

文章编号:1007-4961(2007)01-0062-04

## 欧李组织培养技术试验研究

张秀丽, 张毅功

(河北农业大学 资源与环境学院, 河北 保定 071001)

**摘要:**对欧李不同外植体对初代培养的影响及增殖阶段不同激素对增殖影响进行了研究。结果表明:欧李外植体以顶芽以下4~8个节位上的腋芽最为合适,萌芽率高,污染和死亡率低,植株生长健壮;增殖阶段不同生长素和细胞分裂素对增殖有不同的影响,适合欧李增殖的生长素为NAA,适合欧李增殖的细胞分裂素为BA,适宜的激素浓度分别为0.04~0.06 mg/L和1.0 mg/L。

**关键词:**欧李;外植体;增殖培养;激素

**中图分类号:**S 662

**文献标识码:**A

Tissue culture experiment on *Prunus humilis*

ZHANG Xiu-li, ZHANG Yi-gong

(College of Resource and Environmental Science, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

**Abstract:** In this experiment, studies are given to the effects of explants in initial stage and hormones in regeneration stage on the tissue culture of *Prunus humilis*. The result shows that the suitable explant is from 4~8 section axillary bud under the terminal bud, with high germination rate and low contaminated rate and low mortality, and the plants are strong. In regeneration stage, the suitable auxin is NAA, with concentration of 0.04~0.06 mg/L, the suitable cytokine is BA, with concentration of 1.0 mg/L.

**Key words:** *Prunus humilis*; explant; regeneration stage; hormone

欧李(*Prunus humilis*)系蔷薇科,桃李属,樱桃亚属,欧李树种的矮小灌木果树。欧李是中国特有、世界最矮的樱桃属野生果树,具有重要的研究和利用价值。欧李果实含钙量很高,又称其为钙果,每百克鲜果含钙量为60 mg,而苹果只有9 mg,果实还含有丰富的氨基酸,据相关资料显示,氨基酸有18种之多,总含量达到338.3~415.7 mg/100g,特别是维生素C、B<sub>2</sub>和E的含量,以及钾、磷、铁、锌、硒和赖氨酸的含量均高于现有常见果树品种,是儿童和老人的高级保健水果<sup>[1]</sup>。欧李根系发达,密集成网状,是防风治沙的优良生态树种,欧李种仁可以入药,具有助消化、利尿等功效,能治疗消化不良、肠胃停滞、水肿等疾病。目前大部分品种为野生品种,需要进一步驯化,山西农业大学的杜俊杰<sup>[2-4]</sup>对欧李进行了野生资源的调查和收集、生物学特性的研究和品种选育、栽培技术、利用

等方面的研究,目前推出的人工栽培品种有“农大钙果3号”和“农大钙果4号”,河北的张立彬<sup>[5]</sup>在燕山山区进行了野生欧李的实生选种工作,选育出了“燕山1号”大果型欧李新品种。欧李虽然可以采用扦插和分株等繁殖方法,但往往繁殖速度慢,不适应商业化的需求,并且在扦插和分株的过程中,常常发生变异,不能保持原有的优良性状,因此采用组织培养的方法获得大量健康的种苗具有重要的意义。本研究以带芽的茎段为外植体,进行离体培养,诱导形成植株,以获得无菌的再生苗。旨在为欧李组织培养找到适宜的培养条件,为进一步研究提供理论依据。

## 1 材料和方法

## 1.1 材料

供试材料为取自昌黎燕山山区的野生欧李,品种

收稿日期:2006-10-30;修改稿收期:2006-12-10

基金项目:北京京海生物工程有限公司资助项目。

作者简介:张秀丽(1980-),女,河北遵化人,硕士,研究方向:植物营养生态。

通讯作者:张毅功(1963-),男,辽宁法库人,博士,教授,主要从事植物营养方面研究和教学工作。

暂定为“燕山1号”,采其带腋芽的茎段作为外植体。

## 1.2 无菌培养材料的获得

在生长季节从无病虫害的健壮植株上采取欧李枝条,采取时间在晴天的下午。去掉叶子,剪取顶芽茎段、带腋芽的4~8节位中部茎段、中下部9~14节位茎段。用自来水冲洗30 min,洗涤灵浸泡5 min,再用自来水冲洗30 min,置于超净工作台上,70%的酒精浸泡30 s,0.1%的 $\text{HgCl}_2$ 溶液消毒8 min,无菌水冲洗4~6次,将消毒好的带芽茎段,切掉和消毒液接触的切口端部,在超净工作台无菌条件下,切成1 cm左右大小,接种到诱导培养的培养基中,每瓶接种一个材料,每个处理10瓶,3次重复,接种结束放入封闭的培养室中培养。

## 1.3 继代培养

待培养的幼苗长到3~4 cm高时进行继代培养,从三角瓶中取出幼苗,切成单芽茎段(腋芽以开始萌发为标准),接种到继代培养基中,每瓶接种3个茎段,每个处理10瓶,3次重复,继代周期为4周。

### 1.3.1 不同种类和浓度的生长素对继代增殖的影响

生长素选用NAA和IBA,NAA采用浓度为0.04、0.06、0.08、0.1 mg/L;IBA采用的浓度为0.1、0.2、0.3、0.5 mg/L,细胞分裂素为6-BA 1.0 mg/L,以不添加任何生长素为对照,4周后统计增殖倍数(增殖倍数=接种4周后芽数/接种时芽数,下同)和平均茎伸长量。

### 1.3.2 不同种类浓度的细胞分裂素对继代增殖的影响

细胞分裂素选用6-BA、KT和ZT,6-BA浓度为0.5、1.0、2.5 mg/L,KT和ZT分别采用浓度为0.5、

1.0、1.5 mg/L,生长素为NAA 0.06 mg/L,以不添加任何细胞分裂素为对照,4周后统计增殖倍数和平均茎伸长量。

以上所用培养基pH值均为5.8,培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ ,每天光照12~13 h,光照强度为1 200~2 000 Lx。研究工作在河北农业大学山区研究所组培室进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体的选取对诱导培养的影响

植物的任何器官在理论上都可以用作离体培养的外植体,但是不同器官和组织,其形态发生的能力是不同的,即使是相同的器官,由于生理学和发育年龄的差别,也会影响其自身形态发生的类型及方式。因此,在培养时,应根据培养目的来选择适宜的外植体。

本研究对欧李不同外植体的诱导情况作了比较,结果见表1。由表1可知,顶芽的污染率较中部带腋芽的茎段和中下部茎段差异显著,基本没有污染发生,但由于欧李顶芽过于稚嫩,很容易被消毒剂杀死,它的死亡率也与其他两个处理差异显著,所以在培养过程中,采用顶芽作为外植体要谨慎处理。中部带腋芽的茎段其萌芽率与顶芽和中下部茎段相比差异显著,可高达80%的萌芽率,此外,它的死亡率和污染率也是较低的,是合适的诱导外植体。中下部茎段由于其处于枝条的基部,抽条较早,不如幼嫩部位生长力旺盛,它具有较高的污染率和较低的萌芽率。

表1 不同外植体对初代培养的影响

Table 1 The effect of different explants on the initial culture

| 外植体类型<br>Type of explants | 污染率/%<br>Contaminated rate | 死亡率/%<br>Mortality rate | 萌芽率/%<br>Germination rate | 平均茎伸长量/cm<br>Average increment |
|---------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| 顶芽                        | 0 b                        | 47 a                    | 50 b                      | 1.63 a                         |
| 中部带腋芽茎段                   | 10 ab                      | 7 bc                    | 80 a                      | 1.34 a                         |
| 中下部茎段                     | 20 a                       | 10 b                    | 65 ab                     | 0.82 a                         |

注:表中同列不同小写字母表示方差分析差异显著( $P \leq 0.05$ )。

### 2.2 不同种类和浓度生长素对欧李增殖的影响

本试验选取NAA和IBA两种生长素作为参试因子,它们对继代培养的增殖倍数、平均茎伸长量的影响结果见图1、2。分别对两项指标作方差分析,结果表明,各处理之间差异显著。图1是NAA不同浓度对继代培养增殖倍数和茎伸长量的影响结果,可以看出,随着NAA的浓度升高,增殖倍数数值呈增长趋势,后又随浓度的不断升高有所下降,当

NAA的浓度达到0.06 mg/L时出现最大增殖倍数5.53,同样的规律也出现在不同处理的茎伸长量上。当NAA浓度大于0.08 mg/L时,增殖倍数的数值与对照相比差异不显著,但茎伸长量与对照相比差异显著。因此,可以证明生长素的显著作用就是促进试管新梢的生长和促进培养组织的延伸生长。图2是IBA不同浓度对继代培养增殖倍数和茎伸长量的影响结果,可以得出,当IBA浓度在0.2~0.3 mg/L时,增殖

倍数较其他处理差异显著,并且当 IBA 为 0.3 mg/L 时,茎伸长量为最大值 0.94 cm,同样的,用 IBA 处理过的茎伸长量与对照差异显著。综合比较两种生长素的处理结果,使用 NAA 的处理优于 IBA 处理,并且 NAA 的适合浓度在 0.04~0.06 mg/L 之间。

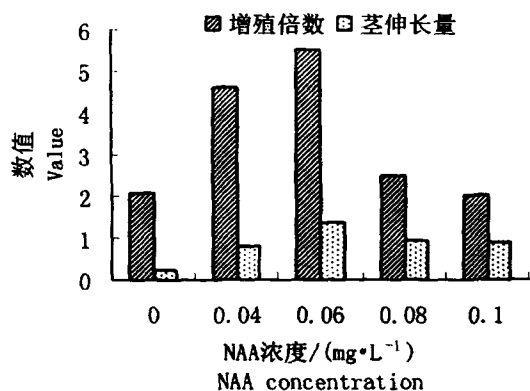


图1 NAA 不同浓度对欧李增殖生长的影响  
Fig.1 Effects of different NAA concentration on *Prunus humilis* multiplication

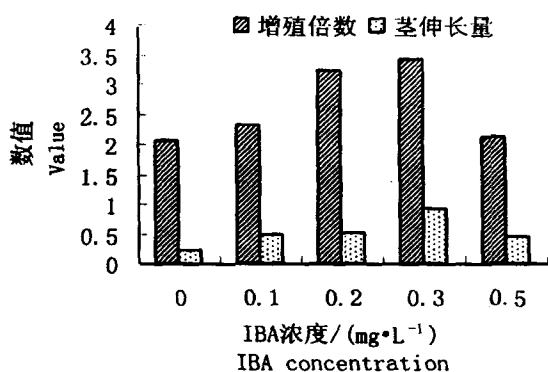


图2 IBA 不同浓度对欧李增殖生长的影响  
Fig.2 Effects of different IBA concentration on *Prunus humilis* multiplication

### 2.3 不同种类和浓度细胞分裂素对欧李增殖的影响

本试验选取 3 种细胞分裂素 BA、KT、ZT 作为参试因子,它们对继代培养的增殖倍数、平均茎伸长量的影响结果见图 3~5。分别对两项指标作方差分析。结果表明,各处理之间差异显著。BA 和 KT 增殖倍数都随浓度的升高先升高再降低,ZT 却有随浓度升高而下降的趋势,BA 浓度为 1.0 mg/L 时的增殖倍数都显著高于其他处理,达到最大增殖倍数 7.03。茎伸长量最大值是 ZT 为 1.0 mg/L 时,达到 4.42 cm,显著高于其他处理,但 ZT 各个处理的增殖倍数较低。根据试验过程观察,BA 处理生长多为丛生苗,叶片正常,茎节较短,植株较正常;在 KT 处理中,叶子偏大,茎节短,植株较矮,多为单苗有少数丛

生苗;在加入 ZT 的培养基中生长的幼苗生长健壮,叶大,叶脉清晰,茎节长,基本为单苗,极少有丛生苗现象。综合上述研究结果,BA 是欧李增殖生长阶段适宜的细胞分裂素类型,且以 1.0 mg/L 浓度为宜。

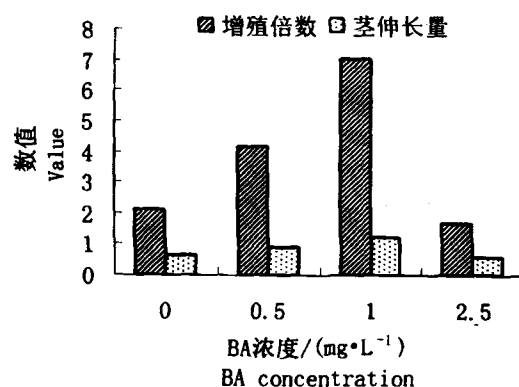


图3 BA 不同浓度对欧李增殖生长的影响  
Fig.3 Effects of different BA concentration on *Prunus humilis* multiplication

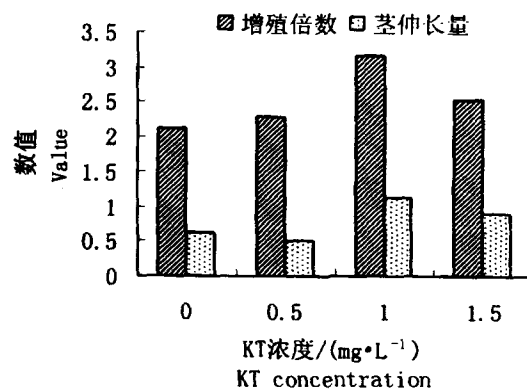


图4 KT 不同浓度对欧李增殖生长的影响  
Fig.4 Effects of different KT concentration on *Prunus humilis* multiplication

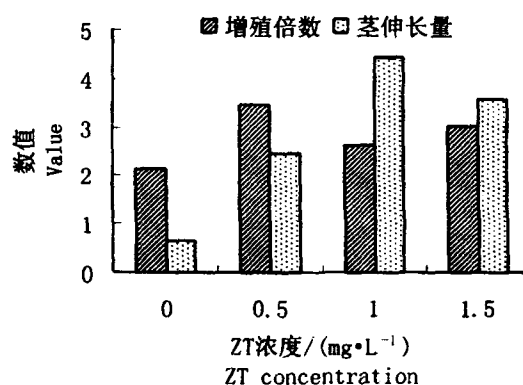


图5 ZT 不同浓度对欧李增殖生长的影响  
Fig.5 Effects of different ZT concentration on *Prunus humilis* multiplication

(下转第 73 页)

## 4 结论与讨论

(1)塞罕坝华北落叶松人工林群落土壤节肢动物组成丰富,变化复杂。弹尾目、蜱螨目、膜翅目和啮目是其优势类群;优势类群和常见类群是土壤节肢动物的主要组成。

(2)本研究中,落叶松人工林的 Shannon - Wiener 指数、均匀度指数和密度类群指数基本上均低于天然次生林群落,而 Simpson 指数则高于天然次生林,表明天然次生林比落叶松人工林具有更高的多样性,系统更稳定,对负反馈具有更大的控制力;另一方面计算 Jaccard 相似性系数,发现华北落叶松人工林和天然次生林仍具有较大的相似性,表明就目前来看落叶松比较适应塞罕坝的自然地理条件,林木生长较好,林内植被比较丰富,土壤节肢动物也比较活跃。

(3)本次调查对落叶松人工林的土壤肥力从生物指标来看,天然次生林土壤节肢动物中腐食性类群比例更大,但人工林的类群数和个体数更多,这可能是人工林群落环境对土壤节肢动物的影响比较小,或者尚未完全体现,因此目前要准确评价落叶松人工林的土壤肥力状况及其对土壤节肢动物的影响还比较困难,还需进一步的土壤养分分析和更长期的定位观测。

## 参考文献:

- [1] 傅必谦,陈卫,董晓晖,等.北京松山四种大型土壤动物群落组成和结构[J].生态学报,2002,22(2):215-223.
- [2] 傅必谦,陈卫,高武,等.百花山山杨桦木林土壤动物群落及其季节动态[J].动物学杂志,1997,32(2):10-15.
- [3] 傅荣恕,尹文英.伏牛山地区土壤动物群落的初步研究[J].动物学研究,1999,20(5):396-398.
- [4] 廖崇惠,李健雄,黄海涛.南亚热带森林土壤动物群落多样性研究[J].生态学报,1997,17(5):549-555.
- [5] 廖崇惠,李健雄,杨悦屏,等.海南尖峰岭热带林土壤动物群落——群落的组成及其特征[J].生态学报,2002,22(11):1866-1872.
- [6] 廖崇惠,李健雄,杨悦屏,等.海南尖峰岭热带林土壤动物群落——群落结构的季节变化及其气候因素[J].生态学报,2003,23(1):139-147.
- [7] 刘红,袁兴中.泰山土壤动物群落结构特征[J].山地研究,1998,16(2):114-119.
- [8] 唐本安,唐果,唐敏,等.云山国家森林公园土壤动物资源生态特征[J].自然资源学报,2003,18(4):499-504.
- [9] 尹文英,张荣祖,殷绥公,等.中国土壤动物[M].北京:科学出版社,2000.13-100.
- [10] 殷秀琴,李建东.羊草草原土壤动物群落多样性的研究[J].应用生态学报,1998,9(2):186-188.
- [11] 殷秀琴,仲伟彦,王海霞,等.小兴安岭森林落叶分解与土壤动物的作用[J].地理研究,2002,21(6):689-699.
- [12] Andren O, Brussaard I, Clarholm M. Soil organism in flounce on ecosystem process by passing the ecological hierarchy[J]. App Soil Ecol, 1999,11(2):177-188.

(编辑 刘彦琴)

(上接第 64 页)

## 3 结论与讨论

欧李外植体的选择以顶芽的污染率最低,而且茎的伸长也较快,但顶芽在接种过程中容易死亡,而且萌芽率较低,中部茎段是较理想的外植体材料。在欧李继代增殖的过程中,不同种类不同浓度生长素、细胞分裂素对增殖也有显著的影响,本试验中发现 BA 的增殖作用很大,但叶片偏小,而加入 KT、ZT 的处理中叶子较大,而且叶脉清晰,可以考虑以后的试验中 BA 与 KT 或 ZT 配合使用。

本试验对欧李初代培养的外植体选择和继代培养适宜的激素种类和浓度方面进行了初步探索,其他影响因子对该植物组织培养的影响尚需进一步研

究。

## 参考文献:

- [1] 钟士传,王侠礼.钙果微体快繁技术研究[J].中国种业,2004,(11),36.
- [1] 杜俊杰,曹琴,杨海燕.欧李生物学特性研究[J].山西农业大学学报,1992,12(4):311-314.
- [3] 杜俊杰,杨怀毅,池建伟.欧李选种研究初报[J].中国果树,1993,(3):23-24.
- [4] 杜俊杰.欧李抗旱生理特性的初步研究[J].山西农业大学学报,1994,(增):88-91.
- [5] 张立彬.野生欧李枝叶果生长特性的研究[J].河北科技师范学院学报,1996,(4):34-36.

(编辑 郭丽娟)