧杂交榛(*Corylus heterophylla* × *Corylus avellana*)外植体的不定芽诱导率极显著优于其它采集时期<sup>[3]</sup>,不同品种的平欧杂交榛茎段外植体与根蘖苗茎段相比,污染率很高而存活率很低,增殖倍数小,根蘖苗茎段用作初代培养的外植体更为适宜。通过对“达维”、“平顶黄”、“薄壳红”与“玉坠”4个平欧杂交榛组培研究发现,不定芽萌发差异显著,“平顶黄”培养材料全部褐死,“达维”萌芽率较低且腋芽萌发较小<sup>[4]</sup>。丁云峰等<sup>[5]</sup>研究报道白桦的叶片是进行组培快繁的较好材料,优于其它类型的外植体。邵红等<sup>[6]</sup>以平欧杂交榛子叶、花药为外植体成功地诱导出愈伤组织,但子叶的愈伤组织诱导率最高。春、秋季的材料最易产生愈伤组织,而在夏、冬季节采集的茎、芽在相同的培养基中很难分化出不定芽,产生愈伤组织也很困难。带腋芽茎段适合诱导而顶芽却不适合诱导,低温处理有利于茎段愈伤组织的诱导,诱导出的愈伤组织比较松软而易于增殖,而未经低温处理形成的愈伤组织比较紧致,难以增殖和分化<sup>[7]</sup>。Yu<sup>[8]</sup>研究报道外植体的类型是欧洲榛组培成功的关键影响因素,顶芽比茎段更容易诱导不定芽。

## 2 外植体的消毒灭菌方法及污染控制

无菌体系的建立是植物组织培养的关键性环节,很

多学者都对外植体的消毒处理进行了研究。在探讨无菌外植体获得的过程中发现,不同灭菌剂和不同灭菌时间对外植体灭菌效果差异极显著。0.1% HgCl<sub>2</sub> 和 10% NaClO 常作为外植体的消毒剂,对于沼泽小叶桦(*Betula microphylla* var. *paludosa*),用 10% NaClO 消毒 8~12 min 更合适,随着消毒时间的延长,外植体的污染率则会显著下降,但外植体的成活率也会因此受到影响<sup>[9]</sup>。随着辽东桤木(*Alnus sibirica*)种子在 75% 酒精中浸泡时间的加长,种子的污染率会降低,但种子的萌发率也随之降低,因此,处理好外植体的污染率与成活率之间的关系,在组织培养中显得尤为重要<sup>[10]</sup>。消毒处理不仅影响外植体的表面消毒效果,而且对随后外植体的腋芽生长也有较大影响,用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 处理时,污染率虽然较低,但接入培养基后,外植体的褐化问题相当严重,用 1% NaClO 处理时,虽然在一定程度上降低外植体的褐化率,但外植体的污染率则升高。综合各方面的因素,认为 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 3 min 40 s 为平欧杂交最佳外植体的表面消毒剂和消毒时间<sup>[4]</sup>;维生素 C、活性炭和聚乙烯吡咯烷酮等抗氧化剂能显著降低平榛外植体的褐化率,维生素 C 抗褐变效果明显好于活性炭与聚乙烯吡咯烷酮处理<sup>[11]</sup>;头孢拉定、庆大霉素和青霉素 3 种抗生素对组培过程中污染细菌有一定的抑菌效果;培养基中添加浓度为 30 mg/L 青霉素对细菌的抑制作用较好。但是随着时间的推移,由于抗生素的消耗,真菌对抗生素有可能产生一定的耐药性,致使在试验后期污染率升高<sup>[12]</sup>;低温(5℃)冷藏有助于降低榛子带芽茎段的污染率并能提高其腋芽的诱导率<sup>[13]</sup>。

### 3 基本培养基的选择

近几十年来,桦木属(*Betula*)植物组培中所用基本培养基主要有 WPM、MS、1/2MS、WH、N<sub>6</sub>、NRM、DKW、NN、B<sub>5</sub> 等。孙晓敏等<sup>[14]</sup>对光皮桦(*Betula lumini fera*)最适的基本培养基筛选表明,MS 适合光皮桦不定芽的诱导,启动时间较快,有效芽多,芽体生长健壮,WPM 的无菌苗长势较弱,而 1/2MS 培养基诱导的芽体较少且长势较差,都不适于光皮桦不定芽的诱导。薛丽宁等<sup>[15]</sup>将外植体置于未添加任何激素的 WPM、MS、1/2MS 培养基上,进行不定芽的诱导,结果表明 WPM 培养基的诱导率显著高于 MS 和 1/2MS,芽体成活率也较高。尹成涛等<sup>[16]</sup>从 MS、WPM、WH、N<sub>6</sub> 4 种培养基中筛选适于欧洲榛(*Corylus avellana*)启动的最佳培养基,结果发现 MS 诱导产生愈伤组织的速度较快,腋芽萌发率也较高,较适合欧洲榛启动培养。刘剑锋等<sup>[4]</sup>把外植体接种在 NRM、MS、DKW、NN、WPM 培养基上,将相同的品种对比发现,外植体在 NRM 培养基上生长健壮,叶色浓绿,茎长和平均芽数均高于其它 4 种培养基。程云清等<sup>[11]</sup>研究报道平榛(*Corylus heterophylla*)带芽茎段在 MS 与 DKW 培养基中均可萌发,但萌发率均较低,在 30% 以下,其中,平榛在 DKW 培养基上的萌发率要明显高于在

MS 培养基上的。陈伟等<sup>[17]</sup>研究表明 B<sub>5</sub> 与 MS、3/4MS、WPM 培养基相比更适合作为顶芽和腋芽组织培养中的启动培养基。韩美丽等<sup>[18]</sup>采用 MS、改良 MS1、改良 MS2、White、WPM、B<sub>5</sub> 5 种培养基为基本成分进行基本培养基筛选,结果表明改良 MS1 培养基有利于西南桦的组织培养。Roxana 等<sup>[19]</sup>研究报道 MS 比 AH、WPM 培养基更适于 *Alnus acuminata* 的培养,然而 WPM 培养基对于其它桤木则较为适用,如 *A. qlntinosa*,加拿大桤木(*A. cordata*)、红桤木(*A. rubra*)等。

### 4 激素种类及配比对桦木科植物诱导和增殖的影响

在桦木科植物的组织培养研究中,主要应用的生长素有 NAA、2,4-D、IBA,细胞分裂素主要有 BA、KT、TDZ、ZT。如诱导白桦愈伤组织时发现,NAA 和 BA 适合白桦愈伤组织的诱导,且愈伤组织生长旺盛不易老化,KT 和 2,4-D、BA 和 TDZ 虽能诱导出愈伤组织,但此类型的愈伤组织不利于长期的继代培养<sup>[20]</sup>。李国福等<sup>[21]</sup>研究报道 1.0 mg/L 的 BA 诱导的垂枝桦(*Betula pendula*)丛生芽数最多,芽的生长状况良好,同时添加低浓度的 NAA 对试管苗起到一定程度的壮苗作用。孙晓敏等<sup>[14]</sup>发现 BA 和 TDZ 激素配合比 BA、TDZ 和 NAA 配合要好,NAA 使得外植体基部形成体积较大的愈伤组织,丛生芽数较少。刘宝光等<sup>[22]</sup>将东北桤木(*Alnus mandshurica*)的叶片接种在 WPM+BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 上,最适东北桤木叶片愈伤组织的诱导,10 d 后叶的边缘开始有白色的愈伤组织出现,后来愈伤组织逐渐转变成淡绿色,愈伤组织诱导率在 80% 以上。随着 BA 浓度的升高,欧洲垂枝桦腋芽的增殖率也升高,但同时芽体的褐化率也明显地升高,当添加 BA 的浓度为 1.0 mg/L 时,腋芽生长良好,且褐化率也较低<sup>[23]</sup>。陈荣等<sup>[24]</sup>研究表明当 TDZ 浓度大于 0.05 mg/L 时,愈伤组织呈水浸透明状,在相同浓度 BA 的前提下,随着 NAA 浓度的增加,愈伤组织鲜重有逐渐增加的趋势。西南桦对生长素反应敏感,BA 与 2,4-D 配合易使外植体产生大量愈伤组织,导致侧芽无法抽高生长,很快死亡;而在 BA 分别与 NAA、IBA 组合的培养基上,尽管外植体基部也产生愈伤组织,出现轻微褐化现象,但侧芽能萌发并抽高生长,因此,NAA、IBA 可作为西南桦组培快繁的适用生长素<sup>[25]</sup>。

不定芽的增殖系数是植物实现组织大规模生产的关键性环节,对于木本植物来说,更是如此。增殖系数控制在 3~4 倍时东北桤木试管苗生长健壮,利于以后的生根培养<sup>[22]</sup>。薛丽宁等<sup>[15]</sup>研究报道 BA 0.5 mg/L 与 NAA 0.03 mg/L 利于虎榛子(*Ostryopsis davidiana*)试管苗的增殖,茎粗壮,叶大而绿。蔡丹等<sup>[10]</sup>研究认为辽东桤木试管苗的增殖倍数随 BA 浓度的升高而升高,但高浓度的 BA 促使外植体产生大量的愈伤组织,丛生芽生长不良,侧芽的生长也受到抑制,WPM+BA(0.6、

1.0 mg/L)+NAA 0.1 mg/L 有利于辽东桤木不定芽的增殖培养。刘家宁等<sup>[3]</sup>研究报道细胞分裂素 TDZ 在促进组培苗增殖方面极显著高于 BA 和 ZT,含 TDZ 的培养基芽苗基部普遍分化出愈伤,愈伤组织上分化新芽,茎节短而健壮,叶色翠绿。但是,随着继代次数的增加,使得 TDZ 在植物体内积累,抑制芽的生长和分化。刘家宁等<sup>[3]</sup>与刘剑锋等<sup>[4]</sup>研究结果不同的是,TDZ 使得诱导的“薄壳红”不定芽呈簇状,腋芽不伸长,导致有效芽数目减少,TDZ 的增殖效果要好于 BA。当 TDZ 浓度由 0.5 mg/L 提高到 1.0 mg/L 时,平榛 (*Corylus heterophylla*) 芽分化率从 71.4% 上升至 85.9%,平均株高也有明显增加。当 TDZ 浓度提高到 2.0 mg/L 时,分化率下降至 47.6%,且产生大量愈伤组织,个别芽畸形,密集成球状,这说明高浓度 TDZ 对外植体的分化和生长极具抑制作用。与 NAA 相比,IBA 更适合平榛的不定芽增殖培养。TDZ 对平榛继代增殖的作用较大,TDZ 不仅能促进腋芽增殖,而且能促进外植体愈伤组织芽分化,这一结果与刘家宁等<sup>[26]</sup>的报道类似。韩美丽等<sup>[18]</sup>对西南桦离体培养认为 KT 和 BA 具有协同作用,能很大程度上提高丛生芽的增殖率。用 KT、ZT、BA、2-IP 4 种细胞分裂素来研究对欧洲榛子不定芽增殖的影响,结果表明 BA 较适于榛子不定芽的增殖,能显著提高不定芽的增殖率,但芽体生长却较短<sup>[27]</sup>。

## 5 生根培养

当前许多植物的组织培养研究停留在不定芽的诱导增殖阶段,而生根诱导则成为植物组培的瓶颈问题。木本植物与草本植物相比,生根更加困难。因此,生根培养在木本植物组织培养的过程中显得越发重要。

### 5.1 无机盐浓度及激素种类对生根培养的影响

阿西木等<sup>[28]</sup>对盐桦无菌苗生根研究报道,生长素的种类对盐桦的影响不显著,较低浓度的生长素可促进盐桦生根。无机盐的浓度对盐桦不定根的诱导也有一定的影响<sup>[28]</sup>,这与陶静等<sup>[29]</sup>对白桦组培时得到的结论相同,生长素对试管苗生根有显著影响,生长素的种类则影响并不显著,IBA 和 NAA 能显著提高白桦试管苗的生根率。李国福等<sup>[21]</sup>研究表明,添加生长素 NAA 或 IBA 在不同程度上均能促进试管苗生根,但不同质量浓度 IBA 对垂枝桦的生根影响较大,浓度不易掌握,0.50 mg/L 的 NAA 最适合垂枝桦的不定根的诱导。孙晓敏等<sup>[14]</sup>在光皮桦试管苗的生根研究中发现,未添加任何激素的 1/2MS 培养基能诱导光皮桦试管苗生根,但根的生长状态较差,且生根率也较低,添加 IBA 时能显著提高试管苗的生根率,IBA 浓度为 1.0 mg/L 时,外植体基部无愈伤组织形成,平均根数较多,生根诱导率达 100%。薛丽宁等<sup>[15]</sup>在对虎榛子试管苗诱导生根培养中,发现 NAA 浓度为 0.2 mg/L 时,试管苗的生根率为 100%,且根的生长状况良好,随着 NAA 浓度的提高,生根率则会降低,根的生长状况也较差,这说明较高的生

长素浓度会抑制试管苗的生根,对根的生长状况也有很大的影响。蔡丹等<sup>[10]</sup>研究报道 IBA 浓度为 1.0 mg/L 时,辽东桤木试管苗生根率较高,随着 IBA 浓度的升高,试管苗的生根率反而会降低,加入 500 mg/L 的活性炭 (AC) 有利于缩短生根启动时间。NAA 与 IBA 配合使用比 2 种激素单用更有利于欧洲垂直桦不定根的形成和生长<sup>[23]</sup>。尹成涛等<sup>[16]</sup>研究报道欧洲榛子随着 NAA 浓度的升高,试管苗的生根率也升高,但当 NAA 的浓度达 0.10 mg/L 及以上时,试管苗的生根率会降低,外植体基部会形成愈伤组织,生根类型为愈伤生根,因此,无效根增多,移栽时试管苗容易死亡。刘剑锋等<sup>[4]</sup>研究报道平欧杂交榛适合试管外生根,各品种每苗平均根数、平均根长、平均苗高、移栽成活率等显著高于试管内生根组培苗。IAA 和 IBA 配合使用使得杂种榛芽苗生根率较高,且为韧皮部生根,生根质量好、根量多,移栽易成活。生长素能促进平榛试管苗生根,但生长素种类及其浓度的差异明显,生根效果 IBA 好于 NAA,二者均以 0.25 mg/L 时的生根率最高,浓度过高易产生畸形根<sup>[11]</sup>。陈伟等<sup>[17]</sup>报道西南桦的 7 个无性系的试管苗的生根率存在显著差异,0.5~1.0 mg/L IBA 最适西南桦生根,而加 0.5~1.0 mg/L NAA 时,生根率只有 55% 左右,高度生长不显著。根的形成表现为先愈伤再长根,由于根从愈伤上分化,因而影响移栽成活率<sup>[18]</sup>。另有研究表明,西南桦增殖苗极易生根,无生长素的对照培养基生根率达 78.5%;西南桦对生长素极其敏感,加入少量生长素,出根整齐,生根高,而且生根条数增多<sup>[25]</sup>。把试管苗接在含有 0.1 mg/L IBA 的 WPM 培养基上培养 24 h,再转入到不含任何激素的 WPM 培养基上,12 d 后试管苗的生根率达 100%,而前期未加任何激素诱导的培养基生根率为 0,并且生根过程与过氧化氢酶活性有关,接种 6 h 后过氧化氢酶的活性达到最大而 9 h 后则最小,可能是 9 h 后根诱导期已经完成,再转入空白的培养基上生根率达 100%。而未添加任何激素的对照空白培养基的过氧化氢酶的活性比较低,则生根率也较低<sup>[30]</sup>。

### 5.2 碳源浓度及种类对生根培养的影响

蔗糖在组织培养中不仅为培养外植体提供营养成分,还影响渗透压,对试管苗的生根有很大的影响作用。随着蔗糖浓度的升高,白桦试管苗根数、根粗均增加,但对试管苗的生根率影响较小<sup>[29]</sup>。而詹亚光等<sup>[31]</sup>与陶静等<sup>[29]</sup>的研究结果一致,认为蔗糖浓度对白桦生根率几乎没有影响,从试管苗的成本考虑,建议在生根阶段不加蔗糖。蔗糖与葡萄糖相比较,更利于 *A. acuminata* 的生根培养,应作为碳源<sup>[19]</sup>。Francine 等<sup>[32]</sup>研究表明只有 *A. glutinosa* 适合用蔗糖进行培养,而其它的 6 种桤木均适用将果糖作为碳源进行培养。

### 5.3 光照及其它因素对生根培养的影响

离体培养中光照环境越来越受到研究者的重视。绝大多数植物组织培养都需要光照,增加光照强度能提高许



多种类植物的生根率,但对一些植物也具有抑制作用。另外,光质对试管苗的生根也有很大的影响。Arne 等<sup>[33]</sup> 研究报道光照强度为  $45 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  比光照强度为  $30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  更能促进垂枝桦(*Betula pendula*)生根。在蓝光的照射下,垂枝桦试管苗 6 d 即可生根,而在红光的照射下则需 12 d,并且蓝光的生根率也显著高于红光。

培养基中(1/4MS)加入  $\text{Al}^{3+}$  能显著抑制试管苗不定根的形成,并且抑制程度与加入  $\text{Al}^{3+}$  的浓度呈正相关。作者认为大量的  $\text{Al}^{3+}$  能阻止外植体对其它矿质元素(磷、钙、镁)等的吸收,并且在代谢过程中阻止其运输和利用<sup>[34]</sup>。

## 6 问题与展望

从目前桦木科植物的研究进展看,许多植物的组织培养技术中的增殖和生根培养以及愈伤组织诱导不定芽的分化是该科植物组织培养的瓶颈性问题,给大规模育苗带来技术性障碍。结合研究现状及发展趋势,认为今后应加强如下几方面的研究工作:一是对外植体的选材进行研究,筛选出便于繁殖的外植体种类和基因型;二是控制外植体的污染率;三是提高外植体的增殖率;四是加强对试管苗生根培养及生根机理的研究,特别是生根的生理学和发育学方面的研究;五是桦木科植物的许多次生代谢产物具有非常高的利用价值,应通过组织培养技术加强对该科植物次生代谢产物的研究。

### 参考文献

- [1] 李沛琼,郑斯绪. 桦木科. 中国植物志(第二十一卷)[M]. 北京:科学出版社,1979:45-46.
- [2] 梅新娣,张富春,王波. 濒危植物盐桦离体组织培养特性的研究[J]. 生物技术,2006,16(3):79-81.
- [3] 刘家宁,高遐虹,秦岭. 平欧杂交榛的组织培养[J]. 果树学报,2006,23(3):471-474.
- [4] 刘剑峰,程云清,陈智文. 平欧杂交榛组织培养与快速繁殖技术研究[J]. 园艺学报,2009,36(3):409-414.
- [5] 丁云峰,马艳丽. 培养基及 6-BA 与蔗糖浓度对白桦茎叶去分化率的影响[J]. 长春大学学报,2005,15(4):69-70.
- [6] 邵红,李秀霞,肖志坚,等. 杂交榛愈伤组织诱导和原生质体分离[J]. 东北林业大学学报,2010,38(10):23-26.
- [7] Diaz-Sala C, Rey M, Rodriguez R. In vitro establishment of a cycloclonal chain from nodal segments and apical buds hazel(*Corylus avellana* L.)[J]. Plant Cell Tissue Organ Culture, 1990(23):151-157.
- [8] Yu X L. A Micropropagation system for hazelnuts(*Corylus species*)[J]. Horticulture Science, 1995,30(1):120-123.
- [9] 张群. 濒危植物沼泽小叶桦组织培养技术及其在上海地区的中试[J]. 上海交通大学(农业科学版),2012,30(1):50-54.
- [10] 蔡丹,刘军,陈红,等. 辽东栎木组织培养和快繁技术研究[J]. 安徽农业科学,2006,34(7):1309-1310,1323.
- [11] 程云清,刘剑峰,陈智文. 平榛组织培养与快速繁殖[J]. 林业科学,2008,44(12):57-61.
- [12] 卢跃敏,郭刚,付习科. 三种抗生素对盐桦组织培养初代外植体内生菌的抑制作用[J]. 农村科技,2009(9):52-53.
- [13] Nas M N. Inclusion of polyamines in the medium improves shoot elongation in hazelnut(*Corylus avellana* L.) micropropagation[J]. Turk J Agric For, 2004(28):189-194.
- [14] 孙晓敏,陈争,李美飞,等. 光皮桦组织培养离体再生研究[J]. 西北植物学报,2012,32(3):604-610.
- [15] 薛丽宁,赵慧英,姚庆智,等. 虎榛子组织培养及菌根化技术研究[J]. 中国农学通报,2012,28(19):17-21.
- [16] 尹成涛,孙满芒,韩爱平. 欧洲榛子的组培快繁技术研究[J]. 山东林业科技,2002(5):14-15.
- [17] 陈伟,施季森,陈金慧. 西南桦不同种源外植体组织培养技术[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2006,31(1):27-30.
- [18] 韩美丽,李雪生,陆荣生. 西南桦离体培养再生系统研究[J]. 广西农业科学,2002(3):122-123.
- [19] Roxana J E, Silvia S R, Luis A M, et al. In vitro plant regeneration of *Alnus acumunata* H. B. K. ssp. Acuminate and its root nodulation by Frankia[J]. Plant Cell Tissue Organ Culture, 2005(80):343-346.
- [20] 王博,范桂枝,詹亚光. 不同培养基类型和植物生长调节剂对白桦愈伤组织中三萜积累的影响[J]. 林业科学,2008,44(10):153-158.
- [21] 李国福,陈士刚,秦彩云,等. 垂枝桦组织培养技术研究[J]. 吉林林业科技,2010,39(3):1-3.
- [22] 刘宝光,史宝录. 东北桤木组培快繁技术[J]. 林业实用技术,2010(11):24-25.
- [23] 张丽杰,周强,刘延军,等. 欧洲垂枝桦的组织培养和植株再生[J]. 西北林学院学报,2011,26(1):65-67.
- [24] 陈荣,冯立新,刘颖,等. 西南桦愈伤组织培养试验[J]. 北方园艺,2011(16):158-160.
- [25] 刘英,曾炳山,裘珍飞,等. 西南桦以芽繁芽组培快繁研究[J]. 林业科学研究,2003,16(6):715-719.
- [26] 宗长玲,朴日子,曹后男,等. 平榛离体培养技术的研究[J]. 辽宁林业科技,2009(5):18-21.
- [27] Thomson G E, Deering T D. Effect of cytokinin type and concentration on in vitro shoot proliferation of hazelnut(*Corylus avellana* L.)[J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2011,39(3):209-213.
- [28] 阿衣先木·阿西木,吐尔逊·吐尔洪,王文全. 濒危植物盐桦丛生芽生根、移栽及耐盐性研究[J]. 新疆农业大学学报,2008,31(6):42-45.
- [29] 陶静,秦彩云,姚录贤,等. 不同因子对白桦组培苗生根影响的研究[J]. 吉林林业科技,1999(2):1-2,8.
- [30] Mc Donald M S, Wynne J. Adventitious root formation in woody tissue: Peroxidase-a predictive maker of root induction in *Betula pendula* [J]. In Vitro Cell Dev Biol-Plant, 2003(39):234-235.
- [31] 詹亚光,陶静,杨传平,等. 白桦组培再生系统的研究(II)[J]. 东北林业大学学报,1998,26(6):1-5.
- [32] Francine M T, Maurice L. Requirements for in vitro propagation of seven nitrogen-fixing species[J]. Plant Cell Tissue Organ Culture, 1984(3):189-199.
- [33] Arne S, Gry S, Maigull A. Light quality of the in vitro stage affects the subsequent rooting and field performance of *Betula pendula* (Roth)[J]. Scand J For Res, 1995(10):155-160.
- [34] Krystyna B. Effect of aluminium on in vitro rooting of birch (*Betula pendula* (Roth) Roth.) and Poplar(*Populus tremula* L.  $\times$  *Populus alba* L.) microcuttings[J]. Actasocietatis Botanicorum Poloniae, 2000(4):251-255.

## Research Progress of Tissue Culture of Betulaceae

JIN Jian-bang<sup>1</sup>, ZHU Zun-ling<sup>1,2</sup>

(1. College of Landscape Architecture, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037; 2. College of Arts and Design, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037)

# 木霉菌的生物防治分子机理

古丽吉米拉·米吉提, 王志英, 王娜, 窦恺, 黄颖, 刘志华

(东北林业大学 林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘 要:**木霉菌是重要的植物病害生物防治菌, 该文在简要介绍木霉菌及其生防机制的基础上, 综述了木霉与病原菌的互作关系, 通过对营养和空间的竞争来抑制病原真菌的生长和繁殖, 木霉菌对病原真菌的重寄生机制、木霉菌产生抗生素抑制或杀死病原真菌的抗生机制、以及木霉菌促进植物生长诱导植物系统抗病性机制等几方面阐述了木霉的生物防治机制, 以期为全面了解木霉对植物真菌病害生物防治机制提供理论指导。

**关键词:**木霉; 植物病害; 生物防治

**中图分类号:**S 763.15 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)23-0206-07

木霉(*Trichoderma* spp.)属于半知菌类的丝孢纲丛梗孢目丛梗孢科植物真菌病害的生防菌, 对多种真菌病害具有较好的防治效果。目前, 世界上已有商品化木霉生防菌剂(Biological Fungicide)投放市场, 如加拿大的‘RootShield’杀菌剂(*T. harzianum* KRL-AG2); 美国的‘F-Stop’杀菌剂(*T. harzianum* T-22G); 印度的‘SARDAR ECO GREEN’(*T. harzianum*)以及中国的“木霉菌”(农药登记号 LS20083122)等均为通过相关机构注册的商品化真菌生物农药。木霉菌作为生物防治因子的优势首先在于对多种植物病原菌具有广谱的抗菌、抑菌特性, 可防治可可黑荚病<sup>[1-2]</sup>(Black-pod disease), 葡萄孢疫病<sup>[3]</sup>(*Botrytis* blight)及西红柿和黄瓜枯萎病<sup>[4-5]</sup>(*Fusarium* wilt)等多种真菌病害; 其次木霉菌不仅可以防治农作物和林木植物生长期的病害, 而且可防治采摘后的蔬菜、水果及园艺花卉等材料储存期的病害<sup>[6]</sup>, 同时还能刺激种子萌发、根的伸长、植物生长和促

进开花结实<sup>[7]</sup>。木霉菌是具有杀灭病原微生物、促进植物生长<sup>[4]</sup>和土壤改良等多种功能的有益微生物。

木霉菌的生防机制是当前植物病害生物防治领域研究的热点。为了探索木霉菌的生物防治机制, 美国能源部基因组研究所已经对 4 种生物防治效果优良的木霉菌, 如“绿色木霉 Gv29-8”(*Trichoderma virens* Gv29-8), “深绿木霉 ATCC74058”(*T. atroviride* ATCC74058), “哈茨木霉 CBS226.95”(*T. harzianum* CBS226.95), “棘孢木霉 CBS433.97”(*T. asperellum* CBS433.97)进行了基因组测序(<http://genome.jgi-psf.org/>)。同时对多个木霉菌株也进行了表达序列标签(EST)研究<sup>[8-9]</sup>及转录组研究<sup>[10]</sup>, 获得一批具有生物防治功能的基因, 为创制生物防治酶制剂类农药提供了优良的基因资源。木霉生物防治机理主要是竞争、重寄生、抗生、诱导植物系统抗病性<sup>[11-12]</sup>等。诱导植物系统抗病性是对植物免疫能力的全面提升, 比竞争、重寄生和抗生等单一的生物防治机制更重要。

木霉菌生物防治机制包括定植在植物根际通过营养和空间的竞争来抑制病原真菌的生长和繁殖<sup>[1,13]</sup>, 木霉菌对病原真菌的重寄生<sup>[14]</sup>, 木霉菌产生抗生素抑制或杀死病原真菌<sup>[15-16]</sup>和促进植物生长诱导植物系统抗病性<sup>[11]</sup>等机制。

## 1 木霉菌与病原菌的互作关系

木霉菌一般以重寄生或腐生-重寄生形式与其它真

**第一作者简介:**古丽吉米拉·米吉提(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向为森林有害生物综合治理。E-mail:339809980@qq.com.

**责任作者:**刘志华(1976-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为森林病害生物防治。E-mail:LZHNEFU@126.com.

**基金项目:**黑龙江省博士后科研启动基金资助项目(LBH-Q10156); 黑龙江省青年科学基金资助项目(QC2011C003); 国家自然科学基金面上资助项目(31170601)。

**收稿日期:**2013-06-19

**Abstract:** The present situation of tissue culture of Betulaceae was discussed. The explants types, sterilization methods and pollution control, the basic types of medium and hormone types and ratio in tissue culture of Betulaceae had been reported were analyzed. Moreover, the existing questions in tissue culture of Betulaceae were pointed out, in order to provide reference for the establishment of efficient tissue culture system of Betulaceae.

**Key words:** Betulaceae; tissue culture; basic media; plant hormone