

# 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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2-4]</sup>。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。

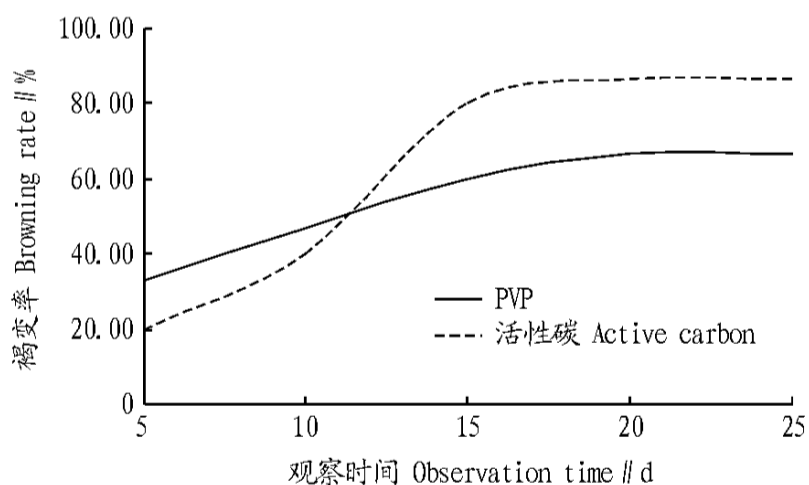


图1 褐变吸附剂 PVP 和活性炭对黄连木褐变率的影响

**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*