

青刺果促腋芽分枝快繁及生根诱导

曾妮, 李化, 唐琳*, 肖科, 陈放 (四川大学生命科学学院, 四川成都 610064)

摘要 研究青刺果的快繁技术。通过腋芽丛生方式对青刺果组织培养中种子的灭菌, 腋芽丛生, 壮苗培养, 生根诱导等进行了研究, 得出适合青刺果离体培养的培养体系。培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 的激素搭配比较适合青刺果的腋芽诱导, 平均每个外植体可得到 6~10 个丛生芽。培养基 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 明显促进茎的增粗和叶片的扩展。适宜的生根培养基为改良的 1/2MS+IBA 1.0 mg/L, 生根率可达 85%。生根苗经炼苗处理后移栽到蛭石:营养土(1:1)的花盆中, 成活率达 80% 以上。青刺果带腋芽的茎段丛生增殖效果好。在培养基中添加不同浓度的各种生长素对再生芽进行培养之后生根效果较好, 移栽成活率也较高。

关键词 青刺果; 组织培养; 腋芽丛生; 快速繁殖

中图分类号 Q943.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)27-08554-02

Research on the Enhanced Axillary Branching and Rooting Induction of *Prinsepia utilis* Royle

ZENG Ni et al (College of Life Science, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610064)

Abstract Explants from off-spring were used to study axillary bud proliferation, regenerated shoot and rooting in vitro. The results showed that seeds were firstly sterilized in 70% ethanol for 30s and in 0.1% HgCl₂ for 8 minutes, the episperm was pared and then it was cultured on MS base medium. The contamination rate was low and the survival rate was 80%. Multiple shoot induction was obtained in MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, with 6-10 shoots, respectively. Regenerated shoots were strengthened in MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L, then rooted in reforming 1/2MS+IBA 1.0 mg/L, and the ratio of rhizogenesis was 85%. After one-week trained, rooted-shoots were transplant into flowerpots with vermiculite and nourish soil (1:1). The survival rate could achieve 80%.

Key words *Prinsepia utilis* Royle; Tissue culture; Axillary shoot proliferation; Intermediate propagation

青刺果(*Prinsepia utilis* Royle), 属蔷薇科扁核木属^[1]。有研究表明, 青刺果种籽油富含多种不饱和脂肪酸, 是优质的保健食用油^[2-3]; 青刺果油还含丰富的棕榈酸, 是较好的化妆品基础油料^[4]。关于青刺果的人工栽培已有报道, 即利用播种^[5-7]以及扦插等繁殖方式进行人工栽培, 但会受到自然环境、种质资源的影响。笔者通过腋芽丛生的方式对青刺果进行离体繁殖研究, 得出适合青刺果离体培养的培养体系。

1 材料与与方法

1.1 实验材料 青刺果成熟种子, 由四川大学资源生物学与生物制药工程重点实验室提供。

1.2 实验方法

1.2.1 种子消毒及无菌苗培养。 将青刺果种子置 70% 酒精表面消毒 30 s, 弃去酒精, 再用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒 5~8 min 后, 用无菌水冲洗 4 次。剥去种皮, 将种子接种在 MS 培养基中。培养基蔗糖浓度 3%, 琼脂浓度 0.8%, pH 值 5.8, 培养温度为(28±1)℃, 光照度 2 000 lx, 光照时间 12 h/d。

1.2.2 诱导腋芽丛生。 待无菌苗长出 5~6 片真叶, 分别取 1 cm 长的茎尖, 带一个腋芽的茎段, 完整叶片, 接种入丛生诱导培养基①~⑧中进行培养, 培养方式同“1.2.1”, 1 个月后统计腋芽诱导量。

1.2.3 壮苗培养及生根诱导。 将丛生芽分离, 接种入壮苗培养基中, 1 个月后, 待再生芽长粗壮且叶片扩展后, 转入生根培养基中进行生根诱导, 培养方式同“1.2.1”, 1 个月后, 统计生根情况。

1.2.4 炼苗与移栽。 拧松培养瓶瓶盖, 将生根苗炼苗 3 d 后取出, 清水浸泡 30 min, 完全洗去根上附着的培养基, 转入混有蛭石和腐殖土(1:1)的花盆中, 用烧杯罩住, 每日用清水喷洒, 1 周后揭去烧杯, 保持湿润和足够光照。

2 结果与分析

2.1 消毒方式对种子成苗的影响 青刺果其果皮较坚硬, 尖端有裂缝, 若直接消毒之后再剥去种皮接种, 污染率较高; 若剥去果皮及种皮再进行消毒接种, 污染较少, 但对种子的伤害较大, 成苗率较低。因此选择剥去果皮之后消毒 5~8 min, 无菌水洗去残留消毒剂后剥掉种皮接种, 这样的方式消毒效果较好, 且成苗率较高(表 1)。

表 1 消毒方式对种子成苗的影响 %

消毒方式	成苗率	污染率
剥去果皮后消毒	30.0	57
剥离种皮后消毒	45.7	8
消毒后剥离种皮	85.5	15

注: 为培养 25 d 后统计(基本培养基为 MS 培养基)。

2.2 激素对比对腋芽丛生诱导的影响 由表 2 得, 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 的激素搭配比较适合青刺果的腋芽诱导, 外植体在叶腋处均能诱导出腋芽, 在添加了 KT 的培养基中, 没有出现腋芽明显增多的情况, 且与单独使用不添加 KT 的培养基诱导出的腋芽无明显差异。在 MS+6-BA 2.0 mg/L

表 2 不同激素对比对青刺果腋芽诱导的影响

培养基	激素浓度//mg/L			接种外植体数//个	诱导腋芽数//个	平均诱导腋芽数//个
	6-BA	NAA	KT			
①	0.5	0.1		20	45	2.25
②	1.0	0.1		20	85	4.25
③	2.0	0.1		20	152	7.60
④	2.0	0.1	1.0	20	92	4.60
⑤	2.0	0.2		20	98	4.90
⑥	2.0	0.2	1.0	20	95	4.75
⑦	1.0	0.2	0.2	20	70	3.50
⑧	1.0	0.2		20	75	3.75

注: 为培养 1 个月后统计(基本培养基为 MS 培养基)。下表同。

+NAA 0.1 mg/L 培养基的基础上, 无论是降低 6-BA 的浓度至 0.5 mg/L 或增加 NAA 的浓度至 0.2 mg/L, 腋芽诱导的效果都不太好, 腋芽增殖不明显。

基金项目 国家“十五”科技攻关课题。

作者简介 曾妮(1982-), 女, 四川泸县人, 硕士研究生, 研究方向: 植物发育与天然产物。* 通讯作者, E-mail: tangl66@sina.com。

收稿日期 2007-04-18

2.3 不同外植体的腋芽丛生诱导效果 由表 3 可见,单独的叶片不能诱导出芽;顶芽的诱导率较高,但易出现莲座现象,且诱导得到的芽较小,不利于壮苗和生根诱导;带腋芽的茎段诱导效果很好且诱导产生的芽较强壮,诱导出的再生芽在叶腋处又再生出芽。最适合用于丛生诱导的外植体为:带腋芽的茎段(带 1~2 个叶片的茎段)。

表 3 不同部位外植体的诱芽效果 个

外植体部位	接种外植	诱导腋芽	外植体平均 诱导数
	体数	数	
顶芽	20	145	7.25
带腋芽的茎段	20	178	8.90
叶片	20	0	0

2.4 壮苗培养及生根诱导 腋芽丛生后得到的外植体普遍较纤细瘦弱,故在生根前转入壮苗培养基中,使之较强壮且叶片增多。实验发现,MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基用于壮苗培养,效果较好,接种入该培养基中的外植体表现出茎干增粗,叶片扩展,叶片颜色由浅绿向深绿转变的现象,其健壮程度对生根诱导有一定的促进效果。

壮苗之后得到的再生苗在生根诱导时,采用了无激素的 MS 和 1/2MS 基础培养基,在此基础上也试用了不同激素不同浓度组合的培养基,均未能诱导出根。最终在改良的 1/2MS + IBA 1.0 mg/L 的培养基中,成功诱导出根,40 d 后统计生根结果,平均每株苗有 5~6 条 1~2 cm 的根,生根率达 85% (图 1)。



图 1 改良 1/2MS 培养基中生根情况

2.5 培养苗的炼苗和移栽管理 待植株根系长势良好,活力旺盛的时候,拧松培养瓶瓶盖进行炼苗,5 d 后移出生根苗,置清水中浸泡 1 h,彻底洗去根上附着的培养基,将苗移栽到蛭石:营养土(1:1)的培养基质中,每天早晚喷水,并以烧杯覆盖,保持湿润,1 周后揭去烧杯,3 周后观察,发现青刺

果叶片颜色变深绿,并且茎尖长出新叶,生长状态良好,1 个月,再生苗叶腋处出现枝刺(图 2)。

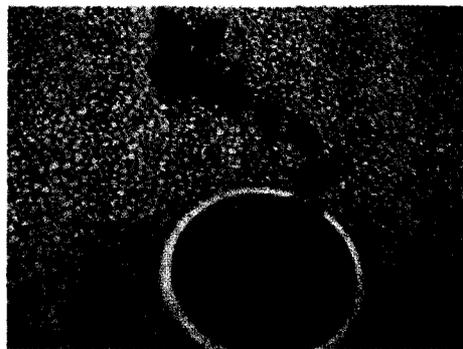


图 2 生根苗移栽 1 个月

3 讨论

实验表明,青刺果带腋芽的茎段丛生效果较好,在增殖的过程中,腋芽丛生的不定芽在叶腋处又会产生不定芽,从而在短时间内得到较多的再生苗,为扩大培养提供了条件。实验中曾试过多种培养基以及多种激素的组合,对种子,叶片,茎段等进行愈伤诱导,最终未能顺利诱导出愈伤组织,表明青刺果的愈伤诱导较困难,需进一步探究。

青刺果再生苗的生根诱导是该实验的关键环节,青刺果是落叶灌木,其再生芽的生根诱导较困难,在无激素的培养基中未诱导出根,推测其内源激素较低,故添加一定量的生长素,在培养基中添加各种生长素和多种浓度进行培养后,最终在改良的 1/2MS + IBA 1.0 mg/L 培养基中诱导出根,且生根效果较好,生根率达 85%,移栽成活率也较高。虽然青刺果抗逆性强,耐旱耐涝耐贫瘠^[5],但其幼苗没有木质化,所以培养基质不能太保水,否则根及泥土下的部位均会腐烂,透水透气较好的培养基质是试管苗移栽成活的必要条件。

目前对于青刺果的开发利用已有诸多报道,青刺果作为多种功能油用药用植物前景广阔,扩大其资源势在必行。

参考文献

- [1] 傅立国,洪海.中国高等植物:第六卷[M].青岛:青岛出版社,2003:750-751.
- [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,1999:1239.
- [3] 刘刚,王庆旭,杨立成,等.青刺尖种籽油抗缺氧生理活性的研究[J].西南农业大学学报,2002,24(6):548-550.
- [4] 詹琳.青刺果油料的研究[J].武汉工业学院学报,2001(3):25-26.
- [5] 董丽萍.大理州野生青刺果经济价值及栽培技术初探[J].林业调查规划,2004(增刊):287-288.
- [6] 黄菊.怎样栽培青刺果[J].云南林业,2000,21(4):18.
- [7] 范志远,习学良,欧阳和,等.青刺果的植物学特性及其人工栽培技术[J].西部林业科学,2005,34(4):47-52.
- [8] 顾宝根.生物技术对未来农药的影响[J].世界农药,2000(2):27-29.
- [9] 张文,杨志荣,朱文,等.类产碱假单胞杀虫物质的分离纯化和鉴定[J].微生物学报,1998,38(1):57-62.
- [10] 朱丽云,孙培龙.微生物农药微胶囊技术及其应用前景[J].浙江林业学院学报,2002,19(1):109-112.
- [11] 黄大.基因工程正在开辟植物病虫害防治的新途径[J].植物保护,1999,25(1):34-36.
- [12] 孙英健,刁晓平,沈建忠.阿维菌素 Bla 对土壤微生物和蚯蚓的影响[J].应用生态学报,2005,16(11):2140-2143.
- [13] SUN YINGJIAN, DIAO XIAPING. Bioaccumulation and elimination of avermectin Bla in the earthworms[J]. Chemosphere, 2005(60):699-704.
- [14] 佟振轩,曾艳君.宁康霉素对保护地番茄灰霉病的防治效果[J].辽宁农业科学,2005(4):60-61.

(上接第 8541 页)