

文章编号:1001-1498(2005)01-0098-04

美国枫香茎段组织培养与植株再生

苏梦云

(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:美国枫香;茎段;组织培养

中图分类号:S722.3⁺7

文献标识码:A

Tissue Culture of Stem Segments and Plantlet Regeneration of *Liquidambar styraciflua*

SU Meng-yun

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

Abstract: The results obtained showed that browning rate of explants from stem segments with bud scale of seedlings of American sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) collected in April was lower, then it gradually raised after April. Inducing rate of explants callus in April and May were quicker than that in June to Oct. Controlling effects of oxidative browning on WPM medium supplemented with different antioxidant are as follows: ascorbic acid (5 mg L^{-1}) > mercapto ethanol (10 ml L^{-1}) > polyvinylpyrrolidone (PVP, 1 g L^{-1}) > active charcoal (1 g L^{-1}). Oxidative browning rates changed from 27.5% (CK) into 2.5%, 15%, 20% and 20%, respectively. Inducing rate of calli and adventitious buds on WPM medium supplemented BA (6-Benzyl aminopurine) and Kinetin (KT) was higher than that without KT in the medium. A large number of calluses and more adventitious bud of Explants on WPM medium containing 1 mg L^{-1} BA, 0.5 mg L^{-1} KT, 0.2 mg L^{-1} , 0.2 mg L^{-1} IBA and 5 mg L^{-1} ascorbic acid could induce not only a large number of callu (inducing rate: 92%) but also more adventitious buds. The medium supplemented with 1 mg L^{-1} indole-3-acetic acid (IAA) favored the forming of clumping shoots. Plantlets rooted well on 1/2 MS medium containing 0.2 mg L^{-1} naphthalene acetic acid (NAA), 0.3 mg L^{-1} indole butyric acid (IBA), and 5 g L^{-1} active charcoal. The rooting ratio was 75%.

Key words: *Liquidambar styraciflua*; stem segments; tissue culture

美国枫香 (*Liquidambar styraciflua* L.) 为金缕梅科 (Hamamelidaceae) 枫香属 (*Liquidambar* L.) 落叶乔木。生长迅速, 树高 18~20 m, 夏末叶片变为红、黄、紫等多种混合颜色, 红叶期长, 喜阳, 适合酸性至中性土壤, 广泛分布于北美南部以及墨西哥、中美洲至洪都拉斯的高海拔山区, 是胶合板和造纸的良好用材^[1], 也是良好的造林绿化树种, 很有发展前景。我国华北、华东等地区已有引种栽培, 主要采用常规繁殖方法。本文通过诱导丛生芽与植株再生, 为美国枫香的快速繁殖提供了一条有效途径。

1 材料与方法

1.1 外植体及其消毒

实验材料以本所试验苗圃 2 年生苗的茎段为外植体, 从 4 月至 10 月, 每月中旬采取树冠上部侧枝, 用洗涤剂洗刷后, 流水冲洗 30 min, 切取带腋芽茎段, 先用体积分数为 75% 酒精浸泡 10 s, 再用 1 g L^{-1} 的升汞消毒 10 min, 无菌水冲洗 4 次, 吸干, 接种到有关的培养基上。每个处理 10 瓶, 每瓶接 4 个外植体。

收稿日期: 2003-12-10

基金项目: 耐水湿、耐盐碱优良树种资源引进(编号 2000-04-15, 948 项目)

作者简介: 苏梦云(1942—), 女, 福建莆田人, 研究员。

1.2 培养条件

以 WPM 为基本培养基,蔗糖 30 g L^{-1} ,琼脂 7.5 g L^{-1} ,不同培养阶段添加不同配比的 BA、KT、NAA 和 IBA。pH 值 5.8,培养温度: 25 ± 1 ,每日照光 12 h,光强度 $1500 \sim 2000 \text{ lx}$ 。

2 结果与分析

2.1 生长调节物质组合对外植体初代培养的影响

美国枫香 2 年生苗嫩枝茎段在 BA、KT 和 IBA 不同组合的 WPM 培养基上培养 15 d,已有愈伤组织形成,40 d 有的外植体已产生不定芽。由表 1 可知,在加入生长调节剂组合 4 (BA 2.0 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1})和组合 9 (KT 2.0 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1})的培养基中,愈伤组织诱导率接近 80%,在组合 3 (BA 1.0 mg L^{-1} + KT 1.0 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1})中,愈伤组织诱导率达到 91%,而且有不定芽形成。以 WPM + BA 1.0 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} (组合 2)和 WPM + BA 2.0 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} (组合 5)两种培养基上的效果最好,不仅愈伤组织诱导率为 92%,而且还有较多不定芽形成。

表 1 不同生长调节物质组合对外植体愈伤组织诱导率的影响

处理/ (mg L^{-1})	愈伤组织诱导率/ %		生长表现
	15 d	40 d	
1. BA 1.0 + IBA 0.2	25.0	85	
2. BA 1.0 + KT 0.5 + IBA 0.2	47.5	92	多数外植体形成不定芽
3. BA 1.0 + KT 1.0 + IBA 0.2	42.5	91	个别外植体形成不定芽
4. BA 2.0 + IBA 0.2	37.5	79	
5. BA 2.0 + KT 0.5 + IBA 0.2	42.5	92	多数外植体形成不定芽
6. BA 2.0 + KT 0.5 + IBA 0.2	37.5	91	个别外植体形成不定芽
7. KT 1.0 + IBA 0.2	27.5	76	
8. KT 1.0 + BA 0.5 + IBA 0.2	30.0	88	
9. KT 2.0 + IBA 0.2	40.0	78	
10. KT 2.0 + BA 0.5 + IBA 0.2	40.0	90	
11. KT 2.0 + BA 1.0 + IBA 0.2	37.5	89	

注:愈伤组织诱导率是指形成愈伤组织的外植体数占外植体总数的百分比。外植体总数为 40 个。

2.2 不同采样时期对外植体初代培养和褐变的影响

植物,特别是木本植物组织在切割时会分泌一些酚类物质或通过酶催化或在空气中自动氧化成醌,使外植体产生褐变,严重地影响培养物的分化能力^[2]。在美国枫香的组织培养中也存在外植体褐变现象。试验比较了不同采样时期对外植体褐变的影响,从 4 月至 10 月分别采样,在 WPM + BA 1.0 mg L^{-1} + KT

0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} 的培养基上培养 15 d,观察愈伤组织形成和褐变现象。结果表明:从 4 月到 7 月,外植体褐变程度逐渐加重,外植体褐变率从 9.5% 上升为 15%。4—5 月的外植体形成愈伤组织的能力要比 8 月份以后采取的外植体强(表 2)。

表 2 采样时间与外植体褐变的关系

日期(月-日)	愈伤组织/ %	褐变率/ %
04-15	47	9.5
04-28	50	11.0
05-21	49	14.0
06-19	45	16.5
07-22	40	15.0
08-19	29	7.0
09-20	14	7.5
10-10	16	7.0

注:以 40 个外植体进行统计。

从表 2 的结果可以看出,随着气温逐渐升高,枝条生长迅速,代谢活动旺盛,形成愈伤组织的能力较强,但外植体也容易产生褐变。8、9 月份枝条木质化程度逐渐加深,愈伤组织形成的速率减弱,褐变程度也相应地减弱。10 月虽然采取的二次抽梢的嫩枝茎段,但外植体形成愈伤组织的能力和褐变程度明显减弱,这可能与气温降低,生理代谢活动减弱有关。

2.3 几种防酚类氧化物质对外植体褐变的影响

外植体的褐变,实际上是酚氧化所引起的毒害。本试验参照作者在木兰科上的研究结果,采用 4 种不同类型的抗酚类氧化物质:活性炭 1.0 g L^{-1} ,聚乙烯吡咯烷酮(PVP) 1.0 g L^{-1} ,抗坏血酸 5 mg L^{-1} 和巯基乙醇 1% (体积分数) 分别加入到 WPM + BA 1 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} 的培养基中,于 5 月份取外植体进行试验。培养 25 d 后,观察外植体的褐变率;40 d 后,观察愈伤组织诱导率和不定芽形成情况。结果表明:抗坏血酸的抗褐变效果最好,其次是巯基乙醇,活性炭和 PVP 的抗褐变效果较差。它们的褐变率从对照的 27.5% 分别下降为 2.5%,15% 和 20%。未褐变的外植体 90% 以上都能形成愈伤组织,但以抗坏血酸处理形成愈伤组织的能力最强,形成的不定芽也较多(表 3)。

表 3 几种防褐变物质对外植体褐变的影响

处理	褐变率/ %	愈伤组织/ %	不定芽/ %
活性炭	20.0	90.0	56
PVP	20.0	92.5	57
抗坏血酸	2.5	97.5	77
巯基乙醇	15.0	95.0	63
对照	27.5	92.5	57

2.4 丛生芽诱导

将初代培养 50 d 获得的不定芽,转入到下列添加 5 mg L^{-1} 抗坏血酸的培养基上:

1. WPM + BA 1.0 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} ; 2. WPM + BA 1.0 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} + NAA 0.3 mg L^{-1} ; 3. WPM + BA 1.0 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} + IAA 1 mg L^{-1} ; 4. WPM + BA 1.0 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} + GA 1.0 mg L^{-1} ; 5. WPM + BA 1.0 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} + NAA 0.3 mg L^{-1} + IAA 1.0 mg L^{-1} 进行培养,培养 35 d 即有丛生芽形成,以 3 号培养基效果最好,丛生芽

诱导率达 85%,芽生长较好,增殖系数为 3~4 倍,其次是 1 号和 5 号培养基。

2.5 生根诱导及完整植株形成(图 1)

丛生芽长到约 2.0 cm 时,即有 1~2 个叶片展开。选取健壮的芽切成单株转接到下列生根培养基上: 1. $1/2\text{MS} + \text{NAA } 0.5 \text{ mg L}^{-1}$; 2. $1/2\text{MS} + \text{IBA } 0.5 \text{ mg L}^{-1}$; 3. $1/2\text{MS} + \text{NAA } 0.2 \text{ mg L}^{-1} + \text{IBA } 0.3 \text{ mg L}^{-1}$ 。3 种培养基均加入 10 g L^{-1} 活性炭。以 3 号培养基诱导生根的效果较好,生根率为 75%,一般可长出 4~5 条根,而在 1 号和 2 号培养基上的生根率只有 40%。

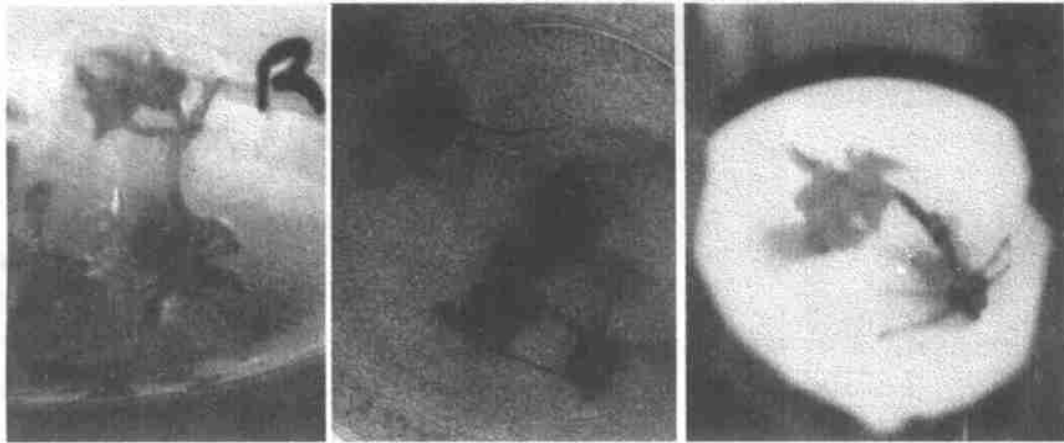


图 1 美国枫香组培苗

左:全苗;中:从培养瓶底部拍摄根部;右:苗取出瓶外拍摄

3 小结

外植体的褐变是木本植物组织培养中经常出现的现象,严重地影响着木本植物特别是热带木本植物组织培养的成功率,因而有人认为能否控制外植体的褐变是植物组织培养能否成功的关键^[3]。在本试验中,于 4 月份采取的美国枫香外植体的褐变率较低,而以后逐渐增高,这与植物生长发育的生理特性有关。外植体的褐变,除了要导致自身死亡外,并向培养基中分泌褐色物质,影响其它外植体的分化;但未褐变的外植体及时转接后,在适合的培养基上,90%的外植体均能诱导形成愈伤组织,所以控制褐变非常重要。对于美国枫香的组培,在 4 月份采取外植体是比较适宜的。在美国枫香组织培养中,抗坏血酸有明显的防止外植体褐变的作用,这与天竺葵 (*Pelargonium × hortorum* Bailey)^[4]、杂交鹅掌秋

(*Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. × *Liriodendron tulipifera* L.)^[5] 上的结果类似。巯基乙醇、PVP、活性炭均有一定的防褐化作用,但在加活性炭的培养基中,外植体的分化能力有所下降,这可能与活性炭对培养基中的生长调节剂的吸附有关^[6]。对美国枫香而言,抗氧化剂更能有效地控制外植体的褐变。

在附加 BA 1.0 mg L^{-1} + KT 1.0 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} 的 WPM 培养基上,愈伤组织的诱导率,要高于附加 BA 2.0 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} 和附加 KT 2.0 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} 的两类培养基(见表 1),表明 6-BA 与 KT 配合使用比各自单独使用的效果好,特别是以 BA 1.0 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.2 mg L^{-1} 效果最好,但 KT 超过 0.5 mg L^{-1} 时,效果略有下降,这与山茱萸 (*Macrocarpium officinalis* (Sieb. et Zucc.) Nakai) 的培养结果相同^[7]。在丛生芽诱导培养时添加 IAA 或 GA,能促进诱导出的

丛芽生长健壮,但以 WPM+BA 1.0 mg L⁻¹+KT 0.5 mg L⁻¹+IBA 0.2 mg L⁻¹+IAA 1 mg L⁻¹效果最佳。NAA 和 IBA 配合使用有利于美国枫香提高生根率,以 1/2MS+NAA 0.2 mg L⁻¹+IBA 0.3 mg L⁻¹的培养基比较合适。

参考文献:

- [1] 陈凤毛,刘亮东,高捍东.美国枫香苗木培育技术研究概况[J].林业科技开发,2001,15(4):9~11
- [2] 高国训.植物组织培养中的褐变问题[J].植物生理学通讯,1999,35(6):501~506
- [3] Debergh P C, Read P E. Micropropagation[A]. In: Debergh P C, Zimmerman R H (eds) Micropropagation[C]. Kluwer Academic Publishers, 1991:1~3
- [4] Hildebrande V, Hamey P M. Factors affecting the release of phenolic exudates from explants of *Pelargonium hortorum* Bailey 'Sprior Scarlet' [J]. J Hort Sci, 1988, 63(4):651~657
- [5] 陈金慧,施季森,诸葛强.杂交鹅掌楸的不定芽诱导及植株再生[J].植物生理学通讯,2002,38(5):459
- [6] Preil W, Engehardt N. Meristem culture of azaleas (*Rhododendron Simsii*) [J]. Acta Hort, 1977, 73:203~207
- [7] 薛建平,张爱民,王月辉,等.山茱萸组织培养技术的研究[J].中国中药杂志,2003(2):101~103

欢迎订阅 2005 年《林业科学研究》

《林业科学研究》是由中国林业科学研究院主办的营林科学综合性学术刊物。主要任务是及时反映以中国林科院为主的营林科学最新研究成果、学术论文和研究报告、科技动态和信息等,促进国内外学术交流,开展学术讨论,繁荣林业科学,更好地为我国林业建设服务。主要内容有:林木种子、育苗造林、森林植物、林木遗传育种、树木生理生化、森林昆虫、资源昆虫、森林病理、林木微生物、森林鸟兽、森林土壤、森林生态、森林经营、森林经理、林业遥感、林业生物技术及其它新技术、新方法,并增加林业发展战略、学科发展趋势、技术政策和策略等,适于林业及相关学科的科技人员、院校师生、领导和管理人员、基层林业职工等阅读。

《林业科学研究》2002 年荣获第二届国家期刊奖提名奖和国家林业局首届林业科技期刊优秀一等奖。连续被列为中国自然科学核心期刊,入选了中国科学技术期刊文摘 CSTA 数据库(英文版),入编了清华大学光盘国家工程研究中心《中国学术期刊(光盘版)》和中国科学引文数据库,加入了“万方数据(ChinaInfo)系统科技期刊群”。被《中国生物学文献数据库》、《中国林业科技文献库》、《中国期刊全文库》、《中国科技期刊文献(维普)库》、《中国科技文献(万方)库》等国内检索期刊和文献库列为重要的文献源期刊。

本刊已被 AJ. VINITI(俄罗斯《文摘杂志》)、CAB(英联邦农业和生物科学文摘)、AGRIS(联合国粮农组织书目)、BA(美国生物学文摘)、ZR(英国《动物学记录》)、美国《剑桥科学文摘社网站:土木工程文摘》(CSA:CEA)、美国《剑桥科学文摘社网站:污染文摘》(CSA:POLLA)和 Forestry ABS.、Forest Product ABS.、Agris ABS.、GA《地质文摘》等国外大型数据库和检索性期刊收录。1992 年以来,连续被美国《生物学文摘》收录。

本刊为双月刊,国内外公开发行,国内统一刊号:CN 11-1221/S,每期定价 8.00 元,全年订价 48.00 元。需订阅者请将订费由银行或邮局汇到北京颐和园后中国林科院林研所,并注明订购本刊款项。开户银行及账号:北京海淀农行营业室;帐号:873-202-55。港澳台及国外读者可以到中国国际图书贸易总公司订阅(北京 399 信箱,邮编 100044),国外代号:BM4102。

本刊地址:北京颐和园后中国林科院《林业科学研究》编辑部

邮政编码:100091 电话:(010)62889680