URL: https://doi.org/10.11983/CBB-2026-0001

大果沙枣子叶和下胚轴高效组培再生体系的建立

付新星*, 朱小娟, 张嘉俊, 师一凡, 赵亚婷, 杜婷, 苏雪*

西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070

摘要 大果沙枣(*Elaeagnus moorcroftii*)是西北地区集经济与生态效益为一体的重要乡土树种。为实现大果沙枣规模化繁育, 以其种子为实验材料, 通过消毒培养获得无菌苗, 以无菌苗的子叶和下胚轴为外植体诱导愈伤组织, 建立并优化组织培养体系。结果表明, 大果沙枣种子的最佳消毒方式为 75%乙醇消毒 1 分钟, 0.1%氯化汞溶液浸泡 10 分钟, 存活率达 86.77%, 污染率为 2.50%。以 10 天龄子叶为外植体进行愈伤组织诱导, 培养基配方为 MS+2.0 mg·L^{-1} 6-BA+0.5 mg·L^{-1} NAA+30 g·L^{-1} 蔗糖+6 g·L^{-1} 琼脂时可获得较高的诱导率(98.55%), 且均为胚性愈伤组织。不定芽诱导最适培养基配方为 MS+0.6 mg·L^{-1} 6-BA+0.1 mg·L^{-1} NAA+30 g·L^{-1} 蔗糖+6 g·L^{-1} 琼脂, 不定芽诱导率达 63.35%, 平均出芽数为 4.08 个。生根培养最适培养基配方为 1/2MS+1.0 mg·L^{-1} IBA+15 g·L^{-1} 蔗糖+6 g·L^{-1} 琼脂+0.5 g·L^{-1} 活性炭, 生根率达 68.58%, 平均生根数为 3.79 条, 平均根长为 3.53 cm。生根苗移栽成活率在 65%以上。研究结果可为大果沙枣种苗快繁和规模化生产提供技术参考。

关键词 大果沙枣, 无菌苗, 组织培养, 愈伤组织, 再生体系

付新星, 朱小娟, 张嘉俊, 师一凡, 赵亚婷, 杜婷, 苏雪 (2026). 大果沙枣子叶和下胚轴高效组培再生体系的建立. 植物学报 **61**, 1–11.

大果沙枣(*Elaeagnus moorcroftii*)又称大沙枣、新疆大沙枣, 属于胡颓子科(Elaeagnaceae)胡颓子属(*Elaeagnus*)落叶乔木或小乔木。在我国西北地区, 胡颓子属落叶组植物常被俗称为沙枣, 包括大果沙枣、沙枣(*E. angustifolia*)和尖果沙枣(*E. oxycarpa*) 3 种(黄俊华和买买提江, 2005; Sun and Lin, 2010; Ma et al., 2021)。其中大果沙枣因果实较大而具有更高的经济价值(翟申修等, 2014)。但大果沙枣优质栽培种质资源较少, 这限制了其推广应用及产业化发展。

沙枣类植物是西北地区珍贵的集生态与经济效益于一体的重要乔木树种, 在荒漠生态系统中占有重要的地位, 也是特有的乡土经济植物, 具有潜在的应用价值(黄俊华等, 2005)。沙枣类植物生活力强, 抗风沙、耐干旱、耐高温、耐贫瘠、耐盐碱, 是西北地区防风固沙、绿化造林的先锋树种(钟敏等, 2020)。沙枣被引种到贫瘠的荒漠和盐碱地进行土壤改良和造林(王磊, 2020; Liang et al., 2021)。沙枣类植物的枝、叶、花和果都具有开发和利用价值, 可食用、药用、饲用以及用作加工原材料。研究证实该类植物具有降血脂、抗炎、抗氧化、抗菌和抗癌等多重生物活性(Farzaei et al., 2015; Nazir et al., 2020; Azmat et al., 2025)。此外, 沙枣类植物的营养与开发价值显著, 其叶、花和果实中富含多糖、氨基酸、维生素、黄酮、挥发油和蛋白质等营养成分(Du et al., 2016; Nazir et al., 2020; Azmat et al., 2025)。在加工应用方面, 沙枣类植物果实可做成食醋、酱油、果醋和果酱等食品(刘巧玲等, 2021)。

沙枣类植物传统繁殖方式主要为种子繁殖, 该方法成活率高, 但存在遗传性状不稳定、育苗周期长等问题(王来等, 2024)。无性繁殖中, 扦插和嫁接可保持母本的优良性状, 但对环境和技术要求较高, 导致成活率较低(毕春竹等, 2020; 王来等, 2024)。组织培养是利用植物细胞的全能性快速繁育优质种苗的一种重要方法。因此, 建立稳定、高效的沙枣类植物组织培养体系是实现快速扩繁优质种苗的重要手段。

目前, 沙枣类植物组织培养相关研究多以嫩枝茎段及顶芽作为外植体进行丛芽诱导、增殖及生根培养(董晓刚等, 2010; 努尔麦麦提·艾麦提等, 2025)。此快繁方式未经过外植体脱分化形成愈伤组织, 且此类外植体的取材易受植株生长周期、环境条件及取材部位的限制, 一定程度上制约了组培技术的规模化应用。通过愈伤组织途径建立组培再生体系, 不仅可突破上述外植体取材的局限性以实现高效规模化快繁, 更能以愈伤组织作为后续遗传转化的理想受体, 为目的基因操作及品种改良奠定基础。杨育红(2006)基于无菌苗获取的外植体进行愈伤组织诱导并建立再生体系, 但该研究所用材料是沙枣(*E. angustifolia*)。因此, 目前亟需建立一套稳定、高效的大果沙枣无菌苗组培快繁体系。

收稿日期: 2026-01-03; 接受日期: 2026-03-06

基金项目: 甘肃省自然科学基金(No.25JRRA022)、国家自然科学基金(No.32260055)和西北师范大学青年科研能力提升计划(No.NWNU-LKQN2022-10)

* 通讯作者。E-mail: fuxinxing@nwnu.edu.cn; Suxue@nwnu.edu.cn

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

本研究以大果沙枣种子为材料，筛选培养无菌苗的最佳消毒方式，并探讨不同培养基配方、不同组织部位及不同苗龄对愈伤组织诱导率的影响，并对愈伤组织的类型进行鉴定，筛选出最佳胚性愈伤组织诱导培养基，同时优化并建立了不定芽诱导、生根培养及炼苗移栽的方法，构建了稳定高效的大果沙枣组培再生体系，旨在为其规模化育苗提供理论依据与技术支撑，同时为后续遗传转化体系构建及转基因育种奠定重要基础。

1 植物材料

实验材料大果沙枣(*Elaeagnus moorcroftii* Wall. ex Schlecht.)种子购于新疆昌吉市美农美果商贸有限公司。

2 培养基成分与培养条件

2.1 种子消毒和无菌苗培养

去除大果沙枣果肉后用自来水浸泡 48 小时，剥去果壳，流水冲洗 4 小时，先用 75%乙醇消毒 1 分钟，无菌水冲洗 3 遍，然后用 20%次氯酸钠溶液分别消毒 15、20、25 和 30 分钟，或用 0.1%氯化汞溶液分别消毒 5、10、15 和 20 分钟，消毒期间不断摇动，最后用无菌水冲洗 6–7 遍，再用无菌滤纸吸干水分。将消毒后的种子接种在配方为 MS(不含蔗糖)+30 g·L^{-1} 蔗糖的培养基上，每瓶接种 6 粒。当幼苗生长 10 天、20 天后取子叶、下胚轴作为外植体。培养条件: 温度为 25°C，光照强度为 45 μmol·m^{-2}·s^{-1}，光周期为 16 小时光照/8 小时黑暗。培养基 pH5.7–5.8，添加 6 g·L^{-1} 琼脂。3 天后统计种子的污染率和存活率。

污染率=(污染种子数/接种种子总数)×100%;

存活率=(存活种子数/接种种子总数)×100%。

2.2 愈伤组织诱导

愈伤组织诱导基本培养基为 MS 培养基，添加 6-BA (浓度分别为 2.0、1.5 和 1.0 mg·L^{-1})、NAA (浓度分别为 0.1、0.2 和 0.5 mg·L^{-1})、30 g·L^{-1} 蔗糖、6 g·L^{-1} 琼脂, pH5.7–5.8。分别切取 10 天和 20 天苗龄的无菌苗子叶和下胚轴作为外植体，接种后在光照培养箱中培养。每处理接种 30 个外植体，重复 3 次。培养条件同 2.1 节。30 天后观察并统计愈伤组织和胚性愈伤组织诱导情况及诱导率。

愈伤组织诱导率=(诱导出愈伤组织外植体数/接种无菌外植体数)×100%;

胚性愈伤组织诱导率=(诱导出胚性愈伤组织外植体数/接种无菌外植体数)×100%。

2.3 胚性愈伤组织鉴定

将愈伤组织固定在 70% FAA 固定液中 48 小时。将固定后的样品经梯度乙醇脱水、二甲苯透明处理，再进行浸蜡与包埋。采用轮转式切片机(Servicebio PM-24)将蜡块切成厚度为 8–10 μm 的连续切片，番红固绿染色后，置于光学显微镜(Servicebio SWE-CX63)下观察组织形态。

2.4 不定芽诱导

将胚性愈伤组织接种在筛选出的最佳培养基上，进行扩大培养，然后转入低浓度细胞分裂素培养基中进行不定芽诱导。取上述胚性愈伤组织，接种到添加 6-BA (0.6 和 1.0 mg·L^{-1})和 NAA (0.1、0.2 和 0.5 mg·L^{-1})的 MS 培养基中。每处理接种 25 块愈伤组织，重复 3 次。培养条件同 2.1 节。培养 30 天后观察并统计不定芽分化率、平均出芽数和新芽类型。

出芽率=(诱导出芽的外植体数/接种外植体数)×100%;

平均出芽数=(诱导出不定芽总数/诱导出芽的外植体数)×100%。

2.5 生根培养

取不定芽诱导 20–30 天的幼苗，切取 2–3 cm 茎段转入添加生根粉 1 号(ABT) (0.5、1.0 和 2.0 mg·L^{-1})或 IBA (0.5、1.0 和 2.0 mg·L^{-1})的生根培养基(1/2MS+15 g·L^{-1} 蔗糖+0.5 g·L^{-1} 活性炭)中培养。每处理接种 25 个不定芽，重复 3 次。培养条件同 2.1 节。培养 30 天后统计生根率、平均根长和平均根数。

生根率=(生根的不定芽数/接种不定芽数)×100%;

平均根长=诱导出不定根的总长度/诱导出根的总数;

平均根数=诱导出不定根的总数/诱导出根的不定芽数。

2.6 驯化移栽

选取长势良好、根系茂盛的组培苗，先松开组培瓶盖并在其中添加适量蒸馏水，2–3 天后全部开盖，继续炼苗 4–5 天。用自来水洗去根部残留培养基，移栽至混合基质(泥炭土:蛭石:珍

珠岩=1:1:1, v/v/v)中, 20 天后统计成活率。

成活率=(成活植株数/移栽植株数)×100%。

2.7 数据分析

采用 SPSS 27.0.1 软件进行数据统计分析。通过单因素方差分析(ANOVA)结合 LSD 及 Duncan 事后多重比较法检验各处理组间的差异, 以 $P<0.05$ 为差异显著。

3 结果与讨论

3.1 不同消毒剂对大果沙枣种子消毒效果的影响

不同消毒处理下大果沙枣种子消毒效果差异显著(表 1)。用 20%次氯酸钠溶液进行种子消毒的各处理组整体污染率较高, 消毒效果不理想。而用 0.1%氯化汞溶液对大果沙枣种子进行消毒时, 存活率随消毒时间的延长呈下降趋势, 污染率则随消毒时间的延长逐渐降低, 表明增加消毒时间可提升灭菌彻底性, 但会对种子活性造成一定损伤。其中, 用 0.1%氯化汞溶液消毒 10 分钟, 种子存活率可达 86.77%, 污染率仅为 2.5%, 在降低污染与保护种子活性间取得较好平衡。经综合分析确定 T6 为大果沙枣种子最佳消毒处理(表 1)。

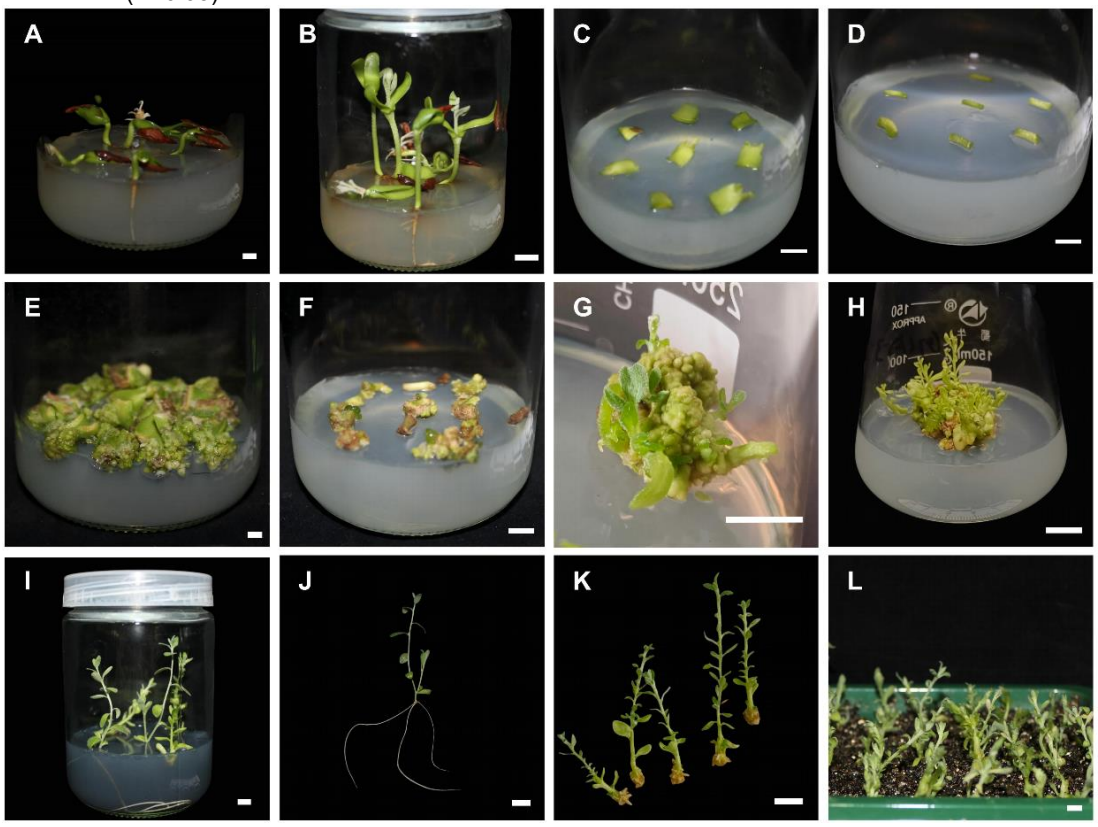
表 1 不同消毒处理对大果沙枣种子消毒效果的影响

Table 1 Effects of different disinfection treatments on the disinfection effect of seeds of *Elaeagnus moorcroftii*

Treatments	Disinfection reagent	Disinfection time (min)	Survival rate (%)	Contamination rate (%)
T1	20% NaClO	15	77.00±0.36 e	21.40±0.67 a
T2		20	88.27±0.64 a	9.70±0.32 d
T3		25	82.67±0.50 c	17.37±0.35 b
T4		30	73.57±0.52 f	14.90±0.23 c
T5	0.1% $HgCl_2$	5	87.10±0.21 ab	5.17±0.07 e
T6		10	86.77±0.24 b	2.50±0.00 f
T7		15	80.83±0.35 d	1.80±0.90 f
T8		20	80.50±0.51 d	1.67±0.83 f

数据为 3 次重复的平均值±标准误; 同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Data are means±SE from 3 replicates; different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$).



© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

图 1 大果沙枣组培再生体系建立

(A) 10 天苗龄无菌苗; **(B)** 20 天苗龄无菌苗; **(C), (D)** 子叶和下胚轴外植体; **(E), (F)** 子叶和下胚轴诱导的愈伤组织; **(G), (H)** 不定芽诱导; **(I), (J)** 生根培养; **(K)** 未生根不定芽; **(L)** 移栽。Bars=1 cm

Figure 1 Establishment of the tissue culture regeneration system for *Elaeagnus moorcroftii*

(A) 10-day-old sterile seedlings; **(B)** 20-day-old sterile seedlings; **(C), (D)** Cotyledon and hypocotyl explants; **(E), (F)** Callus induced from cotyledons and hypocotyls; **(G), (H)** Adventitious bud induction; **(I), (J)** Rooting culture; **(K)** Unrooted adventitious buds; **(L)** Transplanting. Bars=1 cm

3.2 不同植物生长调节剂组合对愈伤组织诱导的影响

分别以无菌苗 10 天苗龄和 20 天苗龄的子叶及 10 天苗龄和 20 天苗龄的下胚轴(图 1A–D)为实验材料，取外植体在愈伤组织诱导培养基中培养 2 周，愈伤组织开始形成(图 1E, F)。在愈伤组织诱导过程中，从质地、颜色及形态上可观察到 3 种类型愈伤组织。其中 A 类为淡黄绿色、颗粒瘤状的致密型愈伤组织(图 2A), B 类为翠绿色、疏松颗粒状的松脆型愈伤组织(图 2I), C 类为白褐色、絮状的松散易碎型愈伤组织(图 2L)。对 3 类愈伤组织形态及其组织结构进行观察，结果显示，从 A 类愈伤组织中观察到典型的球形胚、心形胚、鱼雷形胚、子叶形胚等胚性结构(图 2B–H)，而在 B 类和 C 类愈伤组织中未观察到这种结构(图 2I–N)。观察结果表明 A 类愈伤组织是胚性愈伤组织, B 类和 C 类愈伤组织是非胚性愈伤组织。

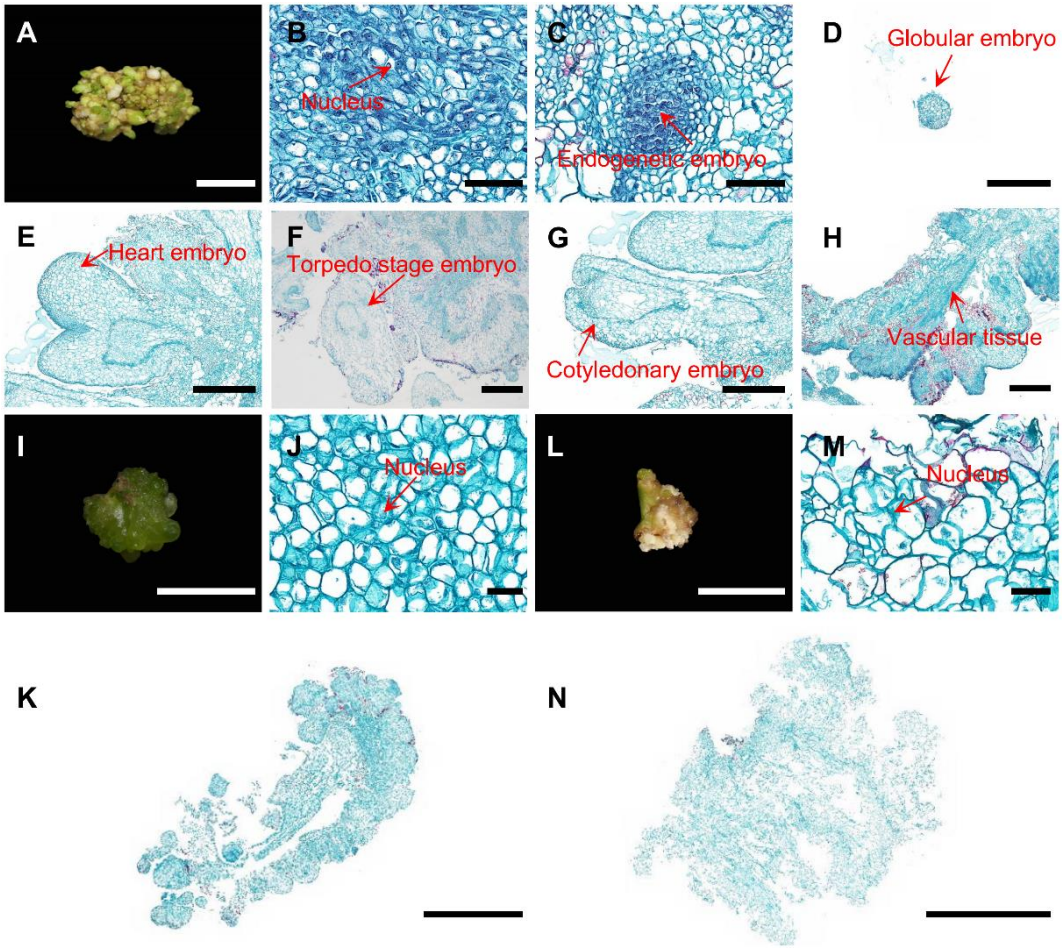


图 2 大果沙枣不同愈伤组织类型的组织形态结构

(A) A 类愈伤组织(bar=1 cm); **(B)–(H)** 在 A 类愈伤组织中观察到的细胞核(bar=50 μm)、内生胚(bars=100 μm)、球形胚(bar=1 mm)、心形胚(bar=1 mm)、鱼雷形胚(bar=1 mm)、子叶形胚(bar=1 mm)和维管组织(bar=1 mm); **(I)** B 类愈伤组织(bar=1 cm); **(J), (K)** 在 B 类愈伤组织中观察到的细胞核(bar=50 μm)和愈伤组织整体结构(bar=5 mm); **(L)** C 类愈伤组织(bar=1 cm); **(M), (N)** 在 C 类愈伤组织中观察到的细胞核(bar=50 μm)和愈伤组织整体结构(bar=5 mm)

Figure 2 Histological structure of different callus types in *Elaeagnus moorcroftii*

(A) Type A callus (bar=1 cm); **(B)–(H)** The nucleus (bar=50 μm) observed in type A callus, endogenetic embryo (bars=100 μm), globular embryo (bar=1 mm), heart embryo (bar=1 mm), torpedo stage embryo (bar=1 mm), cotyledonary embryo (bar=1 mm) and vascular tissue (bar=1 mm); **(I)** Type B callus (bar=1 cm); **(J), (K)** The nucleus (bar=50 μm) and overall structure (bar=5 mm) of callus observed in type B callus; **(L)** Type C callus (bar=1 cm); **(M), (N)** The nucleus (bar=50 μm) and overall structure (bar=5 mm) of callus observed in type C callus

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

用不同苗龄的外植体(子叶和下胚轴)愈伤组织诱导效果有差异(表 2, 表 3)。10 天苗龄比 20 天苗龄下胚轴的愈伤组织及胚性愈伤组织诱导效果好, 且 B1 处理下 10 天苗龄下胚轴的愈伤组织诱导率和胚性愈伤组织诱导率达到最高, 分别为 94.12%和 92.16% (表 2)。20 天苗龄下胚轴诱导效果最好的为A1处理, 愈伤组织诱导率为85.42%, 胚性愈伤组织诱导率为 22.92% (表 2)。研究结果表明, 外植体苗龄是影响下胚轴愈伤组织及胚性愈伤组织诱导率的关键因素。相较于下胚轴, 子叶外植体的愈伤组织及胚性愈伤组织诱导率整体表现更优, 其中 10 天苗龄子叶在各植物生长调节剂浓度组合下愈伤组织诱导率均高于 90% (表 3)。在 A1–A3 处理中, 6-BA 浓度为 2.0 mg·L^{-1}, 此时 10 天苗龄和 20 天苗龄子叶的愈伤组织诱导率和胚性愈伤组织诱导率均较高。在 A3 处理下 10 天苗龄和 20 天苗龄子叶的愈伤组织诱导率和胚性愈伤组织诱导率分别达 98.55%和 98.33%。综合分析表明, 以 10 天苗龄子叶为外植体及 A3 培养基, 可获得 98.55%的愈伤组织诱导率与胚性愈伤组织诱导率。

表 2 不同浓度植物生长调节剂组合对大果沙枣下胚轴愈伤组织诱导的影响
Table 2 Effects of different concentration combinations of plant growth regulators on hypocotyl callus induction of *Elaeagnus moorcroftii*

Type	6-BA (mg·L^{-1})	NAA (mg·L^{-1})	10 d hypocotyl		20 d hypocotyl	
			Callus induction rate (%)	Embryogenic callus induction rate (%)	Callus induction rate (%)	Embryogenic callus induction rate (%)
A1	2.0	0.1	90.11±2.20 a	90.11±2.20 a	85.42±2.08 a	22.92±2.08 a
A2	2.0	0.2	96.67±3.33 a	68.89±1.11 c	86.35±0.32 a	18.10±1.90 abc
A3	2.0	0.5	95.24±4.76 a	68.26±1.59 c	84.29±0.96 ab	5.60±1.07 e
B1	1.5	0.1	94.12±0.00 a	92.16±1.96 a	77.78±0.00 d	7.41±1.85 de
B2	1.5	0.2	88.89±5.56 a	76.67±5.09 b	82.44±1.24 bc	9.44±1.28 de
B3	1.5	0.5	96.30±3.70 a	33.33±0.00 f	80.95±0.00 c	12.70±1.59 bcd
C1	1.0	0.1	71.11±4.44 b	46.67±3.33 e	71.13±0.54 e	15.36±1.82 bcd
C2	1.0	0.2	95.69±2.16 a	58.75±1.25 d	58.33±0.00 g	11.11±2.78 cde
C3	1.0	0.5	95.40±2.31 a	37.14±1.43 f	67.68±0.50 f	0.00±0.00 f

数据为 3 次重复的平均值±标准误; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
Data are means±SE from 3 replicates; different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 3 不同浓度植物生长调节剂组合对大果沙枣子叶愈伤组织诱导的影响
Table 3 Effects of different concentration combinations of plant growth regulators on callus induction of cotyledon of *Elaeagnus moorcroftii*

Type	6-BA (mg·L^{-1})	NAA (mg·L^{-1})	10 d cotyledon		20 d cotyledon	
			Callus induction rate (%)	Embryogenic callus induction rate (%)	Callus induction rate (%)	Embryogenic callus induction rate (%)
A1	2.0	0.1	96.75±1.63 ab	95.08±0.08 ab	94.32±1.33 a	94.32±1.33 a
A2	2.0	0.2	93.06±1.39 ab	93.06±1.39 ab	98.55±1.45 a	95.65±0.00 a
A3	2.0	0.5	98.55±1.45 a	98.55±1.45 a	98.33±1.67 a	98.33±1.67 a
B1	1.5	0.1	94.92±0.98 ab	93.88±0.06 ab	84.48±0.14 b	84.48±0.14 b
B2	1.5	0.2	94.45±2.78 ab	94.45±2.78 ab	97.06±0.00 a	94.12±0.00 a
B3	1.5	0.5	92.96±3.53 ab	92.96±3.53 ab	93.44±1.28 a	80.31±2.05 b
C1	1.0	0.1	91.22±1.06 b	86.81±0.14 c	83.33±4.17 b	83.33±4.17 b
C2	1.0	0.2	92.38±1.74 ab	92.38±1.74 b	84.21±0.21 b	80.26±0.26 b
C3	1.0	0.5	95.63±1.04 ab	84.62±1.04 c	94.32±1.33 a	84.30±1.35 b

数据为 3 次重复的平均值±标准误; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
Data are means±SE from 3 replicates; different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

3.3 不同植物生长调节剂组合对不定芽诱导的影响

选取生长状况良好的 A 类愈伤组织, 将其接种至含不同浓度 6-BA 和 NAA 组合的 MS 不定芽诱导培养基中进行分化培养, 20 天后观察到愈伤组织表面逐渐分化出不定芽(图 1G, H)。实验结果表明, 不同植物生长调节剂组合对A类愈伤组织不定芽分化的影响差异显著(表4)。当 6-BA 浓度一定时, 随着 NAA 浓度从 0.1 mg·L^{-1} 逐步升高至 0.5 mg·L^{-1}, 不定芽诱导率呈持续下降趋势。当 6-BA 浓度为 0.6 mg·L^{-1}、NAA 浓度为 0.1 mg·L^{-1} 时诱导效果较好, 不定芽诱导率可达 63.35%, 平均出芽数最高为 4.08 个, 且分化出的不定芽生长健壮、形态正常, 为后续生根奠定了良好基础。

表 4 不同浓度植物生长调节剂组合对大果沙枣不定芽诱导的影响
Table 4 Effects of different concentration combinations of plant growth regulators on the induction of adventitious buds of *Elaeagnus moorcroftii*

Types	6-BA ($mg·L^{-1}$)	NAA ($mg·L^{-1}$)	Adventitious bud induction rate (%)	Average sprouting number	Bud growth situation
D1	1.0	0.1	54.84±1.38 b	3.22±0.19 bc	The buds are short and thin
D2	1.0	0.2	50.07±1.32 c	2.71±0.16 d	The buds are thin and weak
D3	1.0	0.5	28.50±0.89 e	2.51±0.11 d	The buds are short and thin
E1	0.6	0.1	63.35±0.90 a	4.08±0.12 a	The buds are long and thick
E2	0.6	0.2	55.69±0.59 b	3.50±0.19 b	The buds are thin and weak
E3	0.6	0.5	31.72±0.96 d	2.95±0.13 cd	The buds are short and thin

数据为 3 次重复的平均值±标准误; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
Data are means±SE from 3 replicates; different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

3.4 不同植物生长调节剂浓度对生根培养的影响

待不定芽长到 2–3 cm 时, 切取无菌单芽接种至添加不同浓度 ABT 和 IBA 的生根培养基上, 15–20 天后, 从不定芽基部成功诱导出不定根(图 1I, J)。实验结果显示, 随着 ABT 浓度逐渐增加, 生根率呈先升高后降低的趋势, 且 ABT 处理组诱导的根部易形成愈伤组织(图 1K), 在炼苗移栽时容易洗掉脱落; 而 IBA 处理组诱导的根部不易形成愈伤组织, 适合炼苗移栽, 且 IBA 浓度为 1.0 $mg·L^{-1}$ 时生根率最高(表 5)。综上表明, 不定芽生根最适培养基是 S5 培养基, 不定芽生根率达 68.58%, 平均根数为 3.79 条, 平均根长为 3.53 cm (表 5), 可获得生长健壮、适配移栽的优质组培生根苗。

表 5 不同浓度植物生长调节剂组合对大果沙枣生根的影响
Table 5 Effects of different concentration combinations of plant growth regulators on root growth of *Elaeagnus moorcroftii*

No.	ABT ($mg·L^{-1}$)	IBA ($mg·L^{-1}$)	Rooting rate (%)	Average root number	Average root length (cm)
S1	0.5	0	48.61±0.70 d	4.92±0.14 a	2.10±0.12 cd
S2	1.0	0	58.75±0.84 b	5.14±0.12 a	2.60±0.06 b
S3	2.0	0	53.76±0.79 c	4.50±0.10 b	2.07±0.09 cd
S4	0	0.5	52.46±1.44 c	3.97±0.11 c	1.93±0.09 d
S5	0	1.0	68.58±0.50 a	3.79±0.11 cd	3.53±0.12 a
S6	0	2.0	53.91±0.88 c	3.52±0.05 d	2.27±0.09 c

数据为 3 次重复的平均值±标准误; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
Data are means±SE from 3 replicates; different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

3.5 炼苗与移栽

组培苗在生根培养基中生长 30 天后, 选择生长健壮的组培苗, 先松开组培瓶盖并在其中添加适量蒸馏水, 2 天后全部开盖, 继续炼苗 4–5 天, 用自来水冲洗再生植株根部以去除残留的培养基, 然后移栽到混合基质(泥炭土:蛭石:珍珠岩=1:1:1, v/v/v)中(图 1L), 置于光照培养箱。移栽苗长势良好, 5 天后长出新叶, 叶片翠绿、舒展。生根苗移栽成活率达 65%以上。

3.6 讨论

选择适宜的外植体和消毒方式是建立组培再生体系的第 1 步。努尔麦麦提·艾麦提等(2025)以当年生大果沙枣枝条茎段为外植体, 用 0.1%氯化汞溶液消毒, 存活率仅为 36.67%, 难以满足产业化快繁效率的要求, 仍有较大提升空间。本研究以种子作为大果沙枣离体培养的初始外植体, 经消毒后接种到培养基上, 萌发出无菌苗, 再以无菌苗作为后续组培的外植体,

可显著提高诱导效率(附表 1)。种子表面常附着土壤真菌和细菌，种皮缝隙中亦可能藏匿内生微生物，是导致材料污染和腐烂的主要原因。因此，建立高效温和的种子表面消毒体系，是获得无菌苗、保障后续再生流程顺利推进的基础。本研究发现，将大果沙枣种子剥去果壳，采用75%乙醇预处理1分钟结合0.1%氯化汞溶液处理10分钟，可将污染率控制在3%以下，同时保持86%以上的种子存活率(表 1)。杨育红(2006)对沙枣种子的消毒方式为用70%乙醇预处理30秒结合0.1%氯化汞溶液处理7–9分钟，本研究所得消毒方法与其相似。

愈伤组织作为外植体脱分化与再分化的中间桥梁，其胚性状态直接决定后续器官发生的潜能。本研究通过设置不同浓度 6-BA 与 NAA 组合，结合不同苗龄子叶和下胚轴为外植体，系统探究了大果沙枣愈伤组织及胚性愈伤组织诱导效率。通过形态学鉴定明确了胚性愈伤组织为淡黄绿色、颗粒瘤状、致密型结构；细胞学特征为细胞核大、存在典型球形胚等胚性结构(图 2)。胚性愈伤组织表现出双分化潜能，在特定植物生长调节剂作用下既能产生不定芽也能形成体细胞胚(Sun et al., 2025)。本研究组培再生体系包含体细胞胚胎发生和器官发生 2 个途径(附表 1)，相较于努尔麦麦提·艾麦提等(2025)未经愈伤组织诱导的丛芽诱导途径，不仅诱导效率更高、繁殖系数更大，而且获得的愈伤组织为遗传转化奠定了基础，为品种改良和遗传育种提供了新途径。本研究发现，10 天苗龄下胚轴在愈伤组织及胚性愈伤诱导率上均显著优于 20 天苗龄下胚轴，表明幼嫩组织细胞分裂活跃、分化程度低，更易响应植物生长调节剂而启动脱分化程序(表 2)。值得注意的是，子叶作为外植体整体诱导率较高，但苗龄效应不显著，提示其不同发育状态响应植物生长调节剂敏感性较下胚轴低(表 3)。本研究结果部分支持前人关于沙枣的研究(杨育红 2006)，差异可能源于物种特异性、植物生长调节剂配比或培养条件，这更凸显建立大果沙枣专属再生体系的必要性。

不定芽诱导是实现离体快繁的核心环节，其效率直接影响组培苗的繁殖系数与质量。本研究采用以细胞分裂素为主、低浓度生长素为辅的策略，符合木本植物芽分化的普遍规律，即高细胞分裂素/生长素比值促进芽原基形成(Skoog and Miller, 1957)。结果显示，在培养基为 MS+0.6 mg·L^{-1} 6-BA+0.1 mg·L^{-1} NAA 条件下，不定芽诱导率达 63.35%，显著优于其它组合(表 4)。尤为关键的是，0.6 mg·L^{-1} 6-BA 作用效果优于 1.0 mg·L^{-1} 6-BA，表明大果沙枣对细胞分裂素高度敏感，高浓度反而抑制芽分化或诱发玻璃化。这一现象与大果沙枣试管苗增殖中过高浓度 6-BA 抑制大果沙枣继代增殖的结果相符(努尔麦麦提·艾麦提等，2025)，但与杨育红(2006)报道的最优浓度(1.0 mg·L^{-1} 6-BA)存在差异，再次印证不同基因型或物种对植物生长调节剂响应阈值存在显著差异。此外，低浓度(0.1 mg·L^{-1}) NAA 有助于维管组织极性建立，提升芽体健壮度，体现了生长素在器官建成中的协同作用。

组培苗生根是木本植物组织培养的一大难点，生根阶段无根苗基部易褐化，阻碍生根。生长素是诱导不定根发生的重要激素(Song et al., 2021)。本研究在大果沙枣不定芽生根诱导过程中，比较了 ABT 生根粉与 IBA 两种外源处理对生根效率及根系质量的影响，同时针对褐化问题优化了生根培养基配方。结果表明，在生根率、根长及移栽适应性方面 IBA 的作用显著优于 ABT，且 2 种处理均表现出低浓度促进高浓度抑制的效应。其中，1.0 mg·L^{-1} IBA 处理获得最优生根效果，显著高于同浓度 ABT 处理(表 5)。从根系形成特性来看，ABT 处理组在茎基部易形成愈伤组织，此类愈伤组织在炼苗移栽清洗时易脱落，导致根系与茎段连接断裂，降低移栽成活率；而 IBA 处理组不易形成愈伤组织，不定根直接发生于茎基部，根系与茎段结合紧密，可增强组培苗移栽适应性。这与宋继园(2008)的研究结论相似，该研究显示，附加 NAA 的培养基易形成愈伤组织影响移栽成活率，而附加 IBA 的培养基生根效果更优且无明显愈伤组织形成。此外，本研究采用 1/2MS 基本培养基配合活性炭(0.5 mg·L^{-1})的策略，进一步优化了生根微环境，有效解决了生根阶段褐化问题，实验中添加活性炭的处理组均未发生褐化。降低无机盐浓度可减轻渗透胁迫，有利于根原基突破表皮；而活性炭不仅能吸附培养基中可能积累的酚类氧化物，还能使培养基形成类似于土壤的黑暗环境，有利于无菌苗生根及根伸长(Shinde et al., 2010)。

作者贡献声明

付新星：构思并设计实验、分析数据和撰写论文；朱小娟：完成实验、分析数据和撰写论文；张嘉俊：完成实验；师一凡：分析数据；赵亚婷：撰写论文；杜婷：完成实验；苏雪：构思并设计实验、分析数据和撰写论文。

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

参考文献

Azmat MA, Shahzad A, Shaban M, Khan AA, Shakoor S (2025). Exploring the multifaceted potential of *Elaeagnus angustifolia* L.: a comprehensive review of its nutritional, pharmacological, and environmental significance. *Food Sci Nutr* **13**, e70486.

Bi CZ, Li QW, Guo ZY, Cai YN, He LF, Geng HK (2020). Research progress on seedling reproduction technology of *Elaeagnus angustifolia*. *Mod Hortic* **43**(13), 55–56. (in Chinese)
毕春竹, 李庆卫, 郭子燕, 蔡亚南, 何立飞, 耿红凯 (2020). 沙枣种苗繁殖技术的研究进展. 现代园艺 **43**(13), 55–56.

Dong XG, Li QM, Chen SG, Li J, Tao J (2010). Tissue culture and rapid propagation of *Elaeagnus angustifolia*. *Jilin For Sci Technol* **39**(4), 10–13. (in Chinese)
董晓刚, 李青梅, 陈士刚, 李娟, 陶晶 (2010). 沙枣组织培养与快速繁殖. 吉林林业科技 **39**(4), 10–13.

Du H, Chen J, Tian S, Gu H, Li N, Sun Y, Ru J, Wang J (2016). Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activities *in vitro* of polysaccharides from *Elaeagnus angustifolia* L. pulp. *Carbohydr Polym* **151**, 348–357.

Farzaei MH, Bahramsoltani R, Abbasabadi Z, Rahimi R (2015). A comprehensive review on phytochemical and pharmacological aspects of *Elaeagnus angustifolia* L. *J Pharm Pharmacol* **67**, 1467–1480.

Huang JH, Maimaitijiang (2005). A discussion on the classification of *Elaeagnus* in Xinjiang. *Plant Res* **25**, 268–271. (in Chinese)
黄俊华, 买买提江 (2005). 新疆胡颓子属植物(*Elaeagnus*)分类探讨. 植物研究 **25**, 268–271.

Huang JH, Maimaitijiang, Yang CY, Wang CF (2005). Research status and prospect of *Elaeagnus angustifolia* L. *China Wild Plant Resour* **24**(3), 26–33. (in Chinese)
黄俊华, 买买提江, 杨昌友, 王朝锋 (2005). 沙枣(*Elaeagnus angustifolia* L.)研究现状与展望. 中国野生植物资源 **24**(3), 26–33.

Liang BB, Wang WJ, Fan XX, Kurakov AV, Liu YF, Song FQ, Chang W (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi can ameliorate salt stress in *Elaeagnus angustifolia* by improving leaf photosynthetic function and ultrastructure. *Plant Biol* **23**, 232–241.

Liu QL, Liu LY, Sheng W (2021). Nutritional analysis and development and utilization of Xinjiang *Elaeagnus angustifolia* fruit. *Mod Gard* **44**(9), 54–56. (in Chinese)
刘巧玲, 刘丽燕, 盛玮 (2021). 新疆大果沙枣果实营养分析及开发利用. 现代园艺 **44**(9), 54–56.

Ma W, Wang P, Huang J, Zhang D, Yang W, Pan B, Shi W (2021). The taxonomic relationship between *Elaeagnus moorcroftii* and *E. angustifolia* (Elaeagnaceae) based on morphological similarities and simple-sequence repeat markers. *Nordic J Bot* **39**, e03011.

Nazir N, Zahoor M, Nisar M (2020). A review on traditional uses and pharmacological importance of genus *Elaeagnus* species. *Bot Rev* **86**, 247–280.

Nurmaiti Aimaiti, Liu QL, Liu B, Wang R (2025). Establishment of tissue culture and rapid propagation system for *Elaeagnus angustifolia*. *J Plant Physiol* **61**, 1435–1442. (in Chinese)
努尔麦麦提·艾麦提, 刘巧玲, 刘彬, 王蓉 (2025). 大果沙枣组培快繁体系的建立. 植物生理学报 **61**, 1435–1442.

Shinde KA, Patel RM, Shah RR (2010). Proliferation, rooting and acclimatization of micropropagated grape cv. Thompson seedless. *Int J Plant Sci* **5**, 98–101.

Skoog F, Miller CO (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp Soc Exp Biol* **11**, 118–130.

Song JY (2008). Study on Plant Cultivation and Callus Culture Techniques to Promote the Synthesis of Concentrated Tannin in *Elaeagnus angustifolia*. Master's thesis. Harbin: Northeast Forestry University. (in Chinese)
宋继园 (2008). 促进沙枣浓缩鞣质合成的植株栽培和愈伤组织培养技术研究. 硕士论文. 哈尔滨: 东北林业大学.

Song X, Liu H, Bu D, Xu H, Ma Q, Pei D (2021). Rejuvenation remodels transcriptional network to improve rhizogenesis in mature *Juglans* tree. *Tree Physiol* **41**, 1938–1952.

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

Sun JS, Li JW, Zhao MN, Zheng GS, Zhang J, Di B, Ma WJ, Wang JH, Hu RY (2025). Successful establishment of somatic embryogenesis and shoot organogenesis systems in *Catalpa bungei* C.A.Mey. *Plant* **14**, 2688.
Sun M, Lin Q (2010). A revision of *Elaeagnus* L. (Elaeagnaceae) in mainland China. *J Syst Evol* **48**, 356–390.
Tan SH, Deng SN, Cheng MY, Liu BW, Zhang C, Li S, Zhu CY, Geng JJ, Wang WJ (2024). Establishment of *in vitro* rapid propagation technology for persimmon rootstock Youxi L938. *J Fruit Sci* **41**, 1875–1884. (in Chinese)
檀苏红, 邓少宁, 程梦叶, 刘博威, 张驰, 李双, 朱陈宇, 耿晶晶, 王文江 (2024). 柿砧木优系 L938 离体快繁技术建立. 果树学报 **41**, 1875–1884.
Wang L (2020). Study on Tending Technology of *Tamarix* and *Elaeagnus angustifolia* Suitable Trees in Saline-alkali Soil in the Yellow River Delta. Master's thesis. Jinan: Shandong Normal University. (in Chinese)
王磊 (2020). 黄河三角洲地区盐碱地适生林木柽柳和沙枣抚育技术的研究. 硕士论文. 济南: 山东师范大学.
Wang L, Zhang R, Zeng YL, Liu LY (2024). Research progress on propagation technology and stress resistance of *Elaeagnus angustifolia* seedlings. *Mol Plant Breed* 1–15. 2026-02-25.https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20241108.1803.004. (in Chinese)
王来, 张睿, 曾幼玲, 刘丽燕 (2024). 沙枣种苗繁殖技术及抗逆性研究进展. 分子植物育种 1–15. 2026-02-25. https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20241108.1803.004.
Yang YH (2006). Tissue Culture and Rapid Propagation of Salt-tolerant Tree Species *Elaeagnus angustifolia*, *Haloxylon ammodendron* and *Atriplex tetraptera* and Screening of Salt-tolerant Strains. Master's thesis. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University. (in Chinese)
杨育红 (2006). 耐盐树种沙枣、梭梭和四翅滨藜的组培快繁及耐盐株系筛选. 硕士论文. 杨凌: 西北农林科技大学.
Zhai SX, Huang JH, Zheng Y, Song DH (2014). Diversity analysis and subspecific classification of *Elaeagnus angustifolia* in Xinjiang based on phenotypic traits. *Tianjin Agric Sci* **20**(9), 107–112. (in Chinese)
翟申修, 黄俊华, 郑尧, 宋丹华 (2014). 基于表型性状的新疆大果沙枣多样性分析及种下等级的划分. 天津农业科学 **20**(9), 107–112.
Zhong M, Zhang Y, Yan YF (2020). Application and planting technology of *Elaeagnus angustifolia* in greening barren mountains in Shihezi City. *Mod Agric Technol* **11**, 183–187. (in Chinese)
钟敏, 张英, 闫玉凤 (2020). 沙枣在石河子市荒山绿化中的应用及栽植技术. 现代农业科技 **11**, 183–187.

Establishment of an Efficient Tissue Culture Regeneration System from Cotyledons and Hypocotyls of *Elaeagnus moorcroftii*

Xinxing Fu*, Xiaojuan Zhu, Jiajun Zhang, Yifan Shi, Yating Zhao, Ting Du, Xue Su*

College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

INTRODUCTION: *Elaeagnus moorcroftii* belongs to the genus *Elaeagnus* of the family Elaeagnaceae, and it is an important native tree species integrating economic and ecological benefits in Northwest China. At present, studies on its tissue culture and *in vitro* regeneration are still relatively insufficient; only one study carried out direct cluster bud induction using tender stem segments as explants. However, this type of explant is limited in collection and low in regeneration efficiency, which is difficult to meet the needs of large-scale propagation and genetic transformation. Moreover, this rapid propagation method does not involve the dedifferentiation of explants to form callus. Establishing a tissue culture regeneration system through the callus pathway can not only break through the limitations of explant collection mentioned above and realize efficient large-scale rapid propagation, but also take callus as an ideal receptor for subsequent genetic

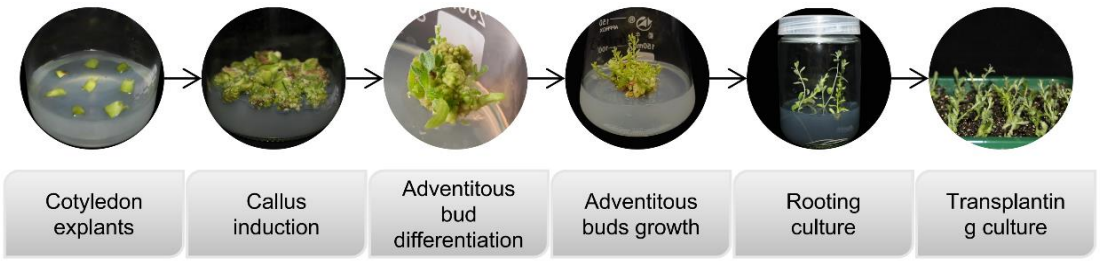
© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

transformation, laying a foundation for target gene manipulation, variety improvement, stress-resistant breeding and other related researches.Taking seeds of *E. moorcroftii* as materials, this study optimized the disinfection system for sterileseedlings, explored the effects of culture media, explant parts and seedling ages on callus induction, screened the optimal medium for embryogenic callus induction by combining morphological and histocytological identification, established the technical procedures of adventitious bud differentiation, rooting culture, acclimatization and transplantation, and constructed a stable and efficient *in vitro* regeneration system. This study provides theoretical and technical support for its large-scale seedling raising and subsequent molecular breeding research.

RATIONALE: To fill the gap that there is a lack of an efficient tissue culture regeneration system established based on the callus pathway for *E. moorcroftii*, this study used cotyledons and hypocotyls from sterile seedlings as explants. Through systematic optimization of tissue culture conditions, embryogenic callus was successfully induced. Furthermore, a dual-regeneration system integrating both somatic embryogenesis and adventitious shoot organogenesis was established. Ultimately, a complete technical protocol was achieved, encompassing the entire process from callus induction to the successful acclimatization and transplantation of regenerated plantlets.

RESULTS: The results showed that the best disinfection method for *E. moorcroftii* seeds was 75% alcohol for 1 minute and 0.1% mercuric chloride for 10 minutes, the survival rate reaches 86.77%, and the pollution rate is 2.5%. In the callus induction stage, when using 10-day-old cotyledons as explants and medium A3 (MS+2.0 mg·L^{-1} 6-BA+0.5 mg·L^{-1} NAA+30 g·L^{-1} sucrose+6 g·L^{-1} agar), a relatively high callus induction rate (98.55%) can be obtained, and all the calluses are embryogenic calluses. The most suitable medium for adventitious bud induction was E1 (MS+0.6 mg·L^{-1} 6-BA+0.1 mg·L^{-1} NAA+30 g·L^{-1} sucrose+6 g·L^{-1} agar). The adventitious bud induction rate reaches 63.35%, and the average number of buds is 4.08. The most suitable medium for rooting was S5 (1/2MS+1.0 mg·L^{-1} IBA+15 g·L^{-1} sucrose+6 g·L^{-1} agar+0.5 g·L^{-1} activated carbon). The rooting rate reaches 68.58%, the average number of roots is 3.79, and the average length of roots is 3.53 cm. The survival rate of rooting seedlings transplanted was above 65%. This study provides certain technical references for the rapid propagation and large-scale production of *E. moorcroftii* seedlings.

CONCLUSION: This study established an efficient callus-based tissue culture regeneration system using cotyledons and hypocotyls from *E. moorcroftii* sterile seedlings as explants. By optimizing plant growth regulator combinations for callus induction and adventitious bud differentiation, we achieved an embryogenic callus induction rate of 98.55% and an adventitious bud induction rate of 63.35%. These results significantly improve the efficiency of *in vitro* regeneration, providing a theoretical basis and technical support for the large-scale seedling production of this species. Furthermore, this system lays a solid foundation for the subsequent construction of genetic transformation systems and transgenic breeding research.



The process of inducing and differentiating into seedlings from cotyledon explants of *Elaeagnus moorcroftii*

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

Key words *Elaeagnus moorcroftii*, sterile seedlings, tissue culture, callus, regeneration system

Fu XX, Zhu XJ, Zhang JJ, Shi YF, Zhao YT, Du T, Su X (2026). Establishment of an efficient tissue culture regeneration system from cotyledons and hypocotyls of *Elaeagnus moorcroftii*. *Chin Bull Bot* **61**, 1–11.

* Authors for correspondence. E-mail: fuxinxing@nwnu.edu.cn; Suxue@nwnu.edu.cn

（责任编辑：白羽红）

附表 1 大果沙枣组培再生体系的关键技术指标对比

Appendix table 1 Comparison of key technical indicators in the tissue culture regeneration system of *Elaeagnus moorcroftii*

Key technical indicators	This study	Nuermaimaiti et al. (2025)	Technical advantages of this study
Explant type	Seeds	Current-year nonlignified branch segments	Using seeds as initial explants can quickly obtain a large number of sterile seedlings, solving the limitation that explant collection is affected by the plant growth cycle, environmental conditions and collection site
Explant disinfection treatment and survival rate	Disinfected with 0.1% $HgCl_2$ for 10 min, survival rate 86.77%	Disinfected with 0.1% $HgCl_2$ for 4 min, survival rate 36.67%	The survival rate of seed disinfection is significantly higher than that of branch segments, indicating that seeds are more suitable as initial materials for tissue culture of large-fruited *Elaeagnus angustifolia*
Tissue culture induction pathway	Simultaneous existence of somatic embryogenesis and organogenesis pathways	Single pathway of cluster bud induction	The tissue culture regeneration system of this study includes two pathways: somatic embryogenesis and organogenesis. Compared with the single pathway of cluster bud induction, it not only has higher induction efficiency and larger propagation coefficient, but also the acquisition of callus lays a foundation for genetic transformation, providing possibilities for variety improvement and genetic breeding
Induction rate	Callus induction rate 98.55%, adventitious bud induction rate 63.35%	Cluster bud induction rate 63.33%	The callus induction rate of this study is as high as 98.55%, and the adventitious bud induction rate is equivalent to the cluster bud induction rate, which further improves the reliability and practicability of tissue culture induction and provides a stable guarantee for the large-scale propagation of subsequent tissue culture seedlings
Plant growth regulator combinations	Callus induction: 2.0 $mg·L^{-1}$ 6-BA +0.5 $mg·L^{-1}$ NAA; Adventitious bud induction: 0.6 $mg·L^{-1}$ 6-BA+0.1 $mg·L^{-1}$ NAA	Cluster bud induction: 1.0 $mg·L^{-1}$ 6-BA+0.1 $mg·L^{-1}$ NAA	This study obtained the optimal plant growth regulator combinations for callus induction and adventitious bud induction, filling the gap in the medium formulation for callus induction of *E. moorcroftii*