

## 山苍子继代培养中芽增殖效果研究\*

Multiplication in the Successive Transfer Culture of *Litsea cubeba*周传明<sup>1</sup>,吕曼芳<sup>1</sup>,陈奎<sup>2</sup>,周如琼<sup>3</sup>,秦武明<sup>1</sup>,赵彤宁<sup>1</sup>ZHOU Chuan-ming<sup>1</sup>, LV Man-fang<sup>1</sup>, CHEN Kui<sup>2</sup>, ZHOU Ru-qiong<sup>3</sup>, QIN Wu-ming<sup>1</sup>, ZHAO Tong-ning<sup>1</sup>

(1. 广西大学林学院,广西南宁 530004;2. 广西高峰林场,广西南宁 530001;3. 北海市林业局,广西北海 536000)

(1. College of Forestry, Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530004, China; 2. Gaofeng Forestry Farm of Guangxi Municipality, Nanning, Guangxi, 530001, China; 3. Forestry Bureau of Beihai City, Beihai, Guangxi, 536000, China)

**摘要:**以初始诱导得到的山苍子[*Litsea cubeba* (Lour) Pers]幼苗进行继代培养试验。试验共设计3种培养基:改良MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L、改良MS+6-BA 0.8 mg/L+NAA 0.2 mg/L、改良MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,2种切割方式,进行4代培养,研究生长调节剂、继代次数和切割方式对山苍子继代增殖的影响。结果以改良MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L培养基比较适宜山苍子的继代培养,当NAA浓度为0.2 mg/L时,增殖率随6-BA浓度的增加而增大,愈伤组织逐渐减少,6-BA浓度为1.0 mg/L时增殖率最高,苗木生长效果最好;继代到第4代时,山苍子增殖率明显高于前3代,增殖苗长势良好有活力;以2~3个丛芽块的接种方式接种效果优于单芽接种,增殖率可达到3.57,芽苗叶色浓绿效果最好。

**关键词:**山苍子 继代培养 增殖效果

中图法分类号:Q945.5 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2012)04-0374-03

**Abstract:** The materials of *Litsea cubeba* from initial culture were used to successive transfer culture. The test was designed using 3 kinds of medium: modified MS+0.5 mg/L of 6-BA+0.2 mg/L of NAA, modified MS+0.8 mg/L of 6-BA+0.2 mg/L of NAA, and modified MS+1.0 mg/L of 6-BA+0.2 mg/L of NAA, 2 kinds of cutting way, and for 4 generations to cultivate, in order to analyze the proliferation influence of *Litsea cubeba* successive transfer culture in different growth regulator, successive transfer times and cutting way. The results showed that modified MS+1.0 mg/L of 6-BA+0.2 mg/L of NAA was optimal medium for successive transfer culture. When the concentration of NAA was 0.2 mg/L, the rare of proliferation increased with the increasing of 6-BA concentration, while the callus gradually reduced; when 6-BA concentration was 1.0 mg/L, the proliferation rate reached the highest, and seedling growth effect was the best. Successive transfer to the 4th generation, *Litsea cubeba* proliferation rate revealed significantly higher than the previous 3 generations, and breeding seedlings grew well dynamic. The effect of inoculation with 2~3 cluster buds was better than that of single grafting species, its breeding rate can reach 3.57 and the seedling was well-grown.

**Key words:** *Litsea cubeba*, successive transfer culture, multiplication

收稿日期:2012-05-08

收稿日期:2012-07-10

作者简介:周传明(1962-),男,高级实验师,主要从事植物组织培养研究。

\* 高峰林业科技园珍贵及乡土树种试验研究项目资助。

山苍子[*Litsea cubeba* (Lour) Pers],又名山胡椒,木姜子,是樟科木姜子属落叶灌木或小乔木,珍贵芳香油料植物。木姜子属植物全世界共有200种,主

要分布于亚洲的热带、亚热带地区。我国主要分布于长江流域,其中以福建、湖南、湖北、四川等省份分布最多<sup>[1]</sup>。山苍子果皮可以提取精油,利用于化工及食品行业;其核仁油亦是重要的木本油料,可以替代进口椰子油,应用价值及市场前景广阔<sup>[2,3]</sup>。山苍子适生性广、耐瘠薄等特点有利于退耕还草及石漠化工程治理,生态效益显著<sup>[4]</sup>。由于山苍子以种子繁殖为主,品种良莠不齐,其组织培养技术的探究可以提供优质苗木,保障种源,具有重要现实意义和经济价值。我国有学者对山苍子组织培养快速繁殖育苗技术进行了相关研究,其中孙雁霞<sup>[5]</sup>、赵佐敏<sup>[6]</sup>、钟东洋<sup>[7]</sup>、马嵩坚等<sup>[8,9]</sup>对山苍子外植体材料、基本培养基、生长调节剂等方面进行的诱导培养研究均取得一定的成果,但是目前仍处于初步探索阶段。我们在山苍子外植体初始诱导研究<sup>[10]</sup>的基础上,又进行了山苍子继代培养的芽增殖效果研究,现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和方法

通过初始诱导得到长势良好的诱导苗后,以改良 MS 培养基为基本培养基,附加不同生长调节剂 6-BA、NAA 进行试验,30 d 后对瓶苗生长情况进行观察,研究不同生长调节剂对继代培养的影响。共设计 3 个方案进行试验。方案 1 为改良 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L,方案 2 为改良 MS+6-BA 0.8 mg/L+NAA 0.2 mg/L,方案 3 为改良 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

继代培养过程中对材料采用单芽和 2~3 个丛生芽 2 种切割方式进行接种,培养基保持一致,观察研究材料的不同切割方式对山苍子继代增殖的影响。同时,还使用相同培养基对山苍子进行继代培养,研究不同继代数对山苍子增殖效果的影响。

### 1.2 培养条件

继代培养在室温保持(25±2)℃条件下进行,白天附加 1800 Lx 人工光照 12 h。各种培养基分别附加蔗糖 40 g/L,琼脂 4.8 g/L。pH 值 5.8,培养基分装之后在 1.1 kg/cm<sup>2</sup> 高压、121℃ 高温下灭菌 20 min。

## 2 结果与分析

### 2.1 生长调节剂对山苍子继代增殖的影响

将初始培养获得的无菌苗转接到 3 种不同浓度 6-BA 的增殖培养基中,方案 1,2,3 的继代增殖率分别是 2.2、2.4 和 2.6,平均苗高分别是 1.3cm、1.4cm 和 1.4cm;方案 1 的愈伤组多,生长一般,叶色正常;

方案 2 的愈伤组较多,生长一般,叶色正常;方案 3 的愈伤组较少,生长良好,叶色正常。实验结果表明生长调节剂对山苍子继代培养的存在着不同的影响。在 NAA 浓度为 0.2 mg/L 条件下,增殖率随 6-BA 浓度的增加而增大,愈伤组织逐渐减少,生长状况逐渐好转。当 6-BA 浓度为 1.0 mg/L 时,增殖率达到 2.6,茎基部没有出现明显的庞大现象,整体生长良好,由此得出 3 号培养基 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 的生长调节剂配比比较适宜山苍子的继代培养。

### 2.2 继代次数对山苍子继代增殖的影响

实验进行 4 次继代培养,采用单芽的接种方式,均采用改良 MS+6-BA 1.0 mg/L +NAA 0.2 mg/L 继代培养基进行培养,30 d 进行观察统计。结果继代次数为 1 时,单株最大增殖芽数为 4,平均增殖率 2.3,苗木叶色正常,愈伤组织小,苗木尖削度大,高生长受抑制,节间短;继代次数为 2 时,单株最大增殖芽数为 5,平均增殖率 2.4,苗木少部分枯死,苗高 1.1~3.0cm,平均苗高 1.5cm,生长状况一般;继代次数为 3 时,单株最大增殖芽数为 7,平均增殖率 2.5,苗木叶色正常,有生活力,苗高 1.1~3.5cm,平均苗高 2.0cm,生长良好;继代次数为 4 时,单株最大增殖芽数为 8,平均增殖率 2.9,苗木叶色浓绿,有生活力,较多芽开始萌发,侧芽生长比丛生芽好,节间较长,长势良好。随着继代次数的增加,山苍子继代增殖率也呈逐渐提高的趋势。第 1 代苗木增殖率最低,仅有 2.3,第 4 代苗木增殖率最高,达到 2.9,第 2 代和第 3 代增殖率相差不大。单株最大增殖芽数与增殖率随继代数变化规律一致,单芽个数随继代数增加而递增。就苗木生长状况而言,第 1 代苗木的生长较缓慢,愈伤组织小,苗木节间短;第 2 代苗木的生长状况一般,有部分苗木枯死;第 3 代苗木生长良好,叶色正常有生活力;到第 4 代时苗木长势好,节间较长,叶色浓绿,有生活力。

继代培养过程中第 1~3 代的增殖率缓慢递增,区别并不是很明显,到第 4 代增殖率才明显高于前 3 代,由此看出继代数对山苍子增殖率具有一定影响。由于继代代数的增加,6-BA 的积累导致组织中细胞分裂素浓度增加,从而增加苗木细胞分裂速度,增殖率得以提高;而继代数不同,苗木幼态化程度不同,随着继代数增加,苗木幼态化程度逐渐提高,而幼态化程度越高,苗木分化能力越强,因而苗木生长质量也越好。增殖率随着继代数增加而相应增加的现象,是 6-BA 浓度与苗木幼态化两个因素共同作用的结果。

### 2.3 切割方式对山苍子继代增殖的影响

采用不同切割方式对山苍子进行继代培养,培养基均为改良 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,30 d 后进行观察。结果接种 30 d 后,单芽的增殖率为 1.29,平均苗高 2.0cm,2~3 个丛芽块接种的增殖率为 3.57,平均苗高 2.7cm。芽苗增殖和平均苗高都是 2~3 个丛芽块切割方式的效果较好。原因可能是山苍子在增殖培养时在切口的基部产生较多愈伤组织,在愈伤组织上产生很多隐芽,采用单芽接种时,对材料的切割会切去大块的愈伤组织,从而损失部分隐芽,因而增殖培养效果受到很大影响(图 1)。因此在山苍子继代增殖培养过程种采用 2~3 个丛芽块进行接种可获得更好的增殖效果。

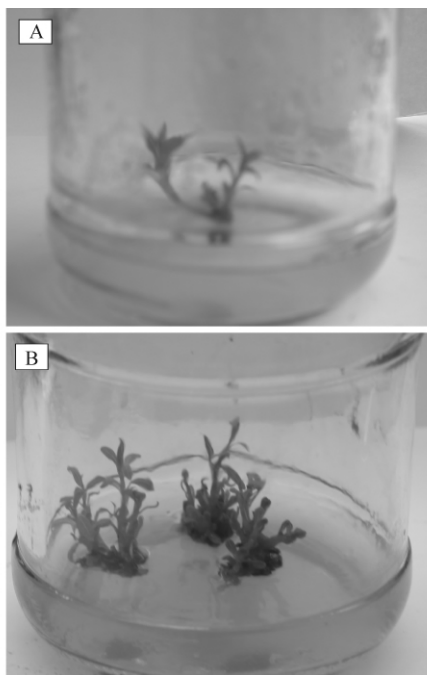


图 1 单芽(A)和 2~3 个丛芽块(B)切割方式的继代增殖效果

Fig.1 The multiplication in the successive transfer culture of one cluster bud (A) and 2~3 cluster buds (B)

### 3 结束语

本次实验比较不同 6-BA 与 NAA 浓度配比对山

苍子继代培养的影响,在 NAA 浓度为 0.2 mg/L 条件下,增殖率随 6-BA 浓度的增加而增大,愈伤组织逐渐减少,6-BA 浓度为 1.0 mg/L 时增殖率最高,苗木生长效果最好;继代到第 4 代时,增殖率明显高于前 3 代,增殖苗长势良好有活力;以 2~3 个丛芽块的接种方式接种效果优于单芽接种,增殖率可达到 3.57,芽苗叶色浓绿效果最好。本次试验低于孙雁霞等<sup>[5]</sup>在山苍子快繁技术体系研究中得出最大月增殖系数达到 7.7 的试验研究,造成这样差异的原因可能是试验材料的品种不同,继代时间也不一致,从而出现的增殖率不尽相同。本次试验继代的时间还比较短,下一步将在保证继代苗质量的同时获得更高增殖率等方面进行深入研究。

参考文献:

- [1] 潘晓杰,陈卫军,侯红波. 山苍子资源利用加工现状及开发前景的研究[J]. 经济林研究,2003,21(1):79-80.
- [2] 陈兆森. 山苍子资源的综合利用[J]. 林化科技通讯,1987;16-20.
- [3] 鲍逸培. 中国山苍子油研究概况与进展[J]. 林产化学与化工,1995,15(2):74-76.
- [4] 赵婷,陈国华,张鼎华. 我国山苍子的研究现状及展望[J]. 福建林业科技,2010,37(2):158-161.
- [5] 孙雁霞,石大兴,王米力,等. 山苍子组织培养快速繁殖技术研究[J]. 四川林业科学,2002(1):64-67.
- [6] 赵佐敏. 影响山苍子离体快繁效果的主要因素研究[J]. 安徽农业科学,2005,33(9):1650-1652.
- [7] 钟东洋,刘力才,陈亚立. 山苍子繁育及造林技术[J]. 现代农业科技,2008,23:47.
- [8] 马嵩坚,胡嘉凯,王羽梅,等. 山苍子不同外植体的组织培养[J]. 广东农业科学,2005(2):30-31.
- [9] 马嵩坚,邓艳敏. 山苍子带芽茎段的组织培养[J]. 广西科学,2005,12(2):156-160.
- [10] 吕曼芳,周传明,周如琼,等. 山苍子外植体初始诱导的研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(10):5773-5774.

(责任编辑:邓大玉)