

文章编号:1009-4822(2008)06-0556-03

沙枣叶片愈伤组织诱导研究初报

王柏青

(北华大学 林学院,吉林 吉林 132013)

摘要:以沙枣叶片作为外植体,以MS为基本培养基,用两种不同浓度激素的组合,筛选5组培养基进行继代愈伤组织及增殖诱导.结果表明,沙枣叶片诱导愈伤组织的最佳培养基为MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 1 mg/L + kT 1 mg/L + 2,4-D 2 mL + 25 g 蔗糖 + 6 g 琼脂(pH = 5.5),诱导率达86.67%;以MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L + kT 1 mg/L + 2,4-D 2 mL + 25 g 蔗糖 + 6 g 琼脂(pH = 5.5)作为愈伤组织增殖培养较理想.

关键词:沙枣;组织培养;愈伤组织诱导

中图分类号:S722.37;Q 945.79

文献标识码:A

Report of Induction of *Elaeagnus angustifolia* L. Callus

WANG Bai-qing

(Forestry College of Beihua University, Jilin 132013, China)

Abstract: We use the blades of *Elaeagnus angustifolia* L. as the explantation and MS as basic culture medium, select 5 culture mediums to induce new calluses under the combination of two hormones at different concentration. The test result shows that the best culture medium for the induction of callus is MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 1mg/L + kT 1mg/L + 2,4-D 2 mL + 25g saccharose + 6g agaragar (pH = 5.5), the induced rate is 86.67%. Taking MS + 6-BA 0.5mg/L + NAA 1mg/L + kT 1mg/L + 2,4-D 2 mL + 25g saccharose + 6g agaragar (pH = 5.5) as callus induction is better mothod.

Key words: *Elaeagnus angustifolia* L.; Tissue culture; Callus induction

沙枣(*Elaeagnus angustifolia* L.) 属胡颓子科胡颓子属^[1], 别名七里香、桂香柳、香柳、刺柳、银柳胡颓子、牙格达、红豆等. 原产欧洲、亚洲和北美洲. 在我国主要分布于辽宁、河北、山西、河南、陕西、甘肃、内蒙古、宁夏、新疆、青海等地区的荒漠、半荒漠地带. 沙枣具有抗旱、耐盐碱、耐虫害的优良特性, 可作为水土保持、防沙造林的先锋树种. 沙枣的果实、枝叶、花均能药用, 临床上多用于脾胃虚弱、消化不良、肠炎腹泻、肺热咳嗽等疾病的治疗^[2-4]. 沙枣果实除含有鞣质、黄酮和齐墩果酸、油脂等成分外, 亦含有多营养成分^[5]. 油脂中含多种不饱和脂肪酸, 而不饱和脂肪酸的重要生理功能已引起人们的广泛重视^[6]. 沙枣木材坚硬耐磨, 是制造家具和生产工具的良好材料^[7]. 沙枣也是一种良好的蜜源植物^[8]. 沙枣叶美花香, 果实可供生食或酿酒、熬糖^[9], 具有较高的经济价值, 被誉为沙荒、盐碱地的“宝树”^[10], 是优良的观果及沙区绿化树种.

为了扩大沙枣种植面积, 利用组织培养手段大量、快速繁殖沙枣, 应是解决沙枣种源的有效途径. 本试

收稿日期: 2008-09-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30470129); 北华大学科研基金资助项目(2007第09号).

作者简介: 王柏青(1961-), 女, 副教授, 主要从事环境保护与植物资源利用研究.

验以沙枣叶片作为外植体进行愈伤组织诱导培养,并对沙枣愈伤组织的分化培养进行了初步探讨.

1 材料与方法

1.1 试验材料

2003 年采自宁夏野生种,经过 2 a 引种驯化和培育,现已种植在北华大学林学院苗圃及二道基地内. 3 月份采健康无病虫害的沙枣枝条在室内进行水培,以幼嫩叶片作外植体.

1.2 试验方法

1.2.1 诱导培养基

参照颜昌敬^[11]、李康等^[12]的研究方法,以 MS 培养基为基础,用两种不同浓度的激素 6-BA (0.1, 0.5, 1.00 mg · L⁻¹) 和 NAA(0.1, 0.5, 1.0 mg · L⁻¹),共 9 个不同浓度组合进行叶片愈伤组织的诱导,并在培养基中附加 kT 1 mg/L + 2,4-D 2 mL + 25 g 蔗糖 + 6 g 琼脂, pH = 5.5,培养温度(25 ± 2)℃,光照强度为 2 000 lx,每天光照 10 ~ 12 h 的 SPX-PG- II 智能光照培养箱(上海)中培养.

1.2.2 处理与接种

将沙枣幼叶剪下,在流水下冲洗 1 h,在无菌工作台上,用 70% 的酒精浸泡 30 s,再用 0.1% 的升汞溶液浸泡 2 ~ 10 min,无菌水冲洗 5 次,每次 1 ~ 2 min,滤干水分,以备接种.

2 结果与分析

2.1 外植体消毒时间

从表 1 可知,沙枣叶片在 0.1% 升汞溶液中消毒 4 ~ 6 min 生长正常,随着时间的延长,虽然染菌率下降,但外植体严重褐死. 因此,沙枣叶片用 75% 酒精灭菌 30 s,再用 0.1% 升汞溶液浸泡 5 min 左右消毒较为理想.

表 1 沙枣叶片在 0.1% 升汞中消毒时间的比较
Tab.1 Comparison of the blades of the disinfectant time on 0.1% corrosive sublimate

t(消毒)/min	接种数量 / 瓶	染菌数量 / 瓶	染菌率 / %	生长情况
2	10	7	70	严重污染
4	10	2	20	正常
6	10	3	30	正常
8	10	0	0	部分褐死
10	10	0	0	严重褐死

2.2 不同组合培养基对沙枣叶片外植体愈伤组织分化的影响

在无菌条件下,将经灭菌的嫩叶切成 0.3 cm² 的小方块,接种于上述培养基中,并将叶片腹面向上放置,每组接种 30 瓶. 接种 7 d 后发现,有的培养基的外植体切口接触面突起、膨胀、皱缩,20 d 开始产生少量愈伤组织,并出现绿色小芽点,40 ~ 50 d 后,小芽点不断长大. 不同激素浓度对愈伤组织的诱导效果不同,外源激素以 6-BA 60.5 mg/L 和 NAA 0.1 ~ 1 mg/L 的分化率较好(见表 2,分化率为各处理外植体培养 50 d 的平均值,表中数据的分化率 = 分化出愈伤组织 / 接种外植体总数 × 100%).

表 2 两种激素不同浓度对沙枣外植体愈伤组织分化率的比较
Tab.2 Comparison of the differentiated rates of explantation callus in two hormones with different concentrations

$\rho(\text{NAA})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho(6\text{-BA})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		
	0.1	0.5	1.0
0.1	4.6	37.1	12.1
0.5	17.6	52.0	19.1
1.0	23.5	81.8	25.4

2.3 不同组合培养基对叶片愈伤组织诱导的影响

设 A 组为 0.1 6-BA + 1 NAA; B 组 0.5 6-BA + 0.1 NAA; C 组 0.5 6-BA + 0.51 NAA; D 组 0.5 6-BA + 1 NAA; E 组 1 6-BA + 1 NAA,将愈伤组织切成 0.3 cm² 的小方块接种于愈伤分化率高于 20% 的两种激素不同浓度的培养基中进行继代增殖培养,每组接种 40 瓶,培养周期为 40 d. 接种 8 d 后发现,5 种不同培养基的外植体切口接触面突起、膨胀、皱缩,21 d 后开始产生愈伤组织. 接种在 C, D 培养基上的外植体有大

量愈伤组织产生,且颜色黄绿,状态为疏松、瘤状.而接种在 A,B,E 培养基上的外植体虽有一定的愈伤组织形成,但其颜色浅黄,状态干燥、致密、光滑,而且周边不同程度地变褐、变黑,随着时间的延长,逐渐死亡.40 d 后,在 C,D 培养基上的愈伤组织生长正常,增殖快,其诱导率分别为 82.21% 和 86.67%.试验结果表明,外植体愈伤组织诱导率较高(见表 3).

表 3 不同组合培养基对沙枣愈伤组织的诱导结果
Tab.3 The induced result of culture mediums with different combinations on callus

培养基	外植体生长情况	外植体数量/块	成愈块数量/块	诱导率/%
A	有少量愈伤组织,浅黄、致密	30	9	30.00
B	有一定愈伤组织,浅黄、瘤状	26	18	69.23
C	外植体皱缩,有大量愈伤组织,浅黄、疏松、瘤状	28	23	82.21
D	外植体皱缩,有大量愈伤组织,黄绿、疏松、粒状	30	26	86.67
E	周边有一定愈伤组织,浅黄、致密、光滑	27	7	29.92

分析结果表明,沙枣叶片愈伤组织诱导培养采用 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 1 mg/L 可成功诱导出形态、质地正常的愈伤组织,采用 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L 诱导沙枣愈伤组织增殖效果较好.

3 讨 论

通过继代对 5 种不同培养基上形成的愈伤组织观察发现,C,D 培养基上的外植体形成的愈伤组织呈黄绿色,表面粗糙、瘤状,诱导率高,愈伤组织生长正常,增殖较快,推断它们可能是诱导沙枣叶片愈伤组织形成较合适的培养基.颜昌敬等^[11]采用沙枣离体茎、茎尖、子房作为外植体,已成功诱导出愈伤组织.本试验采用沙枣叶片也成功的诱导出愈伤组织,但对产生愈伤组织后诱导丛生芽的研究尚需进一步进行.

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:五十二卷第二分册[M].北京:科学出版社,1983:41-42.
- [2] 江苏新医学院.中药大辞典(上册)[M].上海:上海科学技术出版社,1997:11-62.
- [3] 新疆生物土壤沙漠研究所.新疆药用植物志:第2册[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,1981:761.
- [4] 张万年,刘泽鹰,王哲民.沙枣树药用价值和有效成分研究的进展[J].中草药,1986,17(7):41-44.
- [5] 李志香,沈翠平.多不饱和脂肪酸对人体的作用[J].生物学通报,1998,33(1):9-10.
- [6] 肖崇厚.中药化学[M].上海:上海科学技术出版社,1987.
- [7] 贾福平,贾翠萍.盐碱地造林树种及其特性[J].内蒙古林业,1995(1):26-27.
- [8] 潘晶明,刘奎钊,许洪民,等.沙枣花油成分的研究[J].新疆大学学报:自然科学版,1985(4):80-81.
- [9] 常兆丰,屠振栋.沙枣资源开发利用研究综述[J].甘肃林业科技,1994(2):30-40.
- [10] 黄俊华,买买提江,杨昌友,等.沙枣(*Elaeagnus angustifolia* L.)研究现状与展望[J].中国野生植物资源,2005,24(3):26-28,33.
- [11] 颜昌敬.植物组织培养手册[M].上海:上海科学技术出版社,1990:366-367.
- [12] 李康,陶秀冬.大沙枣组织培养及快速繁殖技术研究[J].新疆农业科学,1996(5):231-233.

【责任编辑:郭伟】