

专题介绍 Special Topics

霍霍巴的组织培养与快速繁殖

王玉珍^{1,*} 董玉惠² 史印山³ 徐进^{1,4} 罗景兰¹ 刘小京¹ 李伟强¹¹中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心, 石家庄 050021; ²河北农业大学园艺系, 河北保定 071001;³河北省气象局, 石家庄 050021; ⁴中国科学院研究生院, 北京 100039**Tissue Culture and Rapid Propagation of Jojoba (*Simmondsia chinensis* L. Schneider)**WANG Yu-Zhen^{1,*}, DONG Yu-Hui², SHI Yin-Shan³, XU Jin^{1,4}, LUO Jing-Lan¹, LIU Xiao-Jing¹, LI Wei-Qiang¹¹Center for Agricultural Resources Research, Institute of Genetic and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Shijiazhuang 050021, China; ²Department of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China;³Hebei Meteorological Bureau, Shijiazhuang 050021, China; ⁴Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

提要 从组织培养植株再生的途径, 影响快速繁殖的因素, 褐化、超度含水态出现的原因, 对霍霍巴组织培养与快速繁殖的研究进展进行了介绍。

关键词 霍霍巴; 组织培养; 快速繁殖; 超度含水态; 褐化

霍霍巴(*Simmondsia chinensis* L. Schneider), 又称西蒙得木、好好芭、浩浩巴。属西蒙得木科西蒙得木属, 为一属一种的多年生常绿灌木或小乔木, 株高0.6~5.0 m, 雌雄异株。体细胞染色体数 $2n = 52$ 。天然分布区在西经 $108^{\circ}\sim 118^{\circ}$, 北纬 $23^{\circ}\sim 35^{\circ}$, 海拔 $600\sim 1\ 200$ m, 年降水量 $76\sim 450$ mm, 年日照时间 $2\ 000$ h左右。耐贫瘠, 耐干旱, 耐盐。土壤pH $5\sim 8$, 从微酸性到微碱性之间都能正常生长^[1]。其种子中含有一种特殊的油脂——霍霍巴油, 含量约占种子成分的50%。霍霍巴油加热到 $285\sim 370^{\circ}\text{C}$ 也未见其有明显的氧化现象^[2]; 经过皂化水解后可以广泛应用于机械(作为耐高温高压的高级润滑油, 是抹香鲸油的优良替代品)、化妆品、食品、燃料和医药工业等^[3, 4]。自上世纪70年代开始, 人们逐渐认识到霍霍巴巨大的经济价值, 很快引种到几大洲30多个国家, 一些国家还建立了规模较大的植物园, 并展开了组织培养和引种栽培的研究^[2]。我国是引种霍霍巴较早的国家之一。1978年, 中国科学院昆明植物所从美国引进种子, 进行了多点适应性栽培实验。以后, 福建、广西、四川等10多个南方省区相继引种栽培^[5]。我们实验室于2002年开始

霍霍巴的组培快繁研究, 并取得了一些结果。

霍霍巴是一种较难进行组织培养的材料, 褐化、超度含水态以及难生根是其组织培养过程中常见的问题。因此, 建立完善的霍霍巴组培快繁体系, 从而选育出抗性较高的无性系, 是实现霍霍巴优良品种工厂化育苗的必要前提。现在结合我们实验室的研究结果, 对霍霍巴组织培养和快速繁殖技术的研究进展作一介绍。

1 植株再生的途径

霍霍巴组织培养再生植株主要有两个途径: 不定芽发生途径^[6, 7]和胚状体发生途径^[8, 9]。通过外植体茎节直接再生不定芽这一途径, 是霍霍巴组培快繁再生植株的主要途径, 其中包括次生不定芽, 或从愈伤组织上产生不定芽。很少见到从叶片上直接产生不定芽。叶片培养物从叶盘、叶脉处产生体细胞胚, 此过程需要进行前期暗处理。

1.1 不定芽发生途径 这一途径是霍霍巴组培快繁再生的主要途径。Rost和Hinche^[6]最早观察了霍

收稿 2005-03-09 修定 2005-09-26

资助 河北省科技攻关项目(03390162D)、科技部中巴政府间合作项目(16-413)。

*E-mail: wangyz@ms.sjziam.ac.cn, Tel: 0311-85871756

霍巴愈伤组织再生植株的器官发生途径。一方面, 通过外植体直接再生不定芽, 可以减少或避免因组织培养引起的遗传突变, 保持品种的优良性状; 另一方面, 通过诱导茎节愈伤组织的形成和分化, 不仅能够获得大量的脱分化细胞再分化出的不定芽, 而且愈伤组织在培养过程中可能发生突变。由此可获得性状各异的植株, 从中选育出优良的新品种。不同的培养条件会影响愈伤组织的形成, 不同的外植体产生的愈伤组织形态也不相同。徐进等^[10]的研究工作表明, 在初代培养时, 较高浓度细胞分裂素附加低浓度生长素可以促进愈伤组织的形成; 相反, 在继代培养时, 低浓度细胞分裂素促进愈伤组织的形成。低温时形成的愈伤组织较疏松, 分化能力差; 高温条件下的愈伤组织易褐化死亡。愈伤形成和分化的最佳温度为22~28℃。

1.2 胚状体发生途径 高捍东和曹兵^[11]以霍霍巴叶片和子叶的组织培养结果表明, 霍霍巴子叶在MS+6-BA 0.5~1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹的培养基中培养7~10 d时基部出现愈伤组织, 并逐渐增多, 呈密集团状, 培养至60 d仍没有得到分化芽; 采用叶片作外植体, 在MS+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹的培养基中培养30~35 d后出现愈伤组织, 50 d时愈伤组织急剧增多, 但没有分化, 以后逐渐褐化死亡。但未对愈伤组织进行形态学观察。Hamama等^[8]以叶片为外植体, 接种于添加不同生长调节物质的1/2MS培养基上, 成功地诱导出体细胞胚, 经过2次继代培养后(30 d代⁻¹), 将培养物转移到1/2MS+NAA 3.75 μmol·L⁻¹+IBA 3.44 μmol·L⁻¹+6-BA 0.44~1.33 μmol·L⁻¹+F3iP (E6-3-三氟甲基-2-烯炔氨酸嘌呤; E6-3-[(trifluoromethyl)-but-2-enylamino]purine) 0.37~1.11 mmol·L⁻¹培养基上获得再生植株。他们并对体细胞胚发育的各个阶段作了形态学描述。Bagatharia和Shaker^[9]以叶片为外植体, 接种于MS+2, 4-D 0.4 mg·L⁻¹+6-BA 1.25 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹培养基上, 比较雌雄株叶片对不同NO₃⁻/NH₄⁺影响的结果表明, 雌雄株叶片在愈伤组织诱导过程中对氮源的需求有显著差异。MS培养基中增加NO₃⁻或NH₄⁺ (60 mmol·L⁻¹), 可以提高雌株叶片的愈伤组织干重和鲜重, 但对雄株叶片的愈伤组织生长则有抑

制作用。

2 影响霍霍巴茎节外植体分化与增殖的因素

霍霍巴组培快繁主要以茎节作外植体。影响其茎节再生体系建立的因素较多。主要有:

2.1 性别 Prakash等^[12]的研究表明: (1) 6-BA对外植体分化效果最明显, 其中雄株茎节的最佳浓度为10 μmol·L⁻¹, 而雌株茎节为20 μmol·L⁻¹; (2) 单独使用活性炭(AC)有利于外植体分化, 但是单独使用酶水解干酪素(CH)则对分化有抑制作用, 尤其是对于雄株外植体分化的抑制更明显; (3) 单独使用聚乙烯吡咯烷酮(PVP)仅对雌株外植体分化有促进作用, 但是与6-BA配合使用时则可以促进雄株外植体分化; (4) 6-BA与不同浓度的三碘苯甲酸(TIBA)配合使用可以促进雌株外植体芽的分化。以上结果说明, 不同性别的植株对生长调节物质和添加物的影响不同。

2.2 取材部位 不同取材部位的外植体, 芽启动需要的时间和出芽数不同。分别剪取幼株的茎尖、单腋芽茎段、双腋芽茎段进行诱导分化的结果表明: 双腋芽茎段和茎尖之间无明显差异; 而单腋芽茎段的芽启动的时间较晚, 分化能力较低。这可能是由于不同外植体在内源激素和养分含量上的差异造成的。双腋芽茎段由于原生长状态下的顶端优势被解除, 因而侧芽迅速萌动, 生长成新枝^[10]。

2.3 培养基成分和生长调节物质

2.3.1 基本培养基 基本培养基是植物组织培养重要的基础, 由于各种植物的遗传背景、生物学特征不同, 因而对营养成分的需求也不同。选择合适的培养基对于组织培养的成败至关重要。研究表明, 以下4种培养基是霍霍巴组织培养的适宜培养基: MS培养基、DK培养基、SH培养基、改良MS培养基。我们实验室使用的改良MS培养基中, 氮的总量降低, 消除NH₄NO₃和降低锰的含量后, 结果外植体生长状况良好, 褐化率明显降低^[10]。这可能是由于霍霍巴组织培养过程中高NH₄⁺/NO₃⁻会抑制芽的分化, 而Mn²⁺是参与酚类合成与氧化酶类的组成成分或辅因子, 可促进褐化发生, 因而锰含量降低有利于外植体生长的结果^[10]。

2.3.2 辅助添加物和蔗糖 Prakash等^[12]研究了霍霍巴组培快繁过程中AC、CH、椰子乳(CW)、PVP、TIBA和6-BA对雌雄株茎节外植体分化的

影响。CH 单独施用, 抑制两性幼苗分化, 对雄性外植体更显著。MS 培养基中增加 PVP 仅仅促进雌性外植体幼苗分化, 而单独施加 6-BA 则促进雄性外植体幼苗分化。Roussos 等^[13]证明 AgNO_3 对外植体芽分化有促进作用, 每个外植体最高可达 15.2 个芽。我们实验室^[10, 14]的实验表明: (1) $500\sim 700 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 肌醇明显促进初代培养物的生长, 尤其对叶片生长的影响极显著^[14]; (2) $400\sim 700 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 水解乳蛋白(LH)对芽的启动和多芽苗生长有明显的促进作用, 新梢生长快, 叶片颜色深绿, 植株生长健壮; (3) $1.0\sim 3.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 明显促进多芽增殖, 每个外植体平均可达 12.5 个芽^[15]; (4) 随着蔗糖浓度的增加, 超度含水态比率明显降低, $30\sim 50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时超度含水态现象基本消失, 但蔗糖浓度升高后, 污染比例显著增加。

2.3.3 生长调节物质的种类及配比 基本培养基中附加不同的植物激素类似物(6-BA、KT、ZT)、生长素类似物(IBA、IAA、NAA)和赤霉素(GA_3), 对霍霍巴茎节外植体再生植株能力影响很大(表 1)。单独使用 6-BA 或 ZT 即可促进芽的分化^[9~11],

但是与生长素类似物协同使用时, 增殖效果显著^[10, 11, 14~18, 20, 21]。较高浓度($>3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的细胞分裂素明显导致组培苗超度含水态现象的发生, 叶片和嫩梢变形, 植株停止生长甚至死亡^[16, 18]。郑若仙和李启任^[16]最早报道 GA_3 有促进霍霍巴外植体芽分化的作用, 尤其是低浓度的 GA_3 与 6-BA 协同作用时效果极显著。我们实验室的实验表明, 初代培养时, 6-BA 与低浓度 GA_3 和 IBA 协同使用, 可以明显提高芽诱导率与增殖系数, 芽诱导率可达 100%, 增殖系数达 4.9; 增殖培养时, 单独使用 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 即可维持较高的分化数(每个外植体产生 7.8 个芽), 分化苗经多次继代后将 6-BA 浓度降至 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 仍可维持较高的增殖系数(7.5), 但连续使用低浓度生长调节类物质 4 代以后, 分化数明显降低, 这时若提高外源细胞分裂素类似物的浓度至 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 增殖系数可恢复到原来的水平^[10, 11]。可见, 霍霍巴组织培养过程中, 适时调整生长调节物质浓度对稳定增殖很重要。

2.4 环境条件 环境因素对霍霍巴再生体系建立有影响。Mills 等^[23]最早研究了霍霍巴组培苗通气状

表1 霍霍巴快速繁殖技术研究进展情况

外植体	分化		生根		存在问题	文献
	培养基*	分化数/个	培养基	生根率/%		
茎段	MS+6-BA $1\sim 2+\text{GA}_3$ 0.5	2.8	—	—	超度含水态	16
茎段	MS+6-BA 0.5+IBA 0.05	2.8	1/2MS+NAA 0.4	50	生根难	17
顶芽、茎段	MS+6-BA/ZT $1\sim 2+\text{NAA}$ 0.2	4.2	1/2MS+IBA 5(4 d), 移至 1/2MS (30 d)	70	超度含水态	18
茎段	改良 MS+6-BA 1	4~6	改良 MS+IBA 3(15 d)	25	生根难	19
实生苗茎节	改良 DK+6-BA $1+\text{AgNO}_3$ 0.01	15.2	改良 DK+NAA 0.2+IBA 0.2+IAA 0.1	64	生根难	6
实生苗茎节	SH+IAA 0.5+6-BA 1	—	—	—	—	20
实生苗顶芽	MS+ZT $1.5\sim 2+\text{IBA}$ 0.2/NAA 0.05	5.2	1/2MS+IBA 1+IAA 1	—	超度含水态, 污染率高	11
分化苗	—	—	改良 MS+IBA 0.3+环糊精 $0.03\sim 0.5$ (7 d), 转移至 MS	100	超度含水态, 污染率高	21
茎段	MS+6-BA 1	4.7	IBA 10 短期处理, 转移至改良 MS	85	生根复杂	22
茎段	初: 改良 1/2MS+6-BA $2+\text{GA}_3$ 0.5+ IBA 0.05 (诱芽率 100%)	4.9	改良 1/2MS+ 铁盐+NAA $3+\text{IBA}$ 0.5+ IAA $0.5+\text{La}(\text{NO}_3)_3$ $1\sim 2$ (9 d 开始生根, 平均生根时间 20 d)	93	—	10, 14, 15
	增 1: 改良 1/2MS+6-BA 1	7.8				
	增 2: 改良 1/2MS+6-BA $2+\text{GA}_3$ 0.5	8.3				
	增 3: 增 $2+\text{AgNO}_3$ $1.0\sim 3.5$ 或 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ $1\sim 3$	12.5				
	增 4: 改良 1/2MS+6-BA 0.5	7.5				

* 培养基中加入的生长调节物质或其它物质的单位为 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

况对生长的影响。结果发现,良好的通气状况可以明显改善外植体的生长,促进腋芽的分化和生长,叶片数增多,叶蜡增厚,超度含水态现象明显减少,植株抗旱性提高。我们实验室的实验结果表明:(1)充足的光照有利于外植体分化,以 $54\sim 90\text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 最佳;光照不足时,褐化现象明显增加,分化数和生根率显著减少,幼苗移栽成活率低。(2)霍霍巴组培苗生长对温度较敏感,温度低于 10°C 或高于 40°C 时生长减缓,褐化或超度含水态比率显著增加,适宜的温度为 $25\sim 28^{\circ}\text{C}$ 。(3)适宜的pH值为 $5.8\sim 6.0$ ^[10]。

2.5 接种和切芽方式 外植体的接种和切芽方式对再生也有影响。我们实验室的工作表明,不同切芽方式明显影响多芽的分化数。继代时,应保留基部新鲜致密愈伤组织一起转移,有利于不定芽的继续分化和生长;生根培养时,宜在距节点 $0.3\sim 0.5\text{ cm}$ 以下部位剪取嫩梢,节上留 $1\sim 2$ 片叶,有利于愈伤形成和生根。不正确的剪切位置,造成分化数明显减少,常出现仅1对腋芽伸长而没有多芽形成的现象,生根率也明显降低^[10]。

不同接种方式对霍霍巴组培苗分化和生根也有影响。继代时,将材料插入培养基中,应使腋芽接触到培养基表面,这样有利于愈伤组织形成和不定芽分化;生根培养时,基部叶片若接触培养基,则易在叶片上生出不定根,这些不定根在移栽时不易成活。

3 影响霍霍巴组培苗生根的因素

许多实验(表1)表明,在生根培养过程中,单独使用IBA和NAA,通过一步生根或两步生根法都可以诱导霍霍巴生根,但生根率较低。而IAA对生根效果不明显。Apostolo等^[21]报道环糊精对霍霍巴组培苗生根的促进作用。我们实验室的实验表明,一定浓度的IBA和NAA都可以诱导生根,但是诱导结果不同。用IBA诱导生根时,基部所形成的愈伤组织较大,并且容易褐化;NAA诱导生根时,则仅在基部创面处形成少量愈伤组织且很少褐化,移栽易成活。NAA $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、IBA $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和IAA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 配合使用时的极差分析表明,NAA对生根的贡献最大,IBA次之;而协同使用IAA可以缩短生根时间,9 d时在基部创面出现白色少量愈伤组织根原基,15~20 d时生

根率达86%。 $1\sim 2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 稀土元素 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 与生长调节物质组合协同使用时,生根率可以达到93%以上^[15],其在组培快繁中可能有较高的应用价值。

4 影响霍霍巴组培苗超度含水态的因素

超度含水态(玻璃化)是霍霍巴组织培养中最常见的问题。超度含水态苗的生长发育停止,生理活性减弱,是导致其快繁效率降低的主要原因之一。霍霍巴组培苗出现超度含水态主要与以下因素有关:

4.1 外植体的大小 有实验表明,外植体越小,超度含水态发生的概率越大。 0.5 cm 以下的外植体,超度含水态的比例较高;大于 1.0 cm 的外植体,其超度含水态的比例则很低。这可能是较大外植体的分生组织远离培养基表面,其生长环境和水分状况得到改善之果^[10]。

4.2 培养条件 一系列实验显示:(1)温度低于 10°C 时,超度含水态比例明显升高。这可能与霍霍巴不耐寒,植株在低温条件下膜结构易破坏,因而新陈代谢下降有关。(2)pH值低于5.3时,26%的外植体出现超度含水态;低于5.0时,45%的外植体出现超度含水态^[10]。随着pH值的升高,超度含水态比例降低。其原因可能是pH值影响了某些酶的活性,使外植体中内源激素平衡和碳代谢有关的生物合成发生改变所致。(3)培养瓶的通气状况直接影响超度含水态发生的比率^[24]。通气状况良好,植株分化数多,叶面积大,组培苗超度含水态的比率低。因此,选用通气性较好的封口材料可以有效减少超度含水态的发生^[10]。

4.3 培养基的硬度 培养基的硬度受琼脂的种类、浓度和pH值的影响。低pH值下,培养基出现软化,培养基中的水势增加,因而培养容器内相对湿度过高,最终导致超度含水态的发生^[10]。

4.4 碳源 蔗糖作为碳源,除向细胞生命活动提供能源外,还在培养基中起维持一定渗透压的作用。有实验表明,蔗糖浓度与霍霍巴组培苗的超度含水态发生率呈极显著负相关^[10]。

4.5 细胞分裂素类似物 细胞分裂素是影响霍霍巴组培苗出现超度含水态的因素之一,高浓度细胞分裂素类似物可直接导致超度含水态的发生。当6-BA或ZT的浓度达 $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,超度含水态比率明显增加。因此,6-BA或ZT的浓度不宜超过

2 mg·L⁻¹。其中的机理还需进一步研究^[10,13,23,24]。总之,在霍霍巴组织培养中,若能够综合考虑以上5点因素,就可以避免超度含水态的发生,提高组培苗的增殖效率。

5 影响霍霍巴组培苗褐化的因素

褐化也是影响霍霍巴组培苗分化的一个主要因素。在生根培养过程中,褐化显著降低生根率和幼苗移栽成活率。引起霍霍巴组培苗发生褐化的主要因素有以下几点:

5.1 基本培养基中无机盐的种类和浓度 基本培养基的选择对外植体生长的影响很大。浓度过高的无机盐可以引起外植体酚类外溢,导致培养物褐化。降低盐浓度则可以减少酚类外溢,减轻褐化。因此,在生根培养基中降低无机盐浓度可以减少愈伤褐化,提高生根率,改善生根状况。Mn²⁺是参与酚类合成与氧化酶类的组成成分或辅因子,可促进褐化的发生。降低锰含量可以有效抑制褐化的发生^[10]。

5.2 培养条件 (1)当光强低于18 mmol·m⁻²·s⁻¹时,植株出现褐化。这是因为光照不足会降低外植体的生理活力,因而褐化加重^[10]。此外,在分化增殖阶段,充足的光照和光照时间条件下,形成的根呈白色,根系健壮,移栽易成活;低光强条件下生长的继代苗,转入生根培养基上后,基部膨大的愈伤组织呈褐色,生根时间长,根数减少,移栽成活率低^[10]。(2)当温度超过40℃时,褐化率明显升高。这是由于高温促进酚类氧化的结果。(3)pH值高于7.0时,外植体易褐化。这可能是由于高pH值下多酚氧化酶活性和底物利用率增加,因而出现褐化。总之,在适宜的环境条件(光强54~90 μmol·m⁻²·s⁻¹,光照时间12~14 h·d⁻¹,温度25~28℃,pH 5.8~6.0)下,外植体生长良好,几乎没有褐化现象。可见,不适宜的培养条件是引起外植体褐化的原因之一。

5.3 外植体的大小 外植体如果过小(0.5 cm以下),褐化率明显上升。这是由于接种后外植体紧贴在培养基上,外植体呼吸不良,生理活力降低,导致材料褐化。大于1 cm的材料褐化率明显减少^[10]。

5.4 生长素类似物 我们的实验表明,生长素的种类和浓度对褐化的发生可能有影响^[10]。用IBA诱导生根时,基部形成的愈伤组织较大,并且容易褐化,这样的幼苗移栽成活率低。环境条件适宜

时,用NAA生根无褐化现象。

6 结束语

在过去20几年里,霍霍巴组织培养技术已取得了很大的进展,尤其是在体细胞胚诱导再生植株的研究中已取得了突破。胚状体途径有单细胞再生的特点,可以避免基因转化中的嵌合问题,是一个理想的转基因受体系统,这对霍霍巴转基因操作和原生质体培养来说是重要的。但迄今对此问题的研究还比较少。另外,胚状体发生率、一致性差,最终导致成苗率低,这些问题需要探讨。

霍霍巴茎段快速繁殖体系已日趋完善,筛选出了多种适宜的培养基,且对分化和生根中各种生长调节物质的使用有了较为全面的了解。这对于其他木本植物的快速繁殖体系的建立也有参考意义。开展霍霍巴组织培养过程中褐化和超度含水态的生理、生化研究,有助于进一步阐明此现象的机理,可为分子生物学研究提供参考。

霍霍巴在组织培养过程中形态突变体发生的几率很高^[10],突变表现为茎或叶片形态异常,茎呈扁筒状,有纵沟,叶片明显大于正常状态的1~2倍或小于3 mm。另外,有实验证明,不正常的温度条件和高浓度细胞分裂素易诱导其突变体的发生。培养温度恢复正常和外源细胞分裂素浓度降低时,2~3代以后突变体的缺失功能逐渐消失。组织培养过程中,很容易出现形态突变体现象。但其具体的机制,尤其是这些突变体的出现与激素和温度的关系,还待进一步研究。

霍霍巴在我国栽培试验进展较慢,主要是由于引种的植株数量有限,南方一些栽培地区土壤排水性差,病害严重^[25],北方则由于气候干燥、寒冷,植株在适应过程中常大量死亡,因此数量越来越少,从而导致引种失败。在建立起霍霍巴组培快繁体系以后,可采用工厂化育苗方法,在短期内生产出大量幼株,这一工作的下一个步骤是应该考虑采用细胞工程的方法筛选各种抗性突变体,并对其进行多点栽培试验和适应性研究,从而把组培技术和新品种选育有机地结合起来,加快霍霍巴种植的产业化进程。

参考文献

- 1 Bengioni A. 王科译. 霍霍巴(西蒙得木). 云南热作科技, 1993,

- (4): 39~43
- 2 车宗伶, 叶昌荣. 霍霍巴的特性及经济价值. 福建林业科技, 1990, 60(2): 43~45
- 3 伍怀北. 霍霍巴的经济价值及栽培技术. 中国林副特产, 1991, 17(2): 33~35
- 4 Cappillino P, Kleiman R, Botti CL. Composition of Chilean jojoba seeds. *Ind Crops Prod*, 2003, 17(3): 177~182
- 5 周元, 诸远章. 西蒙得木的引种栽培初报. 云南热作科技, 1996, 19(3): 13~16
- 6 Rost TL, Hincche MAW. Preliminary report of the production of callus organogenesis and regeneration of jojoba (*Simmondsia chinensis* Link) in tissue culture. *J HortSci*, 1980, 55(3): 299
- 7 Jauhar PP. Micropropagation of jojoba cultivars. *In Vitro*, 1983, 19(3): 249~250
- 8 Hamama L, Baaziz M, Letouze R. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissue of jojoba. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 2002, 65(2): 109~113
- 9 Bagatharia SB, Thaker VS. Growth patterns of jojoba male and female leaf callus with various ammonium and nitrate sources. *J Plant Nutr*, 2003, 26(6): 1277~1286
- 10 徐进, 王玉珍, 罗景兰等. 霍霍巴组培快繁技术体系研究I. 基本培养基与培养条件的优化. 河南农业科学, 2004, 35(8): 21~24
- 11 高捍东, 曹兵. 西蒙得木组织培养技术研究. 江苏林业科技, 2001, 28(6): 12~14
- 12 Prakash V, Agrawal S, Gupta C. Influence of some adjuvants on *in vitro* clonal propagation of male and female jojoba plants. *In Vitro Cell Dev Biol—Plant*, 2003, 39(2): 217~222
- 13 Roussos PA, Tolia-Marioli A, Pontikis CA et al. Rapid multiplication of jojoba seedlings by *in vitro* culture. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1999, 57(2): 133~137
- 14 徐进, 王玉珍, 罗景兰等. 肌醇和硝酸银对霍霍巴多芽苗增殖的促进作用. 中国生态农业学报, 13(2): 77~78
- 15 Xu J, Wang Y, Luo J. Stimulation of shoots proliferation by lanthanum nitrate and plants regeneration of jojoba plantlets *in vitro*. 天然产物研究与开发, 2004, 16(6): 565~569
- 16 郑若仙, 李启任. 西蒙得木茎段组织培养中腋芽生长和增殖的激素调节. 天然产物研究与开发, 1989, 1(1): 95~100
- 17 徐艺声, 奚昕. 霍霍巴多芽苗诱导和植株再生. 江西林业科技, 1992(3): 17~19
- 18 姚军, 张燕玲, 林荣. 浩浩巴组织培养和快速繁殖. 广西植物, 1996, 16(1): 73~76
- 19 Lorente BE, Apostolo NM. Effect of different growth regulators and genotype on *in vitro* propagation of jojoba. *New Zealand J Crop Hortic Sci*, 1998, 26(1): 55~62
- 20 张根发, 高晓光等. “好好芭”种子实生苗茎节无性系建立及其遗传差异. 北京师范大学学报(自然科学版), 2002, 36(1): 101~105
- 21 Apostolo NM, Brutti CF, Errarotti SA et al. Stimulation of root development with cyclodextrins on jojoba shoots *in vitro*. *In Vitro Cell Dev Biol—Plant*, 2001, 37(3): 414~418
- 22 Agrawal V, Prakash S, Gupta SC. Effective protocol for *in vitro* shoot production through nodal explants of *Simmondsia chinensis*. *Biol Plant*, 2002, 45(3): 449~453
- 23 Mills D, Friedman R, Benzioni A. Response of jojoba shoots to ventilation *in vitro*. *Israel J Plants Sci*, 2001, 49(3): 197~202
- 24 Apostolo NM, Llorente BE. Anatomy of normal and hyperhydric leaves and shoots of *in vitro* grown *Simmondsia chinensis* (Link) Schn. *In Vitro Cell Dev Biol—Plant*, 2000, 36(4): 243~249
- 25 西蒙得木病害防治课题研究组. 西蒙得木病害研究. 西南林学院学报, 1990, 10(2): 226~228