

文章编号: 100F-1498(2002)01-0116-04

# 余甘子离体快速繁殖技术的初步研究

张守英, 姚小华, 任华东, 王开良

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

关键词: 余甘子; 离体繁殖

中图分类号: S723.1+32

文献标识码: A

余甘子(*Phyllanthus emblica* L.)为大戟科(Euphorbiaceae),叶下珠属(*Phyllanthus*),落叶小乔木或灌木。在我国主要分布于南亚热带地区<sup>[1]</sup>。余甘子果可生食、渍制或榨取果汁,果具清热解毒、降血压、防治肝胆病、收敛止泻作用,是重要的中药材和制药原料<sup>[2]</sup>,同时树皮为重要的栲胶原料。余甘子在干热河谷、石质山地等生态脆弱区已作为优良的生态经济兼用造林树种。我国余甘子良种化起步晚,虽然只有少数地区开始采用良种,但发展势头很快。近几年引进的国外品种已表现出较好的适应性和生长特性。进行品种苗的无性繁殖,是果用品种生产的最好方法<sup>[3]</sup>。目前,余甘子良种苗木多采用嫁接方法进行无性繁殖,扦插等无性繁殖方法并没有成功。余甘子离体繁殖的研究国内外甚少,仅限于印度 Sehgal-CB 对余甘子胚乳再生三倍体植株的研究<sup>[4]</sup>。本文是对余甘子离体快速繁殖进行探索性的研究,以其为国内外优良品种离体扩繁打下技术基础,从而进一步加速优良品种的繁殖和培育,缩短育种周期,为今后的遗传改良和生产良种化服务。

## 1 材料与方法

### 1.1 外植体的处理及培养条件

选取余甘子优良成熟种子放在培养皿中进行水培发芽,以15 d左右子叶刚展开的嫩芽为外植体材料,经 $\varphi=75\%$ 的酒精漂洗30 s,无菌水清洗3次,再用 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{HgCl}_2$ 溶液浸泡1.0~1.5 min,无菌水清洗3~5次,然后用无菌滤纸吸去材料表面水于诱导培养基上进行芽的分化,置于温度在 $25\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 、每日辅助光照12~14 h、光照强度为1600~2000 lx的培养箱中培养。

### 1.2 诱导及增殖培养

基本培养基选用MS,添加不同质量浓度的细胞分裂素BA( $0.1, 0.5, 1.0, 2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )、KT( $0.1, 0.5, 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )、生长素NAA( $0.1, 0.5, 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )、IAA( $0.1, 0.5, 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )、赤霉素 $\text{GA}_3$ ( $0.1, 0.5, 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),组合成不同的培养基配方共20个,pH值为5.7,蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,琼脂 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

收稿日期: 2000-07-30

基金项目: “948”项目“余甘子优良品种和育种材料引进(96415)”的部分内容

作者简介: 张守英(1968),女,黑龙江加格达奇人,助理研究员。

### 1.3 生根培养

生根培养基用 MS 和 1/2MS, 附加 NAA 0 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 或 IBA 0 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 组合的不同培养基配方。

## 2 结果与分析

### 2.1 不定芽诱导及继代增殖

外植体培养于诱导培养基中 15 20 d, 大部分胚轴子叶处普遍膨大愈伤组织化, 出现肉眼可见的突起, 有的已出现绿色的芽, 逐渐形成由多数芽组成的丛生芽群。而不含 BA 的培养基中只有高生长, 没有丛生芽的分化。当 BA 质量浓度在 1.0 2.0 mg·L<sup>-1</sup> 时, 不定芽分化过多细长并且基部愈伤化严重。在含有 GA<sub>3</sub> 的培养基中试管苗过细, 有些叶子变黄脱落, 形态不正常, 长势衰退。通过试验, 确定不定芽诱导最适培养基为 MS+ BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>, 分化率达 90% 以上, 30 50 d 以后逐渐伸长为 3 5 cm 嫩枝(见图 1)。表 1 是 10 个外植体在最适培养基中培育 51 d 形成不定芽的情况。



图 1 余甘子诱导的丛生芽

从表 1 中可以看出, 余甘子不定芽诱导在相同培养基中没有明显差异, 每培养 20 d 左右可增殖 2 3 倍。随着继代增殖代数的增加, 大多数不定芽生长正常, 枝长大于 2 cm 以上, 叶嫩绿。但有些芽的叶子变黄脱落或愈伤化, 这可能是由于外源激素在植物体中的积累造成的。试验采取两种培养基交替培养的办法, 先在 MS+ BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 培养 20 d, 再转入 MS+ BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 生长 20 d 为一个周期, 情况有所好转, 嫩枝伸长达 3 cm 以上。鉴于各外植体之间遗传与生理上存在着差异, 试验选取长势好增殖倍数多的材料进行继代增殖。按理论推算一年可增殖 8 代, 一个外植体以每代 2 3 倍的速度增殖, 经一年培养后可获得 500 6 000 个嫩枝。

### 2.2 根的诱导与移植

剪取粗壮(3 cm 以上)的嫩枝培养于生根培养基中, 以 1/2MS、MS 为基本培养基, 选用 NAA (0, 0.25, 0.5, 1.0 mg·L<sup>-1</sup>) 和 IBA (0, 0.25, 0.5, 1.0 mg·L<sup>-1</sup>) 两种生长素作生根试验(见表 2), 20 d 左右形成愈伤组织, 再经过 30 d 左右从愈伤组织分化形成根, 根较粗壮, 主根上附有须根(见

表 1 余甘子嫩芽诱导芽增殖数 个

外植体编号	观察日期(月-日)		
	04-22	05-12	06-02
1	1	31	44
2	1	15	29
3	1	22	38
4	1	16	30
5	1	15	23
6	1	29	42
7	1	17	24
8	1	14	30
9	1	16	26
10	1	27	61

图2)。

从表2中可以看出,低无机盐含量的培养基有利于余甘子的生根,植物激素 NAA  $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和 IBA  $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  对组培苗的生根有良好的促进作用,余甘子生根的最适培养基为  $1/2\text{MS} + \text{NAA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IBA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,生根率也只有30%左右,并且有一部分根容易脱落。从试验观察看,根是从愈伤组织团再分化形成的,还没有观察到直接从嫩枝的形成层长出的根。从解剖结构的剖面观察,根茎维管系统相通的植株的根不易脱落,反之容易脱落。试验采取在培养基中加入  $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  活性炭方法,可以减少愈伤组织的过多形成。余甘子根的分化比较困难,这一点在扞插繁殖上也表现出来。当根长到  $1.0 \sim 1.5 \text{ cm}$  时,将试管苗置于自然光下炼苗  $3 \sim 5 \text{ d}$ ,然后取出小苗清洗附在根上的培养基,移以至珍珠岩为基质的沙盆中,成活率只有13%左右。

表2 余甘子根系的诱导试验

基本培养基	植物激素种类及质量浓度		嫩枝数 /个	生根数 /个	生根率 /%
	NAA/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	IBA/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$			
1/2MS	0	0.25	10	2	20
	0.25	0	10	2	20
	0.25	0.25	10	3	30
	0.50	0.50	10	1	10
	1.00	1.00	10	0	0
MS	0	0.25	10	0	0
	0.25	0	10	0	0
	0.25	0.25	10	0	0
	0.50	0.50	10	0	0
	1.00	1.00	10	0	0



图2 余甘子诱导的根系

### 3 小结与讨论

(1)余甘子的嫩芽外植体在含 BA 的培养基上,附加一定质量浓度范围的 KT 或 NAA 或  $\text{GA}_3$  或 IAA,均能诱导出不定芽,对不定芽的分化无明显的影响。而在不含 BA 的培养基中,嫩芽外植体只朝正常方向发展,没有不定芽的分化,说明细胞分裂素 BA 对芽的分化起关键作用。但随着 BA 质量浓度的升高,抑制作用加强。因此,对于大多数树种来说,细胞分裂素是离体器官发生必须的外源激素,细胞分裂素与生长素的适当配比通常决定器官发生的类型。

(2)余甘子的生根率和移植成活率都不高,需进一步深入研究生根外植体的条件、影响生根的多方面因素及移植的各种条件。

(3)通过离体繁殖研究,一方面生产无根试管苗,可以为建立微枝繁殖体系提供大量材料,另一方面进一步解决生根问题,培育试管植株。

#### 参考文献:

- [1] 姚小华,叶金好,盛能荣,等. 余甘子优良类型选择[J]. 林业科学研究,1993,6(3):299-305  
 [2] 崔永忠,陈玉德,郑德蓉. 余甘子繁殖试验初报[J]. 林业科学研究,1997,10(1):93-95

- [3] 姚小华, 盛能荣. 我国余甘子良种现状和选育重点探讨[J]. 经济林研究, 1999, 17(1): 9-12
- [4] Sehgal CB, Sunilar Khurana, Syed Abbas N, et al. In vitro regeneration of triploid plantlets from the endosperm of *Emboica officinalis* Gaertn[J]. *Advances in Agricultural Research in India*, 1994, 2: 1-19
- [5] 陈振光. 果树组织培养[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987

## A Preliminary Study on Rapid Propagation *in vitro* of Emblic

ZHANG Shou-ying, YAO Xiao-hua, REN Hua-dong, WANG Kai-liang

(Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400, Zhejiang, China)

**Abstract:** Adventitious buds were induced by using tender buds emblic (*Phyllanthus emblica* L.) as explants with MS medium contained different concentration of BA and KT, GA<sub>3</sub>, NAA or IAA, of which MS medium combined with 0.5 mg·L<sup>-1</sup> of BA and 0.1 mg·L<sup>-1</sup> of NAA is suitable for adventitious buds induction, the rate of differentiation reached more than 90%. MS medium with 0.1 mg·L<sup>-1</sup> of BA and 0.1 mg·L<sup>-1</sup> of NAA is suitable for the growth of shoots, and 2-3 adventitious buds were regenerated in base. But rooting rate reached only about 30% by using 1/2 MS with 0.25 mg·L<sup>-1</sup> of NAA or with 0.25 mg·L<sup>-1</sup> of NAA and 0.25 mg·L<sup>-1</sup> of IBA.

**Key words:** emblic; propagation *in vitro*

## 《林业研究》(英文版) 征稿启事

《林业研究》(英文版) (Journal of Forestry Research) 是由东北林业大学主办, 吉林省林科院、辽宁省林科院和黑龙江省林科所协办, 国家教育部主管的英文林业学术期刊, 创办于 1990 年, 季刊。主要刊登: 森林经营、林木育种、造林、森林生态、森林土壤、森林保护、野生动物生态与管理、野生动物保护与利用、生物科学、木材科学、木材加工工艺、森林采运技术等方面的原始论文。同时, 也刊登研究综述、研究简报、会议消息、书评方面的稿件。

《林业研究》(英文版) 创刊以来, 一直受到广大作者及读者的关心与厚爱。经过不懈的努力, 本刊逐渐发展成为一种在国内外具有一定影响的英文林业学术期刊, 在宣传报道我国林业研究成果和促进国际学术交流方面发挥着重要作用, 国外订户和交流用户不断增加。本刊已入编美国生物学文摘 (Biological Abstracts)、美国化学文摘 (Chemical Abstracts)、国际英联邦农业文摘 (CAB Abstracts)、俄罗斯文摘杂志 (Abstract Journal of V I N I T I)、中国科学引文数据库、中国学术期刊文摘、中国生物学文摘、中国林业文摘、中国林业文摘 (英文版)、全国报刊索引、CNKI 中国期刊网、万方数据资源系统 (ChinaInfo) 数字化期刊群网, 并成为中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国科技期刊统计源期刊及《中国学术期刊 (光盘版)》全文收录期刊。

将《林业研究》(英文版) 办成国际化优秀期刊, 是我们和广大作者、读者共同的心愿和目标。尊敬的林业专家、学者, 扩大您在国际上的学术影响, Journal of Forestry Research 是您理想的选择, 您的投稿也是对本刊的最大支持。课题或基金论文稿件将会被优先采用。同时, 我们也诚恳的欢迎广大作者、读者关注我刊的发展。您的点滴建议都将成为我们工作的动力。让我们携起手来, 把《林业研究》(英文版) 办成精品学术期刊。

我们联系方式是:

网 页: <http://lyyj.chinajournal.net.cn>,

E-mail : jfr@mail.nefu.edu.cn; lyyj@chinajournal.net.cn

电 话: 0451-2191144; 传真: 0451-2190464

联 系 人: 柴瑞海, 朱虹, 宋福南

通信地址: 150040, 哈尔滨市和兴路 26 号东北林业大学《林业研究》编辑部