

# 钟花樱组织培养再生体系的建立

闫道良<sup>1,2</sup> 王贤荣<sup>1</sup> 钦佩<sup>2</sup> 宰学明<sup>2</sup> 王光<sup>2</sup>

(1 南京林业大学森林资源与环境学院 2 南京大学盐生植物实验室)

**摘要:**对钟花樱组织培养再生体系进行研究,结果表明,BA/NAA 约为 10 时,即取 BA 0.8~1.0 mg/L, NAA 0.08~0.1 mg/L(单位下同),对芽的诱导有较好的效果,培养基组合为 MS+BA 1.0+NAA 0.1。在芽的增殖与伸长方面,筛选出较优的培养基组合为 1/2 MS+6-BA 1.0+NAA 0.1+GA<sub>3</sub> 0.5+肌醇 25,芽的增殖系数为 4.7,芽均高 1.314 cm。在此基础上通过 5 次连续继代培养,芽的增殖系数达到了 7.31,丛生芽诱导率 81.0%。钟花樱根的诱导试验表明,通过暗培养 3 d,以 1/2 MS+NAA 0.2+IBA 0.8+6-BA 0.01 的培养成份组合最适宜根的诱导,生根率达 90%。试验中低浓度的细胞分裂素 6-BA 对提高生根率是必要的。

**关键词:**钟花樱;组织培养;BA;NAA

**Regeneration System of Tissue Culture for *Cerasus cerasoides* var. *campanulata*** // YAN Dao-liang, WANG Xian-rong, QIN Pei, ZAI Xue-ming, WANG Guang

**Abstract:** The regeneration system of *Cerasus cerasoides* var. *campanulata* was developed in this paper. The results indicated that the hormone combination in the culture medium had obvious effects on bud induction. Especially when the concentration ratio of BA and NAA is approximately 10, for example, BA 0.8~1.0mg/L, NAA 0.08~0.1mg/L, bud induction could be better. The optimal medium for bud induction is MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L, while for bud proliferation and bud elongation, the appropriate medium is 1/2MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L + Inositol 25 mg/L. Under this culture condition, the bud proliferation coefficient could reach 7.31, and cluster buds inducement rate 81.0%. The appropriate root induction medium is 1/2MS + NAA 0.2 mg/L + IBA 0.8 mg/L + 6-BA 0.01 mg/L, the rooting rate could reach 90% after 3 days dark culture in this medium. It was also found that low concentration of 6-BA is essential for root inducement.

**Key words:** *Cerasus cerasoides* var. *campanulata*; Tissue culture; BA; NAA

**First author's address:** College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, 210037, Nanjing, China

钟花樱 (*Cerasus cerasoides* var. *campanulata* (Koidz) X. R. Wang et Shang) 为蔷薇科 (Rosaceae) 樱属落叶乔木,是亚热带树种,产浙江、湘南、江西、福建、广东、广西、台湾、琉球以及日本南部的鹿儿岛一带。钟花樱于初春开花,花大而密,颜色深红鲜艳,花萼钟状,是国产野生樱中观赏价值极高的樱属树种,因此,建立钟花樱的组培快繁体系,对开发利用及保护钟花樱野生资源具有重要的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 外植体的选择

以钟花樱种子为起始外植体,取胚接种在不含激素的 MS 基本培养基上。待小苗长到 4~6 cm 时,取 1.0~1.5 cm 的茎段作为增殖外植体。

### 1.2 培养基及培养条件

以 MS 为基本培养基附加琼脂 0.8%、蔗糖 3%,

其中用于生根的蔗糖为 2%, 121℃ 灭菌 20 min, pH 5.8~5.9。附加成分因培养的阶段和培养的目的不同而异。用透气性封口膜包扎接种管或接种瓶,温度 25±2℃,光照 1 200~2 000 lx,每天光照 13 h,其中根的诱导,暗培养 3 d,再进行正常光照。

### 1.3 芽诱导分化

切取茎段接种在基本培养基 MS 中,附加 6-BA 0.5、1.0、2.0、3.0(单位为 mg/L,以下同),NAA 0.01、0.05、0.1、0.5,共进行 16 个试验组合,每组 3 个重复。

### 1.4 芽的增殖与伸长

芽的增殖伸长以 1/2MS(大量元素减半)为基本培养基,分别附加 6-BA 2.0+NAA 0.1、6-BA 1.0+NAA 0.1+GA<sub>3</sub> 0.1、6-BA 1.0+NAA 0.1+GA<sub>3</sub> 0.5+肌醇 25、6-BA 1.0+NAA 0.1+GA<sub>3</sub> 2.0+肌醇 25,共进行 4 组试验,每组 3 个重复。

### 1.5 根的诱导

根诱导起始培养基为(1)1/2MS+NAA 0.5,(2)1/2MS+IBA 0.5,(3)1/4MS+NAA 0.5 和(4)1/4MS+IBA 0.5,每组 3 个重复,进一步以 1/2MS+NAA 0.2

收稿日期:2006-2-17

修回日期:2006-3-11

基金项目:南京林业大学创新基金资助(编号 010974011)。

第一作者简介:闫道良(1975-),男,博士生,从事植物资源开发利用与海滨湿地生态修复研究。

## 应用研究

为基本成分,分别附加 IBA 0.3、0.6、0.8、1.0、1.5 做激素筛选,每组 3 个重复。在前面的基础上,最后以 1/2MS + NAA 0.2 + IBA 0.8 为培养基成分,分别添加 6-BA 0.01、0.05、0.1、0.5,筛选出最佳根诱导培养基。

## 2 结果与分析

### 2.1 无菌苗的获得

胚接种后,2~3 d 胚根长出,4~5 d 胚芽长出,1 周左右小苗长到 1~3 cm。4~5 d 后,发现幼苗的下胚轴泛红,9 d 后胚根长 2.5 cm 左右,真叶展开 2 cm 左右,整个幼苗平均高 4.0 cm。由于子叶中有胚生长发育初期所需的营养,小苗生长快而健壮,有利于快速获得无菌外植体。

### 2.2 芽的诱导与分化

在 6-BA 浓度低于 2 mg/L 时,芽的分化较好,分化率较高(表 1),这时芽主要是从展开的叶腋处分化。当 6-BA 浓度大于 2 mg/L 时,芽主要是从叶腋和茎基处分化,分化率有所下降。主要是因为高浓度的细胞分裂素加速细胞分裂,在茎段的基部产生愈伤组织,使芽分化较少。组间在 BA 浓度相同的情况下,随着 NAA 的浓度升高,芽分化数是先升后降,同样在每一组内,在 NAA 浓度相同的情况下,随着 BA 浓度的升高,芽的分化数表现出同样的现象。这主要是因为细胞的生长或者是分化受到 BA 和 NAA 的相互作用,当两者比值较高时,有利于叶、芽的分化,比值较低时则有利于芽的生长。在 6-BA 和 NAA 不同的浓度组合中,当 6-BA 浓度为 0.5~1.0 mg/L, NAA 为 0.05~0.1 mg/L 时,芽的分化率最好,达 70%~80%。尤其在 6-BA 为 1.0 mg/L, NAA 为 0.1 mg/L 时,芽的分化率最高 80%,为最佳激素组合,其次是组 II 中的 2 号组合。

为进一步了解 6-BA 和 NAA 在高比值时对芽分化诱导的影响,选取前期使芽分化较好的两者比值为 10 的激素配合,共进行 5 组试验(表 2)。在 6-BA 为 0.8、1.0, NAA 分别为 0.08、0.1 时,芽的增殖率和芽均高都取得较好结果。虽然 5 号培养基两激素的浓度都有所提高,但 5 号中的茎段基部出现了愈伤组织,导致芽的分化率不高。方差分析表明,组间差异极显著( $p < 0.01$ )。对 5 个培养基的组合进行多重比较,用 LSR 测验法-SSR 值法检验结果:3 号比 5 号和 1 号差异显著,3 号与 4 号差异不显著。可见用 6-BA 为 0.8~1.0 mg/L, NAA 为 0.08~0.1 mg/L 的激素组合最好。

表 1 6-BA 和 NAA 不同浓度组合对芽分化的影响

编号	6-BA/ mg·L <sup>-1</sup>	NAA/ mg·L <sup>-1</sup>	6-BA /NAA	接种 数	分化 数	分化率/ %	
I 组	1	0.5	0.01	50	10	5	50
	2	1.0	0.01	100	10	6	60
	3	2.0	0.01	200	10	5	50
	4	3.0	0.01	300	10	4	40
II 组	1	0.5	0.05	10	10	7	70
	2	1.0	0.05	20	10	8	80
	3	2.0	0.05	40	10	6	60
	4	3.0	0.05	60	10	5	50
III 组	1	0.5	0.1	5	10	5	50
	2	1.0	0.1	10	10	8	80
	3	2.0	0.1	20	10	6	60
	4	3.0	0.1	30	10	5	50
IV 组	1	0.5	0.5	1	10	0	0
	2	1.0	0.5	2	10	4	40
	3	2.0	0.5	4	10	3	30
	4	3.0	0.5	6	10	2	20

表 2 6-BA/NAA 为 10 对芽增殖的影响

编号	6-BA/ mg·L <sup>-1</sup>	NAA/ mg·L <sup>-1</sup>	接种 数	统计 数	增殖 率	芽均 高/cm	生长 状态
1	0.1	0.01	28	60	1.143	0.551	无愈伤组织
2	0.5	0.05	33	130	2.939	0.615	无愈伤组织
3	0.8	0.08	25	105	3.200	0.671	无愈伤组织
4	1.0	0.1	33	136	3.121	0.673	无愈伤组织
5	2.0	0.2	20	63	2.150	0.568	有愈伤组织

### 2.3 丛生芽的诱导增殖与伸长

茎段培养 15 d 后逐渐有丛生芽发生,4 种培养基中,1 号增殖系数最低,仅为 1.5,丛生芽呈莲座状,生长缓慢,芽均高 0.532 cm。这可能是 BA 浓度较高,茎端基部有愈伤组织出现,阻碍了芽的增殖分化(表 3)。2 号培养基在减少 BA 用量时,加入低浓度的 GA<sub>3</sub>,增殖系数有所提高,芽高于 1 号培养基 0.172 cm。3 号培养基芽的增殖分化最好,生长最快,增殖系数最高(为 4.7),芽生长较健壮(芽高 1.314 cm)。4 号培养基在增加 GA<sub>3</sub> 用量的情况下,虽然增殖系数与 3 号相差不大,芽高有所增加,但芽长得纤细,不利于壮苗。可见 3 号培养基 1/2MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.1 + GA<sub>3</sub> 0.5 + 肌醇 25 为芽增殖与生长的最优化培养基。降低基本培养基中的大量元素配以适量的肌醇和低浓度的赤霉素,可以起到增殖与壮苗的双重功效。

表 3 不同激素组合对芽增殖与伸长的影响

编号	6-BA/ mg·L <sup>-1</sup>	NAA/ mg·L <sup>-1</sup>	GA <sub>3</sub> / mg·L <sup>-1</sup>	肌醇/ mg·L <sup>-1</sup>	增殖 系数	芽均 高/cm
1	2.0	0.1	—	—	1.5	0.532
2	1.0	0.1	0.1	—	2.5	0.704
3	1.0	0.1	0.5	25	4.7	1.314
4	1.0	0.1	2.0	25	4.5	1.501

## 2.4 继代培养

配制 6-BA、NAA、GA<sub>3</sub> 浓度分别为 0.8 ~ 1.0 mg/L、0.08 ~ 0.1 mg/L、0.5 mg/L 的 1/2MS 培养基,对激素试验后的芽苗进行连续的 5 次继代培养。随着继代次数的增加,丛生芽诱导率和增殖芽数不断增加,到第 5 代时,增殖系数达 7.31,丛生芽诱导率为 81.0%。

## 2.5 不定根的诱导培养

通过对培养基的筛选和激素组合比例的试验,诱导嫩茎生根率可达 90% 左右。茎段在培养 15 d 后,有根萌动。在培养基相同(1/2MS)、激素浓度(0.5 mg/L)一样的情况下,NAA 的效果要好于 IBA,生根率分别为 26.7%、20.0%。当 MS 培养基大量元素减为总量的 1/4 时,生根率下降,最低为 10.0%,这可能是随着大量元素的减少而不足以满足生根的需求。在生根的数量和生长状态方面,1 号到 4 号培养基相差较小,平均生根数为 3 条,根颜色有点泛黄且短,根长平均为 0.91 cm。所以经过这一组的试验,1/2MS + NAA 0.5 对生根较好。

当 NAA 和 IBA 都附加时,生根率与前一组试验相比有明显的提高(表 4)。随着 IBA 含量的增加,生根率也随着增加,在 IBA 为 0.8 mg/L 时,生根率最高,达 83.3%,这时的生根条数也最多,平均为 7 条,根均长 1.75 cm。根生长粗壮,根毛丰富,根呈现深黄色。当 IBA 从 1.0 mg/L 增到 1.5 mg/L,生根率及平均生根数有所下降,这说明根对高浓度的生长素较敏感,从而对根的生长产生抑制作用。在本组试验中,1/2MS + NAA 0.2 + IBA 0.6 ~ 0.8 是较为适宜的培养基。综上,通过第 1 组和第 2 组的生根试验,NAA 和 IBA 合理的配合有助于提高组培苗的生根率和根的质量。两者搭配使用比单独使用一种激素,最高生根率与最低生根率相差约 64 个百分点。

表 4 不同激素组合对生根的影响

编号	激素/mg·L <sup>-1</sup>		接种数	生根数	不定根条数	生根率/%
	NAA	IBA				
1	0.2	0.3	30	15	5	50.0
2	0.2	0.6	30	23	5	76.7
3	0.2	0.8	30	25	7	83.3
4	0.2	1.0	30	21	6	70.0
5	0.2	1.5	30	18	5	60.0

再以 1/2MS + NAA 0.2 + IBA 0.8 为主要成分,在培养基中添加 4 个浓度梯度的 6-BA(表 5),2 周后有根出现,低浓度 BA 的加入,生根率比第 2 组有所提高,当 BA 浓度为 0.01 mg/L,生根率最高达 90%,BA

为 0.5 mg/L 生根率降到 60%,可见低浓度 6-BA (0.01 mg/L)对生根有促进作用。生根的条数也有所增加,最高平均条数为 7.5。总的来说,根的长度与粗度都比不加 BA 要好。以上 3 组生根试验表明,诱导根的适宜培养基为 1/2MS + NAA 0.2 + IBA 0.8 + 6-BA 0.01。

表 5 不同浓度 6-BA 对生根的影响

培养基编号	6-BA/mg·L <sup>-1</sup>	接种数	生根率/%
1	0.01	30	90
2	0.05	30	87
3	0.1	30	83
4	0.5	30	60

## 2.6 组培苗的移栽

选择生长健壮的组培苗,揭去瓶口保护膜,室内炼苗 5 d 后,洗去根部附粘的培养基,移栽到消过毒的珍珠岩基质中,定期浇营养液。20 d 后统计幼苗成活率达 95% 左右,另大约 5% 的幼苗可能因基质消毒不严或幼苗缺乏应有的室内锻炼等原因,根部变成黑褐色而死。

## 3 结论与讨论

无菌苗的培养以种子为起始外植体,取胚接种在不加激素的 MS 培养基上,在种子萌动初期,子叶中含有的营养完全可以满足种子萌发的需要。通过离体胚培养试验,一方面种子不经过处理,可打破休眠,获取直接用于生产的小苗,克服刚采集来的种子不能及时直接用于生产中的困难,且胚萌发的小苗生长快速而健壮,10 d 可剪取大量无菌幼苗茎段作为外植体,做进一步扩繁。

芽诱导激素配比试验表明,高浓度的细胞分裂素与低浓度的生长素对芽分化有利,本试验当 BA/NAA 约为 10 时,取得了较好的效果。即取 BA 0.8 ~ 1.0 mg/L, NAA 0.08 ~ 0.1 的范围,培养基最佳组合为 MS + BA 1.0 + NAA 0.1。

MS 培养基因含有高浓度的无机盐如钾盐、铵盐和硝酸盐,并不是对所有外植体的生长都有利。本试验发现大量元素减半对芽的增殖是良好的,芽均表现正常生长。芽的增殖与伸长以 1/2MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.1 + GA<sub>3</sub> 0.5 + 肌醇 25 为培养基最为适宜,芽的增殖系数为 4.7,芽均高 1.314 cm。在此基础上通过 5 次连续继代培养,芽的增殖系数达到了 7.31,丛生芽诱导率 81.0%,可满足生产上大量繁殖的需要。

根的诱导在整个组培过程中占有重要的地位。钟花樱根的诱导试验表明,通过暗培养 3 d,1/2MS + NAA 0.2 + IBA 0.8 + BA 0.01 的培养成分组合最适宜

## 应用研究

根的诱导,生根率达 90%。试验中低浓度的细胞分裂素 6-BA 对提高生根率有很大促进作用。

## 参考文献

- [1]王贤荣. 中国樱属分类学研究[J]. 南京林业大学学报, 1999, 23(6):61-64.
- [2]殷学波. 南京地区樱花品种调查分类研究[D]. 南京:南京林业大学, 1995.
- [3]张铮,王喆之,张志勤,等. 澳洲青苹组织培养再生体系的研究[J]. 西北植物学报, 2004, 24(4):621-626.
- [4]袁小环,彭向永,李青,等. 甜樱桃组培苗的生根研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2004, 32(4):71-73.
- [5]闫国华,张开春,周宇,等. 中国樱桃“对樱桃”不定根离体再生植株的研究[J]. 园艺学报, 2003, 30(5):583-585.
- [6]黄守印,池景存,苏淑欣,等. 雾灵山野生樱花试管苗生根的初步研究[J]. 承德民族职业技术学院学报, 2002(3):56-57.
- [7]梅家训. 组培快繁技术及其应用[M]. 北京:中国农业出版社, 2003.

(通讯地址:210037,南京市龙蟠路 159 号)

## 枫香毛竹混交造林生长效应

刘国武

(福建省永安市小陶林业站)

**摘要:** 研究了我国枫香与毛竹混交造林生长效应。结果表明:竹木间生长发育良好,种间关系协调,混交林毛竹与毛竹纯林比立竹数、平均胸径、平均高分别增加了 13.1%、10.8% 和 21.9%;产笋量和产材量分别增加了 48.2% 和 22.5%。提高了毛竹林经营效益。混交林中枫香与纯林枫香比,平均胸径、平均树高分别增加了 44.2% 和 38.7%。由于株数较少,混交林枫香立木材积 50.073 5 m<sup>3</sup>/hm<sup>2</sup>,比纯林枫香的 64.635 0 m<sup>3</sup>/hm<sup>2</sup> 少,但未达显著水平,而单株材积混交林中枫香比纯林枫香提高了 177.1%。

**关键词:** 枫香;毛竹;混交林;生长效应

**Effects on Growth of Chinese Maple and Bamboo Mixture Plantation// LIU Guo-wu**

**Abstract:** The growth of plantation of *Liquidambar formosana* Hance mixed with *Phyllostachys heterocyela* var. *pubescens* (Mazal) was reported in this article. The result were shown that the mixed forest of maple with bamboo had excellent performance both on growth and species harmony. Compared with the pure bamboo plantation, the bamboo number, average DBH and height of bamboo individual in mixed forest were increased by 13.1%, 10.8% and 21.9% respectively, and the bamboo shoot yield and timber production were increased by 48.2% and 22.5% respectively. Compared with the pure maple stand, the average DBH and height of maple individual in mixed forest were increased by 44.2% and 38.7% respectively. Due to fewer number of individuals, the timber production of mixed forest was 50.073 5 m<sup>3</sup>/hm<sup>2</sup>, 64.635 0 m<sup>3</sup>/hm<sup>2</sup> lower than pure maple forest, while the individual volume of the mixed forest was increased by 177.1% than that of pure maple forest.

**Key words:** *Liquidambar formosana* Hance; *Phyllostachys heterocyela* var. *pubescens* (Mazal)owhi; Mixture plantation; Growth effect

**Author's address:** Xiaotao Forestry Station of Yong'an City of Fujian Province, 366000, Fujian, China

枫香(*Liquidambar formosana* Hance)系金缕梅科枫香属中国枫香树种,为高大落叶乔木,生长迅速,适应性较强。叶含挥发油,可提取芳香油,全株均可入药,木材色浅,结构细,易加工,旋刨性能良好,但原木易翘裂,是建筑家具和胶合板等的理想材料。木段、锯屑、枝梢可用来培养香菇、木耳等,树干制取树脂,供药用和香料用<sup>[1]</sup>,亦是优质的食用菌原料林。近几年

来国内外有识之士开展了枫香良种选育和快繁研究<sup>[2]</sup>,美国、日本等国家对同科同属的美国枫香(*L. styraciflua*)和苏合香(*L. orientalis*)的用途及栽培技术进行了研究<sup>[3]</sup>。中国枫香的人工栽培也得到了发展,但对枫香毛竹混交造林的生长效应试验研究尚未见过报道。毛竹[*Phyllostachys heterocyela* var. *pubescens* (Mazal)owhi]林经营周期短,见效快,一次投资,长期受益,是地方经济增长的亮点,近阶段在我国的南方诸省,毛竹得到了迅猛发展。人工干预强度大,加上从林地中获取大量的笋、竹,带走大量的营养元素,导

收稿日期:2005-04-18

修回日期:2006-01-10

作者简介:刘国武(1969-),男,助理工程师,主要从事林业资源管理工作。