

黄连木组织培养研究初报

陈雪莲, 徐六一, 姜春武 (安徽省林业科学研究院, 安徽合肥 230031)

摘要 [目的] 探寻黄连木的组织培养繁殖技术, 为进一步开展品种改良奠定基础。[方法] 以2年生嫁接苗茎段为外植体, 通过诱导腋芽进行启动培养试验。分别研究不同灭菌剂与灭菌时间、不同抑制剂以及不同光照条件等对黄连木组培效果的影响。[结果] 试验初步得出, 用0.1%升汞灭菌黄连木外植体较合适的时间为8~12 min, 半木质化茎是最合适的诱导腋芽的茎段; 对于抑制褐变方面, 使用聚乙烯吡咯烷酮(PVP)相对较好些; 而在培养初期, 光照强度对腋芽的诱导情况影响不大。[结论] 黄连木组织培养过程中极易出现褐变现象, 而且污染率也很高, 生产中应注意采取适当的技术措施避免该现象。

关键词 黄连木; 启动培养; 褐变; 污染率

中图分类号 S722.3+7 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)03-00974-02

Preiminary Report on Chinese Pistache Tissue Culture

CHEN Xue-lian et al (Anhui Academy of Forestry Science and Technology, Hefei, Anhui 230031)

Abstract [Objective] The technique of Chinese pistache tissue culture propagation was explored in order to further lay the foundation for variety improvement. [Method] The experiment in the axillary induction with 2-year-old grafted seedlings as explants was conducted. The effect of different sterilizations, sterilized times, inhibitors and light conditions on Chinese pistache tissue was studied. [Results] The preliminary result indicated that the suitable time of explants' sterilization with 0.1% mercuric chloride was 8-12 min and semi-lignified stem was the most appropriate explants for axillary induction. The use of PVP had relatively good effect on tissue brown-inhibiting. In the early days of material-culturing, the light intensity had little effect on the axillary induction. [Conclusion] The tissue-browning in the process of Pistacia tissue culture was easily, and also, there was high pollution rate, so some appropriate measures should be taken to avoid the phenomenon in production.

Key words Pistacia; Starting culture; Browning; Pollution rate

黄连木(*Pistacia chinensis* Bunge), 又名楷树等, 属于漆树科黄连木属, 是一种优良用材和观赏落叶乔木。在我国分布广泛, 北至河北、山东, 南至广东、广西, 东到台湾, 西至四川、云南都有野生和栽培黄连木, 其中以河北、河南、山西、陕西等省最多^[1]。黄连木用途十分广泛, 种子含油率42.5%, 出油率20.0%~30.0%, 已被国家林业局定为“十一五”期间重点发展的林业生物质能源树种之一, 具有极高的经济价值。

目前, 黄连木主要通过播种和嫁接繁殖, 但出芽率和成活率都不是很高, 远不能满足国内对种苗的需求, 如能通过组织培养技术进行繁殖, 则不仅可保持优良树种的遗传稳定性, 而且能有效提高其繁殖系数, 为进一步开展品种改良奠定基础。但黄连木中单宁等次生代谢物含量高, 组织培养存在很多困难, 至今未见在生产上有应用的报道^[2-4]。黄连木组织培养的难点主要是污染及褐变率高、萌芽缓慢、新芽易枯死等。笔者针对黄连木在启动培养阶段所存在的这些问题进行初步研究, 以期为进一步的研究工作奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 外植体取自栽种在安徽省林业科学研究院合肥苗圃的2年生嫁接苗。在晴天中午12:00~14:00时段内, 剪取当年新萌发的健壮枝条, 除去叶片, 剪成具2、3个芽的茎段, 放入洗涤剂溶液中浸泡15 min后, 自来水冲洗30 min以上。在超净工作台上, 用70%酒精消毒, 无菌水冲洗1次, 再放入0.1%升汞溶液中浸泡, 无菌水冲洗5~6次。切成1.5~2.0 cm带有1个芽的小茎段, 接种在培养瓶中, 送入培养室培养。培养室温度为(25±2)℃, 湿度(70±5)%, 光强1500 lx。培养基pH值为5.8~6.2。

1.2 试验方法

1.2.1 灭菌剂与灭菌时间。灭菌剂选用70%酒精和0.1%

升汞, 前者灭菌时间为5 s, 后者灭菌时间分别为2、4、8、12、15 min, 共有5个处理。培养基为MS+6-BA 1.0 ng/L+NAA 0.1 ng/L+IBA 0.1 ng/L+蔗糖30.0 g/L+琼脂8.0 g/L+活性炭1.0 g/L。接种15 d后, 调查污染率和死亡率, 30 d后调查得率。污染率=污染茎段数/接种茎段总数×100%, 死亡率=死亡茎段数/接种茎段总数×100%, 得率=(褐变程度较轻的茎段数+无褐变的茎段数)/接种茎段总数×100%。

1.2.2 褐变抑制。在2份等量的培养基中分别加入聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和活性炭。培养基为MS+6-BA 1.0 ng/L+NAA 0.1 ng/L+IBA 0.1 ng/L+蔗糖30.0 g/L+琼脂8.0 g/L。接种5、10、15、20 d后, 调查褐化率。褐化率=褐变的茎段数/接种茎段总数×100%。

1.2.3 光照强度。光照强度设为黑暗、弱光、自然光(1500 lx)。培养基为MS+6-BA 1.0 ng/L+NAA 0.1 ng/L+IBA 0.1 ng/L+蔗糖30.0 g/L+琼脂8.0 g/L+活性炭1.0 g/L。接种35 d后统计得率。

1.2.4 诱导枝条不同部位的茎段。选取嫩茎、半木质化茎和木质化茎, 分别对其进行诱导, 培养基为MS+6-BA 1.0 ng/L+NAA 0.1 ng/L+IBA 0.1 ng/L+蔗糖30.0 g/L+琼脂8.0 g/L+活性炭1.0 g/L。接种15 d后, 调查褐变率; 30 d后, 调查诱导率。诱导率=开始萌芽的茎段数/接种茎段总数×100%。

2 结果与分析

2.1 灭菌剂与灭菌时间对黄连木灭菌效果的影响 0.1%升汞不同灭菌时间处理对黄连木外植体的污染率、非污染率、死亡率影响显著, 结果见表1。

由表1可见, 0.1%升汞溶液灭菌8 min污染率最低, 但由于褐变的原因其最终得率却不是最好的; 灭菌12 min的处理的污染率与灭菌8 min的处理相差不是太大, 而其得率相对较好。综合以上数据得出, 灭菌时间在8~12 min比较合适, 最合适的时间还有待进一步的试验来进行确定。

作者简介 陈雪莲(1984-), 女, 安徽凤台人, 研究实习员, 从事植物组织培养方面的研究。

收稿日期 2008-11-03

2.2 褐变吸附剂 PVP 和活性炭对黄连木褐变率的影响 PVP 和活性炭对黄连木的褐变均有一定的抑制作用,但它们的抑制作用在接种后的不同时间段内表现不同,见表2。

表1 0.1%升汞不同灭菌时间对黄连木灭菌效果的影响

Table 1 Effects of sterilization time of 0.1% mercuric chloride on sterilization efficacy of *P. chinensis*

处理 Treatment	灭菌时间 min Sterilization time	污染率 % Pollution rate	非污染率 % Non pollution rate	得率 % Yield rate
1	2	50.00	50.00	16.67
2	4	66.76	33.33	30.00
3	8	16.66	83.34	20.00
4	12	33.33	66.67	26.67
5	15	33.33	66.67	23.33

表2 褐变吸附剂 PVP 和活性炭对黄连木褐变率的影响

Table 2 Effects of browning sorbent PVP and active carbon on browning rate of *P. chinensis*

处理 Treatment	处理时间 Treatment time				
	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d
PVP	33.3	46.7	60.0	66.7	66.7
活性炭 Active carbon	20.0	40.0	80.0	86.7	86.7

对接种后不同的观察时间和褐变率做图,如图1。由图1可以看出,在接种后初期,活性炭对褐变的抑制能力要强一些,但随着时间的推移它们的抑制力都逐渐下降。从总体上看,PVP 则表现出相对较强的抑制力。

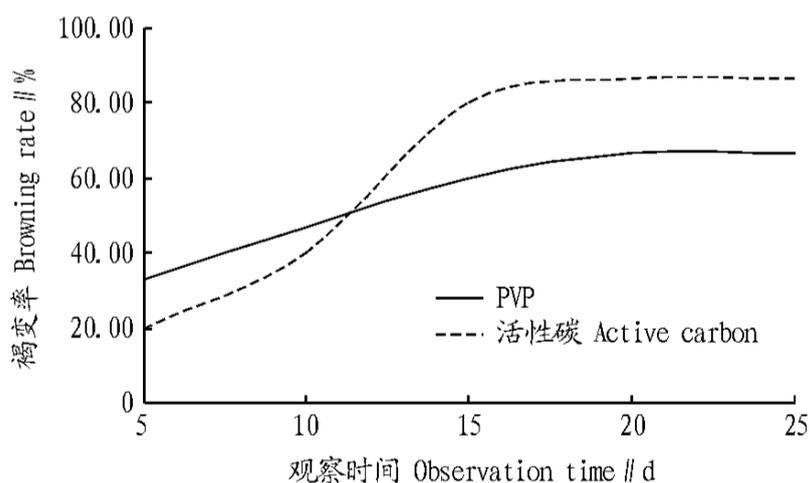


图1 褐变吸附剂 PVP 和活性炭对黄连木褐变率的影响

Fig.1 Effects of browning sorbent PVP and active carbon on browning rate of *P. chinensis*

2.3 光照强度对黄连木腋芽诱导的影响 从表3 可以看出,在黄连木腋芽诱导初期,光照强度对其没有明显的影响,在黑暗、弱光、自然光(1 500 lx) 照下,得率差异不大。

2.4 枝条不同部位的茎段对诱导黄连木腋芽的影响 从表4 可以看出,嫩茎和木质化茎的得率很低,半木质化茎相对较好,但总体上得率都不是很理想。

表3 光照强度对黄连木腋芽诱导的影响

Table 3 Effects of illumination intensity on axillary bud induction of *P. chinensis*

处理 Treatment	时间 h Time	褐变率 Browning rate	得率 Yield rate
黑暗 Darkness	0	56.7	6.7
弱光 Lowlight	12	60.0	3.3
自然光 Natural light	12	66.7	3.3

表4 枝条不同部位的茎段对诱导黄连木腋芽的影响

Table 4 Effects of different parts of stem segments on axillary bud induction of *P. chinensis*

处理 Treatment	褐变率 Browning rate	得率 Yield rate
嫩茎 Twig	80.0	3.3
半木质化 Semi-lignifications	66.7	13.3
木质化 Lignifications	73.3	0

3 结论与讨论

茎段培养可诱导外植体萌发腋芽、不定芽,通过继代培养实现带芽茎段的增殖,待幼茎长成后再诱导生根从而获得完整植株,这是黄连木组织培养的理想途径。半木质化茎是最合适的诱导腋芽的茎段,但由于黄连木属于漆树科植物,在组织培养过程中极易出现褐变现象,加之该试验大多是在7、8 月间进行的,使得这一现象更为严重,而且污染率也很高。为了解决褐变问题,该试验分别采用了PVP 和活性炭,根据试验数据分析得出,PVP 在抑制褐变方面相对较好些,而光照条件在培养初期对褐变现象以及芽的诱导方面影响不显著。在解决污染方面,升汞在常用灭菌剂里面是灭菌能力最强的,但灭菌时间要把握在一定的范围之内才能有较好的效果,从试验结果看,用0.1% 的升汞灭菌8~12 min 比较合适。另外,该试验中诱导出的腋芽在萌发后不久出现了枯死的现象,该问题有待进一步解决。

参考文献

- [1] 陈斌. 黄连木——“石油植物”的新秀[J]. 浙江林业,2006(3):28.
- [2] 刘洋, 苏淑钗, 冷平生, 等. 阿月浑子组织培养研究初报[J]. 中国农学通报,2007,23(7):110-114.
- [3] 刘杰, 杨松, 邵思常. 黄连木植物资源的研究与开发利用进展[J]. 阜阳师范学院学报:自然科学版,2008,25(1):43-46.
- [4] 秦飞, 郭同斌, 刘忠刚, 等. 中国黄连木研究综述[J]. 经济林研究,2007,25(4):90-96.

thaliana of a synchronous system of floral induction by one long day[J]. Plant J,1996,9:947-952.

- [13] ROLD NM, G MEZ-MENA C, RUIZ GARCIA L, et al. Sucrose availability on the aerial part of the plant promotes morphogenesis and flowering of *Arabidopsis* in the dark[J]. Plant J,1999,20:581-590.

(上接第940 页)

- [10] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 4 版. 北京: 高等教育出版社,2001.
- [11] BERNIER G. The control of floral evocation and morphogenesis[J]. Annu Rev Plant Physiol,1988,39:175-219.
- [12] CORBIER L, GADISSEUR I, SILVESIRE G, et al. Design in *Arabidopsis*