

# 丝棉木组织培养技术

李春玲, 石建宁\* (宁夏生态工程学校, 宁夏银川 750004)

**摘要** [目的] 促进丝棉木种苗的快速繁殖并保持其优良性状。[方法] 以丝棉木的嫩茎、叶片为材料, 消毒后接种在不同激素水平的 MS 培养基上诱导产生幼苗。[结果] 培养基 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L 是丝棉木外植体诱导产生腋芽的最佳培养基。丝棉木叶片在培养基 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L + 2,4-D 0.05 mg/L 上能成功诱导出小苗, 诱导出来的小苗叶色鲜绿、生长旺盛。在培养基 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L 上幼苗的分化系数最高, 且幼苗生长最好。在培养基 1/2 MS + IBA 0.4 mg/L + NAA 0.10 mg/L + 根皮苷 3 mg/L 上幼苗的生根率较高且根系较发达。在基质草炭 + 蛭石 + 珍珠岩(5:3:2)上移栽苗的生根时间最短, 为 10 d, 生根率和成活率最高, 分别为 95.6% 和 85.48%。[结论] 该研究为丝棉木的组培育苗提供了技术支持。

**关键词** 丝棉木; 外植体; 嫩茎; 叶片; 组织培养

中图分类号 S722.3<sup>+</sup>7 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)30-14625-02

## Tissue Culture Technique of *Euonymus bungeanus*

LI Chun-ling et al (Ecological Project School of Ningxia, Yinchuan, Ningxia 750004)

**Abstract** [Objective] The purpose of the research was to promote the rapid propagation of *Euonymus bungeanus* seedlings and keep their good traits. [Method] With the immature stems and leaves of *E. bungeanus* as materials, they were inoculated on MS media with different hormone levels to generate seedlings by induction after sterilization. [Result] The medium MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L was the optimum medium to generate auxiliary buds by induction from *E. bungeanus* explants. The seedlings could be induced from *E. bungeanus* leaves successfully on the medium MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L + 2,4-D 0.05 mg/L and the induced seedlings had brightly green leaves and grew vigorously. On the medium MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L, the differentiation coefficient of seedlings was highest and the seedlings grew best. On the medium 1/2 MS + IBA 0.4 mg/L + NAA 0.10 mg/L + phloridzin 3 mg/L, the rooting rate of seedlings was higher and their roots were more developed. On the substrate peat + vermiculite + perlite (5:3:2), the rooting time of transplanted seedlings was shortest, being 10 d and their rooting rate and survival rate were highest, being 95.6% and 85.48% resp. [Conclusion] The research supplied technical support for the tissue culture and raising seedling of *E. bungeanus*.

**Key words** *Euonymus bungeanus*; Explants; Immature stem; Blade; Tissue culture

丝棉木(*Euonymus bungeanus* Maxim)又名桃叶卫矛, 属卫矛科卫矛属。为落叶小乔木或灌木。树冠圆形或卵形, 树皮灰褐色, 小枝绿色, 近四棱形。叶对生, 椭圆状卵形或宽卵形, 边缘有细锯齿。聚伞花序腋生, 花 3~7 朵, 黄绿色。蒴果 4 瓣裂, 淡红色或带黄色; 种子有桔红色假种皮。花期 5~6 月, 果熟期 9~10 月。丝棉木为暖温带树种, 产我国中部、北部各省, 浙江、福建也有分布。喜光, 稍耐荫, 耐寒, 亦较耐旱。适生于肥沃、湿润之地, 中性土、微酸性土均能适应。根系发达, 萌生能力强。丝棉木为园林景观设计中心广为推广的观赏性植物, 该研究旨在通过植物组织培养的方法促进其种苗的快速繁殖, 保持其优良的性状<sup>[1-5]</sup>。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 外植体材料采自宁夏回族自治区银川市永宁县。

**1.2 方法** 将采来的丝棉木外植体清洗干净, 用流水冲洗 30 min 后放在超净工作台上, 用浓度 70% 的酒精消毒 30 s, 后用浓度 0.1% 氯化汞溶液振荡消毒 5~6 min, 再用无菌水清洗 3~5 遍。剪成 1.5 cm 的茎段, 备接种用。在温度(25±2)℃, pH 值 5.8 的培养基上进行培养。基本培养基为 MS 培养基, 琼脂为 5.4 g/L, 诱导和分化培养基蔗糖为 30 g/L, 生根培养基蔗糖为 15 g/L, 按照培养目的不同添加不同浓度细胞分裂素和生长素, 置于培养室培养, 光照时间 12 h/d, 光照强度 2 400 lx<sup>[6-10]</sup>。

(1) 外植体诱导。①以 MS 为基本培养基, 再添加不同

浓度的 6-苄氨基嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)设计 3 种不同浓度的配比, 选取 300 株幼嫩健壮的丝棉木嫩茎经过处理后接种于加有不同浓度 6-BA、NAA、吲哚乙酸(IAA)、黄体生成素(LH)的 MS 培养基上, 接种 2 周后, 观察记录培养结果, 分析不同激素水平对嫩茎发芽及小苗诱导率的影响。②在丝棉木的培养过程中, 将叶片转培到加有不同浓度 6-BA、NAA、2,4-D 的 MS 培养基上, 每种培养基接种 25 个叶片, 每个叶片能剪成 4 个 0.5 cm×0.5 cm 的小方块。45 d 后观察其生长及诱导情况, 分析不同激素水平对叶片诱导率的影响。

(2) 继代培养。将诱导出来的小苗接种在加有不同浓度 6-BA、NAA、IAA、LH 的 MS 培养基上, 每个培养基接种 100 株, 15 d 后观察其生长及分化情况。

(3) 生根培养及炼苗移栽。①复壮后的丝棉木试管苗生根诱导。采用不同浓度的生长素对其根的生诱导情况也不一样, 选取高度超过 2 cm 的幼苗接种在不同浓度生长素的培养基上, 每种培养基接种 100 株, 观察其生根情况。②当试管苗具有 2 条以上根系, 根长到 1 cm 时, 即可将组培苗转移到温室进行炼苗。炼苗 1 周后, 把盖子打开炼苗 1 d, 取出小苗, 洗净根上的培养基, 置于 3 种不同配比的基质中。控制空气温度 25~28℃, 空气湿度 85%~90%。12 d 后, 调查丝棉木移栽情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体诱导结果

**2.1.1 不同激素水平对嫩茎发芽及小苗诱导率的影响。**由表 1 可知, 通过对 3 种不同培养基的最早发芽时间、诱导率、发芽数量及其生长情况的对比可知: MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L 的培养基是丝棉木外植体诱导腋芽的最佳培养基。

**基金项目** 宁夏生态工程学校资助项目。

**作者简介** 李春玲(1982-), 女, 宁夏银川人, 研究实习员, 从事生物技术及其应用方面的研究。\* 通讯作者, 硕士, 高级工程师。

**收稿日期** 2009-06-25

表 1 不同种类激素和浓度配比对外植体诱导腋芽的影响

Table 1 Effects of different hormone and concentration proportions on induced axillary bud of explants

编号 No.	6-BA mg/L	NAA mg/L	IAA mg/L	LH mg/L	萌芽时间//d Germinating time	诱导率//% Induction rate	发芽数量//个 Numbers of bud	叶色绿//% Degree of greening	生长情况 Condition of growth
1	0.3	0.01	0.05	100	10	20.6	1	31	长势差 Bad growth
2	0.3	0.10	-	-	7	42.3	4	68	长势好 Good growth
3	1.0	-	0.05	100	9	31.5	2	42	长势一般 Normal growth

2.1.2 不同激素水平对叶片诱导率的影响。由表 2 可知, +2,4-D 0.05 mg/L 上能成功诱导出小苗, 诱导出来的小苗丝棉木叶片在培养基 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.1 mg/L 叶色鲜绿、生长旺盛。

表 2 不同激素水平对叶片诱导的影响

Table 2 Effects of different hormone levels on leaf induction

编号 No.	6-BA mg/L	NAA mg/L	2,4-D mg/L	愈伤组织形成 时间//d Time of callus tissues formation	萌芽时间//d Germinating time	出愈率//% Frequencies of callus induction	愈伤组织直径//cm Diameter of callus tissues	出芽率//% Germinating rate	愈伤组织生长情况 Condition of callus tissues growth
1	1.5	0.1	0.05	18	-	56.16	1.0	-	长势差 Bad growth
2	1.0	0.1	0.05	20	-	62.53	1.5	-	长势一般 Normal growth
3	0.3	0.1	0.05	15	45	70.92	1.5	50.0	长势好 Good growth

2.2 继代培养结果 由表 3 可知, 配比 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L 的培养基上苗分化系数最高, 且生长情况

表 3 不同激素水平对芽分化系数及生长状况的影响

Table 3 Effects of different hormone levels on seedling bud differentiation and growth status

编号 No.	6-BA mg/L	NAA mg/L	IAA mg/L	LH mg/L	分化系数 differentiation index	褐化 browning	叶色绿//% Degree of greening	脱叶//% Defoliation
1	1.0	0	1.00	0	2	+	30	10
2	1.0	0.05	0	0	1	-	45	12
3	1.0	0.10	0	100	2	+	25	8
4	1.0	0	0.01	100	1	++	25	9
5	1.0	0	0.05	100	2	+	35	10
6	0.3	0.10	0	0	4	-	80	11

注: + 为较强; ++ 为强。

Note: + stands for strong; ++ stands for comparative strong.

表现最好。生长素浓度高低不仅影响幼苗生根率, 而且对根系及生长势

### 2.3 生根培养及炼苗移栽结果

2.3.1 不同生长素浓度对幼苗生根的影响。由表 4 可知, 根皮苷 3 mg/L 的培养基生根率较高, 且根系较发达。

表 4 不同浓度生长素对幼苗生根情况的影响

Table 4 Effects of different auxin concentrations on rooting situation

培养基//mg/L Media	生根时间//d Rooting time	生根率//% Rooting rate	根系位置 Rooting position	生根情况 Rooting condition	叶片生长情况 Condition of leaf growth
1/2 MS + IBA 0.4	7	40.00	愈伤 Callus	发达 Developed	一般 Normal
1/2 MS + IBA 0.4 + NAA 0.10	14	15.30	愈伤 Callus	弱 Weak	差 Bad
1/2 MS + IBA 0.6	5	26.40	愈伤 Callus	发达 Developed	一般 Normal
1/2 MS + IBA 0.6 + NAA 0.05	15	36.20	愈伤 Callus	弱 Developed	一般 Normal
1/2 MS + IBA 0.4 + NAA 0.10 + 根皮苷 3	12	82.50	皮部 Cutaneous region	较发达 More developed	好 Good
1/2 MS + IBA 0.4 + NAA 0.20 + 根皮苷 5	10	24.40	皮部 Cutaneous region	弱 Weak	一般 Normal
1/2 MS + IBA 0.6 + NAA 0.20 + 根皮苷 5	10	8.97	皮部 Cutaneous region	发达 Developed	差 Bad

注: 根系较发达: 根长 > 1.0 cm, 根粗, 有 3~5 个须根; 根系发达: 根长 0.5~1.0 cm, 根粗, 有 3 个须根; 根系弱: 根长 < 0.5 cm, 根细, 有 1~2 个须根。

Note: Roots are comparative developed; root length > 1.0 cm, root thickness, 3-5 fibrous roots; Roots are developed; root length 0.5-1.0 cm, root thickness, 3 fibrous roots; Roots are weak, root length < 0.5 cm, root fine, 1-2 fibrous roots.

2.3.2 炼苗移栽。由表 5 可知, 草炭: 蛭石: 珍珠岩的配比为 5: 3: 2 的基质上移栽苗生根时间短, 生根率最高, 达到 95.6%, 且成活率达到 85.48%, 生长情况表现良好。的高低以及配比的恰当与否都直接影响到嫩茎的发芽数及诱导成活率。采用 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L 配比的培养基其发芽数、诱导率都是最高的, 且幼苗叶色正常, 长势明显好于其他配比的培养基。

### 3 结论

(1) 嫩茎的初代培养及诱导过程中 6-BA 和 NAA 浓度

(下转第 14652 页)

研究表明,紫甘蓝是一种有益于身体健康,抑制自由基所致的机体内 LDL 氧化损伤的食物资源,可能有益于预防动脉硬化和高血脂等相关疾病。

### 参考文献

- [1] STEINBERG D, PARTHASARATHY S, CAREW T E, et al. Beyond cholesterol. Modifications of lowdensity lipoprotein that increase its atherogenicity [J]. *N Engl J Med*, 1989, 320: 915 - 924.
- [2] ESTERBAUER H, GEBICKI J, PUHL H, et al. The role of lipid peroxidation and the antioxidants in oxidative modification of LDL [J]. *Free Radic Biol Med*, 1992, 13: 341 - 390.
- [3] MOREL D W, DI CORLETO P E, CHISOLM G M. Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation [J]. *Atherosclerosis*, 1984, 4: 357 - 364.
- [4] WITZTUM J L, STEINBERG D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis [J]. *J Clin Invest*, 1991, 88: 1785 - 1792.
- [5] CLIFFORD M N. Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80(7): 1063 - 1072.
- [6] FOSSEN T, ANDERSEN M. Anthocyanins from red onion, *Allium cepa*, with novel aglycone [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(8): 1217 - 1220.
- [7] ARACELI CASTAÑEDA-OVANDO, MA. DE LOURDES PACHECOHERNÁNDEZ, MA. E PÁEZ-HERNÁNDEZ. Chemical studies of anthocyanins: A review [J]. *Food Chemistry*, 2009, 113(4): 859 - 871
- [8] AWIKA J M, ROONEY L W, WANISKA R D. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties [J]. *Food Chemistry*, 2005, 90(1/2): 293 - 301
- [9] POSMYK M M, KONTEK R, JANAS K M. Antioxidant enzymes activity

- and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009, 72(2): 596 - 602
- [10] CHIU-LAN HSIEH, YUH-CHARN LIN, WANG-SHENG KO, et al. Inhibitory effect of some selected nutraceutical herbs on LDL glycation induced by glucose and glyoxal [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 102: 357 - 363.
  - [11] 段丽菊, 刘英帅, 朱燕, 等. DNPH 比色法: 一种简单的蛋白质羰基含量测定方法 [J]. *毒理学杂志*, 2005, 19(4): 320 - 322.
  - [12] TERPSTRA V, BIRD D, STEINBERG D. Evidence that the lipid moiety of oxidized low density lipoprotein plays a role in its interaction with macrophage receptors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 1806 - 1811.
  - [13] WALLIN B, ROSENGREN B, SHERTZER H G, et al. Lipoprotein oxidation and measurement of thiobarbituric acid reacting substances formation in a single microtiter plate: its use for evaluation of antioxidants [J]. *Anal Biochem*, 1993, 208: 10 - 15.
  - [14] BLOOR S J, ABRAHAMS S. The structure of the major anthocyanin in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(3): 343 - 346.
  - [15] JIN-MING KONG, LIAN-SAI CHIAA, NGOH-KHANG GOHA, et al. Analysis and biological activities of anthocyanins [J]. *Phytochemistry*, 2003, 64: 923 - 933
  - [16] HARBORNE J B, WILLIAMS C A. Anthocyanins and other flavonoids [J]. *Natural Product Reports*, 2001, 18: 310 - 333.
  - [17] DALLE-DONNE, GIUSTARINI D, COLOMBO R, et al. Protein carbonylation in human diseases [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2003, 9: 169 - 176.
  - [18] DEAN R T, FU S, STOCKER R, et al. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation [J]. *Biochemical Journal*, 1997, 324: 1 - 18.

(上接第 14626 页)

(2) 叶片的诱导培养过程中,在培养基 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L + 2,4-D 0.05 mg/L 上能成功诱导出小苗,诱导出来的小苗叶色鲜绿,生长旺盛,出愈率最高可以达到 70.92%。

表 5 不同基质比对幼苗移栽情况的影响

Table 5 Effects of different substrate compositions on seedling transplanting situation

基质 (草炭:蛭石:珍珠岩) Medium (Turf: Vermiculite: Perlite)	生根时间 d Rooting time	生根率 % Rooting rate	成活率 % Survival rate	生长情况 Condition of growth
5:3:2	10	95.6	85.48	一般 Normal
10:0:0	13	83.4	70.19	差 Bad
6:2:2	12	92.7	80.38	良好 Good

(3) 芽的继代培养过程中适宜的培养基对芽的增殖及扩繁起到非常重要的作用,而采用配比为 MS + 6-BA 0.3 mg/L + NAA 0.10 mg/L 的培养基其分化系数可以达到 4,同时叶片褐化程度最弱,80% 以上苗叶色为绿,苗长势良好,所以该配方为芽继代培养的最佳培养基。

(4) 丝棉木为木本植物,采用 1/2 MS + IBA 0.4 mg/L + NAA 0.10 mg/L + 根皮苷 3 mg/L 的培养基其生根率可以达到 82.5%,且生根时间较其他配比的短,根系较发达,褐化现象不严重,生长势表现良好,因此该培养基是丝棉木试管苗

生根的最佳培养基。

(5) 丝棉木在移栽过程中极易生根,采用草炭:蛭石:珍珠岩基质配比 5:3:2 的移栽苗生根时间短,生根率最高,达到 95.6%,且成活率达到 85.48%,生长情况表现良好,因此其为丝棉木移栽成活的最佳基质配方。

### 参考文献

- [1] 陈植. 观赏林木学 [M]. 北京:中国林业出版社,1984.
- [2] 张俊朴. 城市绿化新秀——丝棉木 [J]. *园林*, 1987(2): 145 - 147.
- [3] 张俊朴. 丝棉木根系与栽培试验初报 [J]. *园林*, 1993(1): 56 - 57.
- [4] 石建宁, 郭玉琴, 刘冰等. 丝棉木嫁接胶东卫矛在宁夏园林中的应用初探 [J]. *防护林科技*, 2006(4): 92 - 93.
- [5] 郭永玲. 丝棉木育苗技术 [J]. *宁夏农林科技*, 2003(5): 56 - 57.
- [6] 曹攸义, 刘国民. 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.
- [7] 刘振祥, 廖旭辉. 植物组织培养技术 [M]. 北京:化学工业出版社,2007.
- [8] 韦小敏, 吕云峰, 李先芳, 等. 柃柳两种不同外植体生根效果比较 [J]. *浙江林业科技*, 2006, 26(4): 27 - 29.
- [9] 韦小敏, 李先芳, 李利红, 等. 柃柳两种不同快速繁殖途径的效果比较 [J]. *福建林业科技*, 2006, 33(3): 88 - 90.
- [10] 李俊明. 植物组织培养教程 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.
- [11] MENG D Q, YUAN D B, ZHANG Y F, et al. Reproduction of the three-line genic male sterile line parent mian 7MB-1 (*Brassica Napus* L.) and seed production of F1 based on somatic tissue culture [J]. *Agricultural Science & Technology*, 2009, 10(1): 22 - 25, 114.
- [12] 吴建华, 王斌, 徐美隆. 丝棉木的组织培养与快速繁殖 [J]. *宁夏农林科技*, 2009(2): 25.
- [13] ZHANG W, GUO X D, WANG Y, et al. Study on tissue culture and effective clone establishment of *Hemistepia lyrata* bunge [J]. *Agricultural Science & Technology*, 2009, 10(1): 47 - 50, 104.