

# 取材时间和激素对“豫楸 1 号”腋芽诱导的影响

马 玲 玲, 王 鹏, 王 淑 安, 张 振 宇, 杨 如 同, 李 亚

(中国科学院 植物研究所, 江苏 南京 210014)

**摘 要:**以“豫楸 1 号”为试材,研究了灭菌方法、基本培养基类型、激素浓度和取材时间对“豫楸 1 号”茎段腋芽诱导的影响。结果表明:不同基本培养基对“豫楸 1 号”腋芽诱导的影响差异显著,MS 为基本培养基诱导腋芽的诱导率最高;多菌灵浊液浸泡 60 min、酒精灭菌 30 s、升汞浸泡 9 min 的灭菌方法最适合“豫楸 1 号”诱导腋芽萌发;“豫楸 1 号”最适的腋芽诱导培养基为 MS+0.8 mg/L 6-BA+0.10 mg/L IBA;建立“豫楸 1 号”组培快繁体系最佳取材时间是 4 月,染菌率、褐化率低,腋芽诱导率高,腋芽萌发、生长快。

**关键词:**“豫楸 1 号”;腋芽诱导;激素;褐化

**中图分类号:**S 687 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0084-04

楸树(*Catalpa bungei*)属紫葳科(Bignoniaceae)梓属(*Catalpa*)高大乔木,原产中国,已有 2000 多年的栽培历史<sup>[1]</sup>。楸树树体高大挺拔,树冠浓密,枝、叶和花都具有很高的观赏价值,其木材质地坚韧致密,不易虫蛀、耐磨、耐腐、隔潮,在中国丰富的树木资源中,惟其“材”貌双全,自古素有“木王”之美称<sup>[2]</sup>。“豫楸 1 号”是河南省林

科院历经 20 余年选育出的楸树良种,2002 年通过河南省林木良种认定委员会认定<sup>[3]</sup>。“豫楸 1 号”树皮光滑不开裂、树干通直圆满,花期较长,它除了具有传统楸树的特点以外,还具有较强的速生性,5 年生树高可达 10.1 m,胸径 12.0 cm,单株材积 0.0533 m<sup>3</sup>,极大的缩短了楸树的轮伐期(由以前的 50 a 缩短到 25 a 左右),是目前楸树中珍稀良种<sup>[4]</sup>。

基本培养基类型、灭菌处理和激素浓度及种类对楸树的腋芽诱导影响较大。傅玉兰等<sup>[5]</sup>对比研究了 9 种不同灭菌方法对楸树嫩茎的影响,发现灭菌措施为自来水冲洗 30 min,75%酒精浸泡 6 s,无菌水冲洗 2 次,100 mg/L 青霉素+100 mg/L 链霉素混合液浸 20 min,0.1%升汞液浸泡 10 min,无菌水冲洗 8 次,100 mg/L PVP 浸泡 5 min 效果最好,染菌率为 35%,褐化率为

**第一作者简介:**马玲玲(1990-),女,河南鹤壁人,硕士研究生,研究方向为园林植物。E-mail:mlbeautiful@126.com

**责任作者:**李亚(1969-),男,安徽颍上人,博士,研究员,现主要从事观赏植物等研究工作。E-mail:yalicnbg@aliyun.com

**基金项目:**江苏省公益院所特色业务资助项目(BM2012058);国家自然科学基金青年基金资助项目(31200509);江苏省“六大人才高峰”资助项目;江苏省“333”人才资助项目。

**收稿日期:**2014-01-21

## Preliminary Investigation of Wild Flower Resources in Dam Mountains of Hebei Province

YAN Lu-na<sup>1</sup>, ZUO Hui-kai<sup>1</sup>, GUO Hui-juan<sup>2</sup>

(1. School of Biology and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018; 2. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding, Hebei 070012)

**Abstract:** Through field sampling during 2012 to 2013, a preliminary investigation had been carried on the wild flower resources in Dam Mountains of Hebei province. The results showed that all of them were 293 species and belonged to 39 families and 127 genera, which Rosaceae, Compositae, Leguminosae, and Ranunculaceae were the dominant families on accounting for 46.8% of the total species. As for the color, the main were white, yellow and purple, red was less and green was rare. The flowering period of most of them from June to August, 66.6% species blossom focus on July. As for the life form, there were perennial erect herbaceous plants mostly and woody flower resources less. At the same time, the prospects of exploitation and utilization of some typical wild flower resources were introduced and discussed.

**Key words:** Hebei province; Dam mountains; wild flower resources; investigation

5%;费鹏飞等<sup>[6]</sup>以楸树茎段为材料研究了9种不同灭菌方法对离体组织培养的影响,发现采用1.25 g/L多菌灵浸泡30 min+酒精棉球擦拭外植体+400 mg/L青霉素+200 mg/L链霉素混合液浸泡20 min+0.1%升汞8 min的方法,灭菌效果最好,染菌率为30%;王军辉等<sup>[7]</sup>以楸树无菌苗茎段为材料,以DKW为基本培养基,添加0.1 mg/L IAA和0.8 mg/L 6-BA,楸树腋芽诱导率为100%;周蓉等<sup>[8]</sup>对比了N6基本培养基和MS基本培养基对楸树腋芽诱导的差异,表明以N6为基本培养基的效果更好;韩创举等<sup>[9]</sup>研究发现楸树腋芽在MS基本培养基上诱导腋芽较适宜。

田间取材时间对能否成功建立植物组织离体培养体系具有重要影响。涂俊凡等<sup>[10]</sup>在建立兔眼蓝莓快繁体系的研究中,分别在4月下旬、5月上旬和下旬、6月上旬和下旬5个不同的时期取材研究其染菌率、褐化率、萌芽率,认为在4月下旬到6月上旬蓝莓春梢生长期枝条刚开始木质化时取样,诱导效果最好;唐罗忠等<sup>[11]</sup>在对麻栎的组织培养研究中发现,麻栎幼嫩茎段外植体和大树嫩枝外植体的最佳取材时间为4月,接种后的外植体污染率和死亡率低于其它月份,而芽的萌发率高于其它月份;李海燕等<sup>[12]</sup>选取5个不同时期分别对黑莓品种‘Triple Crown’取材进行腋芽诱导,发现9月取材诱导效果最好,染菌率和褐化率较低,而腋芽诱导率最高。目前,关于楸树最佳取材时间选择的研究尚鲜见报道。

现以“豫楸1号”为试材,研究不同取材时间基本培养基类型和激素浓度不同灭菌方法对“豫楸1号”腋芽诱导的影响,以期建立高效的“豫楸1号”组织离体培养体系筛选出最佳的取材时期和激素浓度。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试楸树“豫楸1号”1年生嫩枝采自江苏省中国科学院植物研究所梓属种质资源圃中,去除叶片,留叶柄,切成长1.5 cm带有3个芽的茎段作为外植体。

### 1.2 试验方法

1.2.1 外植体最佳灭菌方法的筛选 于2013年4月上旬取材,用牙刷轻轻刷去外植体表面的灰尘,然后分别按表1进行灭菌处理,最后接入MS+6-BA 0.8 mg/L+IBA 0.1 mg/L培养基中,每处理接20瓶,每瓶接1个茎段,重复3次。培养条件为温度(25±2)℃、光照时间12 h/d、光照强度1 500~2 000 lx。

1.2.2 不同基本培养基和激素组合对腋芽诱导的影响 将消毒后的外植体接入表2所示的培养基上,每处理接种20瓶,每瓶接1个茎段,重复3次。培养条件为温度(25±2)℃、光照12 h/d、光照强度1 500~2 000 lx。

表1 4种不同的灭菌处理

Table 1	Four different sterilizations treatments
灭菌处理 Sterilization treatments	操作 Operation
I	清水冲洗30 min+75%的酒精浸泡30 s+升汞浸泡6 min
II	500倍多菌灵浊液浸泡60 min+清水冲洗30 min+75%的酒精浸泡30 s+升汞浸泡6 min
III	500倍多菌灵浊液浸泡60 min+清水冲洗30 min+75%的酒精浸泡30 s+升汞浸泡9 min
IV	500倍多菌灵浊液浸泡60 min+清水冲洗30 min+75%的酒精浸泡30 s+升汞浸泡12 min

表2 8种不同的培养基类型

Table 2	Eight different mediums
处理 Treatment	培养基 Medium
1	WPM+0.8 mg/L 6-BA+0.10 mg/L IBA
2	N6+0.8 mg/L 6-BA+0.10 mg/L IBA
3	MS+0.8 mg/L 6-BA+0.10 mg/L IBA
4	MS+1.0 mg/L 6-BA+0.10 mg/L IBA
5	MS+0.2 mg/L 6-BA+0.10 mg/L IBA
6	MS+0.8 mg/L 6-BA+0.05 mg/L IBA
7	MS+0.8 mg/L 6-BA+0.20 mg/L IBA
8	MS+0.8 mg/L 6-BA+0.30 mg/L IBA

### 1.2.3 不同取材时期对“豫楸1号”腋芽诱导的影响

2013年的4月15日至9月15日期间每隔30 d取外植体。外植体消毒后接入MS+6-BA 0.8 mg/L+IBA 0.1 mg/L培养基中(表2),每处理接种20瓶,每瓶接1个茎段,重复3次。培养条件为温度(25±2)℃、光照时间12 h/d、光照强度1 500~2 000 lx。

### 1.3 项目测定

接入培养基7 d后统计腋芽诱导率,25 d后统计其染菌率及褐化率,并从各个处理中任选5个楸树茎段测量其诱导腋芽的长度。污染率=(污染外植体数/接种外植体数)×100%。褐化率=(褐化不污染外植体数/接种外植体数)×100%。芽诱导率=(萌芽不污染外植体数/接种外植体数)×100%。

### 1.4 数据分析

试验数据采用Excel 2003和SPSS 17.0进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体最佳灭菌措施的筛选

由表3可知,处理II的染菌率和芽长度极显著低于处理I,但是处理II的褐化率极显著高于处理I,表明用多菌灵浊液浸泡外植体可以显著降低污染率但是同时导致了褐化率的升高及芽长度的减少。随着升汞浸泡外植体时间的增加,处理III的染菌率比处理II降低了4.5个百分点,处理IV的染菌率为0%。但同时也加重了对外植体本身的伤害,处理IV的褐化率是处理II的3.2倍,腋芽诱导率下降了14.5个百分点。综合染菌率、褐化率、芽诱导率和芽长度的试验结果发现处理III是最适宜“豫

表 3 不同灭菌处理对腋芽诱导的影响

Table 3 Effect of different sterilization treatments on axillary bud induction

灭菌处理 Sterilization	染菌率 Polluted rate/%	褐化率 Browning rate/%	芽诱导率 Axillary bud induction rate/%	芽长度 Bud length /cm
I	10.9D	9.4A	100.0C	2.5B
II	8.0C	11.5B	100.0C	2.4A
III	3.5B	13.4C	95.5B	2.4A
IV	0A	36.4D	85.5A	2.4A

注:不同字母表示差异极显著( $P<0.01$ ),下同。Note: Different letters indicate significant difference ( $P<0.01$ ), the same below.

楸 1 号”外植体的灭菌方法。

## 2.2 不同基本培养基和激素浓度对“豫楸 1 号”腋芽诱导的影响

由表 4 可知, WPM、MS 和 N6 等 3 种不同基本培养基对楸树腋芽诱导率和芽长度的影响存在极显著差异。MS 基本培养基的腋芽诱导率最高, 诱导率为 96.3%, 25 d 内诱导的腋芽长度为 2.5 cm, 与 N6 基本培养基诱导的腋芽等长, 高于 WPM 基本培养基诱导的腋芽长度。表明基本营养物质的不同, 对诱导“豫楸 1 号”腋芽影响有显著差异。因此, “豫楸 1 号”腋芽诱导的后续试验均采用 MS 基本培养基。

从表 4 可以看出, 当 IBA 浓度为 0.10 mg/L 时, 6-BA 浓度分别为 0.2 mg/L、0.8 mg/L 和 1.0 mg/L 时的外植体腋芽诱导率分别为 19.2%、96.3%、90.1%, 腋芽长度分别为 0.2、2.5、1.7 cm。上述结果表明过高或过低浓度的 6-BA 都不利于“豫楸 1 号”的腋芽诱导和腋芽生长。当 6-BA 浓度为 0.8 mg/L 时, IBA 浓度分别为 0.05、0.10、0.20、0.30 mg/L 时的外植体腋芽诱导率分别为 67.8%、96.3%、76.3%、32.6%, 腋芽长度分别为 1.4、2.5、1.1、0.6 cm。上述结果表明过高或过低浓度的 IBA 都不利于“豫楸 1 号”的腋芽诱导和腋芽生长。综合以上试验结果, “豫楸 1 号”最适的腋芽诱导培养基应为 MS+0.8 mg/L 6-BA+0.10 mg/L IBA。

表 4 不同基本培养基和激素浓度对腋芽诱导的影响

Table 4 Effect of different basic mediums and hormone concentrations on axillary bud induction

处理 Treatment	芽诱导率 Axillary bud induction rate/%	芽长度 Bud length/cm
1	95.9G	2.4F
2	95.0F	2.5G
3	96.3H	2.5G
4	90.1E	1.7E
5	19.2A	0.2A
6	67.8C	1.4D
7	76.3D	1.1C
8	32.6B	0.6B

## 2.3 不同取材时间对“豫楸 1 号”腋芽诱导的影响

从表 5 可以看出, 6 个不同外植体取材时间对其染

菌率、褐化率、芽诱导率以及芽长度的影响存在极显著差异且随着楸树的生长, 外植体的染菌率及褐化率增加而腋芽诱导率和芽长却下降。4 月 15 日取外植体时, 其染菌率及褐化率是所有取材时间中最低的, 分别为 3.5%、12.5%, 6 月 15 日至 9 月 15 日期间取的外植体染菌率均高于 80%, 5 月 15 日至 9 月 15 日期间取的外植体褐化率都在 60% 以上。4 月 15 日取的外植体芽诱导率、芽长度是 6 个时期中最高的, 分别为 96.0% 和 2.5 cm。芽长度的差异随着取材时期的不同差异极显著, 且受取材时间的影响较大, 4 月 15 日取材, 外植体诱导腋芽的长度为 2.5 cm, 5 月 15 日至 9 月 15 日期间取的外植体诱导的腋芽长度均在 0.5 cm 以下。因此“豫楸 1 号”腋芽诱导最适的取材时间为 4 月 15 日至 5 月 15 日期间。

表 5 不同取材时间对楸树腋芽诱导影响的多重比较

Table 5 Multiple comparisons between different time on axillary bud induction

取材时间 Time/月. 日	染菌率 Polluted rate/%	褐化率 Browning rate/%	腋芽诱导率 Axillary bud induction rate/%	芽长度 Bud length /cm
4. 15	3.5A	12.5A	96.0E	2.5C
5. 15	18.5B	68.5B	90.5D	0.3B
6. 15	81.9D	100.0E	89.0C	0.2A
7. 15	80.5C	100.0E	46.8A	0.3B
8. 15	82.5E	89.0C	53.2B	0.2A
9. 15	89.0F	95.0D	47.0A	0.3B

## 3 结论与讨论

多菌灵对多种菌具有抑制降解的功能<sup>[13-15]</sup>, 并且在生产上也广泛应用<sup>[16]</sup>。适量浓度的多菌灵浊液浸泡外植体茎段, 可明显降低染菌率。该研究处理 II 比处理 I 的染菌率降低了 2.9 个百分点。多菌灵的使用以及升汞灭菌时间增加, 对茎段本身携带病原菌有明显的抑制降解作用, 但同时也加重了对外植体本身表面以及伤口处细胞的伤害, 外植体分隔效应被打破, 酚类化合物向外分泌, 酚类氧化酶释放或合成, 在合适的条件下形成醌类物质, 使外植体表面褐化, 同时褐色物质逐渐扩散到培养基中, 抑制其它酶的活性, 毒害整个外植体组织<sup>[17-18]</sup>, 致使腋芽诱导率及芽生长受到限制。

WPM、MS 和 N6 等 3 种基本培养基中硝态氮的浓度差异较大, 研究表明硝态氮浓度对外植体褐化率和腋芽生长影响显著。MS 基本培养基的硝态氮浓度高于 WPM 培养基, 但是低于 N6 培养基, 这可能是该研究中发现 MS 培养基是最适的基本培养基的原因之一。另外激素种类和浓度对组织培养的影响也非常显著。研究表明过高或过低的激素浓度都不利于植物的组织培养, “豫楸 1 号”最适的腋芽诱导培养基应为 MS+0.8 mg/L 6-BA+0.10 mg/L IBA。

该研究发现 4 月 15 日取材,外植体的染菌率低于 5%,而 5 月 15 日以后取材,外植体的染菌率高于 80%。这与唐罗忠<sup>[11]</sup>在麻栎上的研究结果类似。屈云慧等<sup>[19]</sup>研究认为影响植物组织培养外植体污染的主要污染源有真菌、植物病原细菌、病毒和类病毒以及螨或蓟马,污染后,常使培养基的 pH 降低,植物无法生长,或者产生有毒物质,使植物生长缓慢。Blake 等<sup>[20]</sup>认为牧草虫和螨的体表带有霉菌的孢子和细菌,在 9~10 月份是重要的污染源,会造成材料带菌,发生组培污染。Enjalric 等<sup>[21]</sup>在对三叶胶初级培养污染的研究中发现高温多雨的环境更有利于污染的发生,而且随着植物材料年龄的增长,植物材料的健康状况不断恶化,组培污染也会更加严重。该研究发现外植体 5 月 15 日以后取材,褐化率在 60%以上。植物体内酚类化合物含量和多酚氧化酶活性存在季节性变化,芽萌发初期,叶片及新梢中酚类物质较少,随着新梢的生长,酚类物质积累,多酚氧化酶活性增强,取样外植体易褐化<sup>[10]</sup>。腋芽诱导率随着楸树生长期的变化也不断变化,6 月 15 日前取材的外植体的腋芽诱导率都在 80%以上,6 月 15 日后取材的腋芽诱导率开始降低,外植体褐化严重影响了体内其它酶的活性从而导致腋芽诱导率低及腋芽生长减慢。王小敏等<sup>[22]</sup>发现,4 月份对黑莓树莓杂交品种‘Boysen’大田取材,芽诱导率最高,褐化程度最低。因此,合适的外植体取材时期是诱导楸树组培快繁成功与否的关键因素之一。该研究认为楸树初代腋芽诱导培养的取材的最佳时间为 4 月,在该时间进行培养的污染率、褐化率最低,且腋芽诱导率高,生长良好。

(该文作者还有李林芳,单位同第一作者)。

#### 参考文献

- [1] 张锦.“材”貌绝伦的楸树[J].森林与人类,2003(3):34.
- [2] 于永明,王军辉,马建伟,等.楸树无性系离体培养特性差异研究[J].西北植物学报,2012,32(1):199-204.
- [3] 王新建,张秋娟,祝亚军.楸树新品种及速生丰产技术研究的现状与

展望[J].河南林业科技,2004(1):30-31.

- [4] 王新建,严东波,侯俊霞,等.“豫楸 1 号”扦插技术模式研究[J].河南林业科技,2008,28(3):1-5.
- [5] 傅玉兰,费鹏飞,刘小云.楸树组培初代培养技术[J].林业科技开发,2009,23(4):88-91.
- [6] 费鹏飞,傅玉兰.楸树组培中材料灭菌的研究[J].安徽农学通报,2007,13(8):57-58.
- [7] 王军辉,吴丽华,林娟.生长素对楸树不定芽的诱导和增殖培养影响的研究[J].林业科技,2011,36(1):1-4.
- [8] 周蓉,谢焕松,刘鑫燕,等.楸树组培与快繁技术初探[J].安徽农业科学,2009,37(32):15715-15716,15794.
- [9] 韩创举,杨培华,樊军锋,等.楸树组培技术研究[J].西北林学院学报,2006,21(1):80-81.
- [10] 涂俊凡,秦仲麟,李先明,等.兔眼蓝莓组织培养与快繁技术研究[J].安徽农业科学,2012,40(28):13725-13728.
- [11] 唐罗忠,赵丹,诸葛强,等.麻栎组织培养外植体选择与灭菌方法[J].江苏林业科技,2010,37(5):22-25,46.
- [12] 李海燕,王小敏,李维林,等.黑莓品种‘Triple Crown’快繁技术体系建立和叶片植株再生[J].技术开发,2011,25(2):102-105.
- [13] 田连生.菌株 T21-2 对多菌灵的降解特性及降解途径[J].江苏农业科学,2013,41(2):338-340.
- [14] 蒲丹,张晓喻,刘刚,等.多菌灵降解菌 GRPD-1 的分离鉴定及降解特性研究[J].四川师范大学学报(自然科学版),2013,36(2):289-295.
- [15] 于海龙,古瑜,韩启厚.多菌灵对豇豆枯萎病病原菌抑菌效果及包衣后对种子生活力的影响[J].北方园艺,2013(12):113-115.
- [16] 田继锋.多菌灵(500 g/L 悬浮剂)防治苹果树轮纹病[J].中国果菜,2013(2):41-42.
- [17] 周俊辉,周家容,曾浩森.园艺植物组织培养中的褐化现象及抗褐化研究进展[J].园艺学报,2000,27(增刊):481-486.
- [18] 刘兰英.薄壳香核桃组培中的褐化及防止措施研究[J].园艺学报,2002,29(2):171-172.
- [19] 屈云慧,杨春梅,蒋亚莲.花卉组织培养中污染的发生与防治[J].北方园艺,2007(8):188-189.
- [20] Blake J. Mites and thrips as bacterial and fungi vectors between plant tissue cultures[J]. Acta Horticulturae,1988,225:163-166.
- [21] Enjalric F, Mann M, Heintz C. Experience and problems with inflection in tissue culture of grapevine[J]. Acta Horticulturae,1988,225:119-129.
- [22] 王小敏,李海燕,李维林,等.黑莓树莓杂交品种 Boysen 的组培快繁体系建立[J].安徽农业大学学报,2011,38(2):222-226.

## Effect of Sampling Time and Hormones on Axillary Buds Induction of ‘Yuqiu No. 1’

MA Ling-ling, WANG Peng, WANG Shu-an, ZHANG Zhen-yu, YANG Ru-tong, LI Ya, LI Lin-fang

(Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014)

**Abstract:** Taking ‘Yuqiu No. 1’ as material, the effect of methods of sterilization, types of basic culture medium, plant growth regulators and sampling time on axillary bud induction was studied. The results showed that significant difference was caused by using different culture mediums in which MS medium induced the most axillary buds. The best axillary buds induction profile were explants soaked in carbendazim turbid liquid for 60 min, alcohol sterilization 30 s, soaked in mercuric chloride 9 min. The most suitable medium to induce axillary buds from ‘Yuqiu No. 1’ was MS+0.8 mg/L 6-BA+0.10 mg/L IBA. The optimal sampling time to establish ‘Yuqiu No. 1’ tissue culture system was in April, the contamination rate and browning rate were low, bud induction rate was high, axillary buds germinated and grew fast.

**Key words:** ‘Yuqiu No. 1’; axillary bud induction; hormones; browning