

• 植物生理与生物技术

文冠果组培快繁体系的建立

卢影影, 金华, 郭建磊, 白鑫磊

(大连民族大学 环境与资源学院, 辽宁 大连 116600)

摘要:为了建立高效稳定的文冠果无性快繁体系,以4周苗龄的文冠果实生苗嫩茎为外植体分别进行了外植体的消毒、不定芽诱导和生根诱导试验。结果表明:70%酒精振荡消毒30 s后用0.1%HgCl₂振荡消毒7 min时,消毒效果最佳,茎段染菌率为6.67%,而且茎段无死亡;WPM+6-BA1.0 mg·L⁻¹+IBA1.0 mg·L⁻¹+IAA2.0 mg·L⁻¹最适于芽的诱导,出芽率为94.44%,经生根诱导可产生健壮根系。本研究对文冠果的规模化快速繁殖有重要的参考意义。

关键词:文冠果;嫩茎;快繁;不定芽

中图分类号:S565.9 文献标识码:A DOI编码:10.3969/j.issn.1006-6500.2018.01.001

Establishment of Tissue Culture and Rapid Propagation System of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge

LU Yingying, JIN Hua, GUO Jianlei, BAI Xinlei

(College of Environment and Resource, Dalian Nationalities University, Dalian, Liaoning 116600, China)

Abstract:To establish a stable and efficient rapid propagation system of the *Xanthoceras sorbifolia*, 4 weeks seedling tender stem of *Xanthoceras sorbifolia* were used as explants, the experiment of explants disinfection, adventitious bud induction, and rooting induction were conducted. The results showed that: reelingly disinfect 30 s with 70% alcohol, and then reelingly disinfect 7 min with 0.1% HgCl₂ had the best disinfection effect, the contamination rate was 6.67%, and there was no stem death; WPM+6-BA1.0 mg·L⁻¹+IBA1.0 mg·L⁻¹+IAA2.0 mg·L⁻¹ medium was the most suitable for adventitious bud induction, the induction rate was 94.44%. The root induction could produce strong root system. The study had important referenced values for mass rapid reproduction of the *Xanthoceras sorbifolia*.

key words: *Xanthoceras sorbifolia* Bunge; tender stem; rapid propagation; adventitious bud

文冠果 (*Xanthoceras sorbifolia*) 为无患子科 (Sapindaceae) 文冠果属 (*Xanthoceras*)^[1], 主要分布在中国北部, 具有较强的适应性和抗逆能力, 寿命长, 在黄土高原、沙地和石质山区等瘠薄多石且干旱的地方均能生长, 是我国水土保持和防沙、改造环境的重要优良树种。文冠果种子含油率高达30%~60%, 种仁含油率高达55%~66%, 被誉为“北方油茶”, 果油脂肪酸含有豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻油酸等, 可以用来生产生物柴油, 也是重要的生物质能源树种^[2]。文冠果含有丰富的蛋白质和氨基酸, 枝条、叶子、果壳等部位的

提取物有抗病毒、防治心血管疾病和增强记忆力等功效^[3], 可应用在食品、医药和化工等领域。由于近年来石油资源日益枯竭, 文冠果作为含油量非常高的生物柴油原料而备受重视, 但文冠果幼树落花十分严重, 种源严重不足^[4]。文冠果快繁体系的建立可以实现文冠果高效快速繁殖, 是解决种源不足问题的有效途径。本研究采用文冠果实生苗的嫩茎为外植体, 通过确定消毒方法、筛选诱导不定芽和诱导生根的最适培养基, 建立一个稳定且高效的文冠果快繁体系, 为文冠果的规模化快速繁殖提供理论和技术支持。

收稿日期: 2017-07-06

基金项目: 国家级大学生创新创业项目(G201612026045); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(DC201501070202); 新疆维吾尔自治区科技援疆计划; 喀什地区文冠果沙漠种植技术研究(2016E02045)

作者简介: 卢影影(1994—), 女, 内蒙古通辽人, 在读本科生, 主要从事植物组织培养研究。

通讯作者简介: 金华(1971—), 女, 吉林延边人, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事植物遗传育种研究。

1 材料和方法

1.1 试验材料

文冠果种子由新疆奇台县文冠果种植基地提供。

1.2 试验方法

1.2.1 文冠果幼苗的培养 选择籽粒饱满、无病虫害的文冠果种子,80℃水浴烫种 10 min 后进行沙培种植,当长至 4 周苗龄时取茎段作为本试验的外植体。

1.2.2 外植体的消毒 将花盆中的文冠果苗剪下,将嫩茎切成长度为 2.5 cm 的茎段作为外植体,每个茎段上带有两个腋芽,在水中加洗洁精用流水冲洗 5~24 h,清洗好的茎段用 75%酒精消毒 30 s,无菌水冲洗 3 次,再用 0.1%的 HgCl₂ 分别消毒 3,5,7,9,11,13,15 min,无菌水清洗 5 次。将消毒后的茎段接种至芽诱导培养基:WPM+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 8.5 g·L⁻¹。每瓶接种 5 个茎段,3 次重复,25±2℃光照 12 h·d⁻¹ 培养,1 周后统计染菌情况。

1.2.3 文冠果不定芽的诱导 将消毒后的茎段接种至芽诱导培养基中,芽诱导培养基为:WPM+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+IBA 2.0 mg·L⁻¹+IAA 1.0 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 8.5 g·L⁻¹,其中 6-BA 浓度为 0,1.0,2.0 mg·L⁻¹;IBA 浓度为 0,1.0,2.0 mg·L⁻¹;IAA 浓度为 0,1.0,2.0 mg·L⁻¹,3 次重复,25±2℃

光照 12 h 培养,10 d 后统计腋芽诱导率。出芽率=发芽的节点数/接种的茎段节点数×100%。

1.2.4 文冠果的生根诱导 待芽长至 3 cm 左右时转入生根培养基:1/2WPM+IBA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹+Gln 300 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 8.5 g·L⁻¹,25±2℃光照 12 h·d⁻¹ 培养 20 d,当根系发出侧根时取出组培苗,用清水洗去根部培养基,移入蛭石和草炭为基质的营养钵中,最后移栽至花盆。

1.3 数据处理方法

试验数据用 Microsoft Excel 软件整理后,采用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析(ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 0.1%HgCl₂ 消毒时间对文冠果外植体消毒效果的影响

从表 1 可以看出,当 0.1%HgCl₂ 消毒时间低于 5 min 时,茎段染菌个数和染菌率显著高于其他时间处理,其他时间处理间差异不显著;当 0.1%HgCl₂ 消毒时间高于 9 min 时,茎段染菌率为零,但是茎段死亡数随着消毒时间延长而增多;只有当 0.1%HgCl₂ 消毒时间为 7 min 时,茎段染菌率低,且茎段无死亡。因此,70%酒精消毒 30 s,0.1%HgCl₂ 消毒 7 min 为最佳消毒处理。

表 1 消毒时间对文冠果外植体消毒效果的影响

编号	消毒时间/min	接种数/个	染菌数/个	染菌率/%	生长状况
1	3	5	2.33±1.53b	46.67±0.31b	无茎段死亡
2	5	5	3.00±1.00b	60.00±0.20b	无茎段死亡
3	7	5	0.33±0.58a	6.67±0.12a	无茎段死亡
4	9	5	0.00±0.00a	0.00±0.00a	个别茎段死亡
5	11	5	0.00±0.00a	0.00±0.00a	少量茎段死亡
6	13	5	0.33±0.58a	6.67±0.12a	茎段死亡数较多
7	15	5	0.00±0.00a	0.00±0.00a	茎段死亡数较多

注:同列中不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同激素组合对文冠果不定芽诱导的影响

外植体接种到芽诱导培养基上培养到第 10 天时不定芽生长状况出现显著差异。从表 2 可以看出,不同激素组合对外植体不定芽的诱导差异较大,处理 4 的芽诱导效果最好,显著高于对照组和处理 1,且不定芽的生长状态最好,芽体粗壮,平均长度为 1.8 cm;处理 2 和处理 3 出芽率较高,与处

理 4 差异未达显著水平,但不定芽的状态较差,芽体纤细,芽较短。因此,最佳芽诱导培养基为 WPM+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+IBA 1.0 mg·L⁻¹+IAA 2.0 mg·L⁻¹。

2.3 文冠果生根及移栽

将长度为 3 cm 左右芽切下转接到生根培养基,15 d 时茎段大部分基部膨大、出现愈伤组织,30 d 后可长出根系,挑选根系健壮的组培苗进行

表 2 不同激素组合对文冠果不定芽诱导的影响

处理编号	6-BA/(mg·L ⁻¹)	IBA/(mg·L ⁻¹)	IAA/(mg·L ⁻¹)	接种数/个	出芽数/个	出芽率/%	生长状况
CK	0	0	0	6	3.67±0.58a	61.33±0.10a	芽的状态较好
1	2.0	1.0	2.0	6	4.33±0.58ab	72.20±0.94a	芽小,生长缓慢
2	2.0	2.0	1.0	6	4.67±1.15abc	78.00±0.19ab	芽较小,生长较慢
3	1.0	2.0	1.0	6	5.00±0.00bc	83.00±0.00ab	芽体较小
4	1.0	1.0	2.0	6	5.67±0.58c	94.44±0.10b	芽体粗壮,长势好

注: 同列中不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

炼苗移栽, 3 d 后移栽至湿沙子为基质的花盆中, 移栽后长势良好, 叶色浓绿。



图 1 文冠果生根

3 结论与讨论

植物外植体表皮携带大量微生物且体内有内生菌, 消毒难度大^[5]。酒精、HgCl₂、次氯酸钠、氯气、抗生素等均有灭菌消毒的作用^[6], 常用作消毒试验消毒剂, 这些消毒剂如果消毒时间太长会导致外植体发生褐化, 在消毒试验中一定要权衡消毒效果和对外植体损伤程度这两个方面, 选出最佳的消毒剂和消毒时间组合。本研究中在花盆播种文冠果种子, 长出的文冠果幼苗不接触携带大量微生物的外界开放环境, 有助于降低污染, 本试验使用的消毒剂是 70% 的酒精和 0.1% 的 HgCl₂ 组合, 通过消毒试验筛选出最佳的消毒时间, 从而确定最佳的消毒方案。

激素是影响不定芽诱导效果的最重要因素, 大量研究表明, 在有些植物中, 生长素与细胞分裂素的合理配比能够达到非常好的诱导效果。程冉^[7]筛选出了文冠果芽诱导的最佳培养基和激素配比是 MS+BA1.0 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹。柳金凤等^[8]提出当 6-BA 浓度一定时, IAA 比 NAA 更会有利于诱导文冠果的萌芽, IAA 浓度为 0.8 mg·L⁻¹ 时, 萌芽的诱导率达到了最高。本研究采用文冠果实

生苗的嫩茎作为外植体, 生长状态旺盛, 更有利于芽诱导, 研究结果表明细胞分裂素 6-BA 和生长素 IBA、IAA 配合作用可以诱导出不定芽, 且在 6-BA1.0 mg·L⁻¹、IBA1.0 mg·L⁻¹、IAA2.0 mg·L⁻¹ 的激素组合时出芽率最高, 芽长势最好。

生根诱导是组织培养过程中一个非常关键的环节, 它直接关系到组培苗移栽的成活率, 更关系到组织培养试验的成败^[9]。以往的研究表明, 文冠果的组培苗生根特别困难^[10]。本试验结果表明, 采用低盐培养基添加氨基酸, 并配合不同激素配比最终成功诱导文冠果组培苗生根, 炼苗移栽后长势良好。本研究采用 4 周苗龄的文冠果实生苗嫩茎作为外植体, 成功建立了文冠果无性快繁体系, 对文冠果的工厂化育苗有一定参考意义。

参考文献:

- [1] 周庆源, 郑元润, 来利明, 等. 文冠果有性生殖特征的观察研究[J]. 西北植物学报, 2017, 37(1): 14-22.
- [2] 宋群雁, 殷奎德, 刘希全, 等. 文冠果无性繁殖技术的研究进展[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2011, 23(6): 8-11.
- [3] 王红斗. 文冠果的化学成分及综合利用研究进展[J]. 中国野生植物资源, 1998(1): 15-18.
- [4] 顾玉红, 高述民, 郭惠红, 等. 文冠果的体细胞胚胎发生[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(3): 311-313.
- [5] 潘娟, 李先源, 李名杨. 植物组织培养过程中常见问题及解决办法[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(6): 2392-2394.
- [6] 张寒霜, 赵俊丽, 李伟明, 等. 大蒜茎尖脱毒培养及快繁技术研究[J]. 华北农学报, 2006, 21(z2): 117-119.
- [7] 程冉. 文冠果的引种、快繁及优质丰产栽培技术体系研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2004: 31-32.
- [8] 柳金凤, 吴建华, 闵丽霞. 文冠果组培快繁技术研究[J]. 江苏农业科学, 2010(2): 52-54.
- [9] 黄永伟, 贾明仁, 王洪波, 等. 影响文冠果组织培养苗离体生根的因素[J]. 北方果树, 2010(4): 7-9.
- [10] 李朝晖, 史绍林, 王全玉, 等. 文冠果组培苗生根与移栽试验[J]. 防护林科技, 2011(6): 36-37.