

攀西西南山茶幼叶愈伤组织诱导研究

袁颖 (西昌学院农学系, 四川西昌 615013)

摘要 [目的] 探讨不同植物激素对西南山茶幼叶愈伤组织诱导的影响。[方法] 以西南山茶幼叶为外植体, MS 培养基为基本培养基, 添加3种植物激素 NAA、6-BA 和 2,4-D, 浓度分别为 0.5、1.0、2.0 和 4.0 ng/L, 研究在不同浓度植物激素配比条件下西南山茶幼叶愈伤组织诱导率及生长状态。[结果] 单因子诱导西南山茶幼叶愈伤组织形成时, 适当浓度的 NAA、6-BA 和 2,4-D 均能起到显著的诱导效应, 以 0.5 ng/L 浓度的 2,4-D 的效果最好, 所形成的愈伤组织黄绿色, 疏松, 生长状态最好, 利于培养, 但随 2,4-D 浓度增高会导致愈伤组织的褐化现象严重。组合因子诱导时, 以 NAA 1.0 ng/L + 6-BA 1.0 ng/L 的诱导率最高, 2,4-D 0.5 ng/L + 6-BA 1.0 ng/L 诱导愈伤组织的生长状态最好, 利于培养。[结论] 该研究为将植物组织培养技术应用于攀西西南山茶的快速繁殖提供了科学依据。

关键词 西南山茶; 组织培养; 愈伤组织; 激素

中图分类号 S603.6 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)17-07866-02

Research on Callus Inducement of *Camellia pitardii* Young Leaves in Panxi Area

YUAN Ying (Xichang College, Xichang, Sichuan 615013)

Abstract [Objective] The study aimed to explore the effect of different plant hormone on callus inducement of young leaves of *Camellia pitardii*. [Method] With *C. pitardii* young leaves as explant and MS medium as basic medium, three kinds of plant hormones of NAA, 6-BA and 2,4-D with concn. of 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 ng/L resp. were added into the medium to study the callus induction rate and growth state of *C. pitardii* young leaves under conditions of matching of plant hormone with different concn. [Result] When the forming of callus of *C. pitardii* young leaves induced by single factor, the NAA, 6-BA and 2,4-D with proper concn. could all has significant inductive effect, and the 2,4-D with 0.5 ng/L concn. was in the best result, in which the callus formed was yellowish green, loosened with optimal growth state, and favorable to be cultivated, but the browning of callus would be serious, which caused by the 2,4-D concn. rising up. When induced by combinatorial factors, the induction rate of NAA 1.0 ng/L + 6-BA 1.0 ng/L was highest, the 2,4-D 0.5 ng/L + 6-BA 1.0 ng/L for induced callus was in the best growth state, and favorable to be cultured. [Conclusion] The research provided scientific basis for the application of technology of plant tissue culture in the rapid propagation of *C. pitardii* in Panxi area.

Key words *Camellia pitardii*; Tissue culture; Callus; Hormone

西南山茶(*Camellia pitardii*) 属山茶科山茶属常绿灌木或小乔木, 广泛分布于攀枝花市的盐边及凉山州内部分县市海拔 1 600 ~ 2 800 m 的阔叶林、松林下或灌丛中^[1]。攀西地区是西南山茶的起源中心, 多样化分布中心地区之一。因此西南山茶具有很高的观赏价值, 同时西南山茶的种子又可以榨油, 具有较高经济价值^[2]。传统的种子繁殖、扦插、压条等繁育方法对西南山茶并不安全有效, 而且品种退化现象非常严重。将植物组织培养技术应用于攀西西南山茶的快速繁殖, 对保护攀西地区野生西南山茶种质资源, 丰富园林植物多样性、缓解优质种苗供应紧张的状况, 具有十分重要的意义。

1 材料与方

1.1 材料 供试材料采自海拔 2 200 m 的西昌市螺髻山大菁梁子, 带 3 ~ 4 片幼叶的西南山茶春天新生枝条。

1.2 方法 取西南山茶新生枝条上的幼嫩叶片, 用洗衣粉洗净, 流水冲洗 1 h, 再用无菌水浸泡 10 min, 70% 乙醇浸泡 30 s 左右, 然后用 0.1% $HgCl_2$ 水溶液灭菌 4 ~ 8 min, 再用无菌水清洗 4 ~ 5 次, 将叶片剪成 25 mm² 大小的方块作为外植体^[3]。采用 MS 培养基, 附加 3% 蔗糖和不同浓度的 NAA、6-BA 和 2,4-D, 调至 pH 值 5.8 ~ 6.0, 加 0.6% 琼脂, 在高压灭菌锅中 120 ~ 126 °C 灭菌 20 min。将剪好的叶片方块接种于附加不同激素的 4 种培养基上。培养温度为 26 °C; 光照 12 h/d; 光照强度 2 500 lx^[4-5]。40 d 后统计愈伤组织诱导率, 并观察生长状态。愈伤组织诱导率按下式进行计算:

$$\text{愈伤组织诱导率}(\%) = \frac{\text{愈伤组织块数}}{\text{接种外植体块数}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 单因子的诱导作用 试验选取了 NAA、6-BA、2,4-D 3 种植物激素附加于 MS 基本培养基中^[6], 浓度分别为 0.5、1.0、2.0 和 4.0 ng/L, 用剪好的幼叶方块作为外植体接种。每种浓度接种 20 瓶, 每瓶接种 10 个外植体, 共计 200 个外植体。培养 40 d 后统计结果, 计算诱导率, 并观察生长状态。

2.1.1 NAA 的诱导效应。 由表 1 可以看出, 随着 NAA 的浓度梯度升高, 愈伤组织诱导效应显著提高, 其诱导率呈逐步上升的趋势。当 NAA 浓度从 0.5 ng/L 升高到 2.0 ng/L 的过程中, 愈伤组织生长状态由较差或一般逐步表现为较好, NAA 浓度达到 2.0 ng/L 时, 生长状态表现为最好状态, 但形成的愈伤组织呈浓绿色、较硬, 不利于培养。当 NAA 浓度升高到 4.0 ng/L 时, 愈伤组织诱导率虽然最高, 但生长状态普遍表现为差。

2.1.2 6-BA 的诱导效应。 从表 1 可以看出, 随着 6-BA 浓度梯度由 0.5 ng/L 逐步升高到 2.0 ng/L, 西南山茶幼嫩叶片的愈伤组织诱导率逐步提高, 生长状态也逐步变好, 其中以浓度 2.0 ng/L 时诱导率最高, 同时愈伤组织为黄绿色、疏松, 利于培养。当 6-BA 浓度上升到 4.0 ng/L 时, 诱导率下降, 愈伤组织生长状态差。

2.1.3 2,4-D 的诱导效应。 从表 1 可知, 2,4-D 对西南山茶叶片愈伤组织诱导时, 从诱导率分析, 当 2,4-D 浓度从 0.5 ng/L 逐步增加到 2.0 ng/L 的过程中, 诱导率不断提高, 其中以浓度 2.0 ng/L 时诱导率最高。愈伤组织在 2,4-D 浓度为 0.5 ng/L 时, 生长状态最好且愈伤组织呈黄绿色、较疏松, 生长较快, 利于培养。此后, 随浓度增加生长状态逐渐变差, 并产生明显褐化现象。

2.2 组合因子的诱导效应 组合因子试验采用 NAA、2,4-D 与 6-BA 的组合。试验结果如下:

基金项目 四川省教育厅青年基金项目。

作者简介 袁颖(1977-), 女, 四川西昌人, 讲师, 从事野生植物资源利用方面的研究。

收稿日期 2009-04-22

表1 不同浓度的NAA、6-BA、2,4-D对愈伤组织的诱导效应

Table 1 The inductive effects of different concentrations of NAA, 6-BA and 2,4-D on the calli

激素	浓度 ng/L	愈伤组织块数	诱导率 %	生长状态
Hormone	Concentration	Callus block number	Induction rate	Growth status
NAA	0.5	48	24.0	-
	1.0	90	45.0	-
	2.0	128	64.0	++
	4.0	192	96.0	--
6-BA	0.5	41	20.5	-
	1.0	108	54.0	+
	2.0	174	87.0	++
	4.0	140	70.0	--
2,4-D	0.5	68	34.0	+++
	1.0	146	73.0	+
	2.0	177	88.5	-
	4.0	156	78.0	--

注:-- 差,- 较差,+ 较好,++ 好,+++ 很好。下同。

Note:-- stands for bad;- stands for worse;+ stands for relatively good; ++ stands for good;+++ stands for better. The same as below.

2.2.1 NAA 和6-BA 组合的诱导效应。从表2 可以看出,在 NAA 与6-BA 组合诱导西南山茶幼嫩叶片的愈伤组织中,以 NAA 1.0 ng/L+6-BA 1.0 ng/L 时效果最好,愈伤组织诱导率最高,同时愈伤组织呈黄绿色、疏松,生长状态良好,利于培养。

2.2.2 2,4-D 和6-BA 组合的诱导效应。从表2 可以看出,在使用2,4-D 和6-BA 的组合诱导西南山茶幼嫩叶片愈伤组织时,以2,4-D 0.5 ng/L+6-BA 1.0 ng/L 的诱导率最高,且愈伤组织生长状态最好。随着2,4-D 浓度的不断升高,愈伤组织的褐化现象越来越严重。

3 结论

单因子诱导西南山茶幼叶愈伤组织形成时,适当浓度的 NAA、6-BA 和2,4-D 均能起到显著的诱导效应。单独使用 NAA 时,愈伤组织诱导率高,但生长状态不佳,不利于培养;2,4-D 的诱导效果最好,浓度为0.5 ng/L 时形成的愈伤组织黄绿色、疏松,生长状态最好,利于培养,随着2,4-D 浓度增

高,诱导率虽然提高,但会导致愈伤组织的褐化现象严重。组合因子诱导时,以 NAA 1.0 ng/L+6-BA 1.0 ng/L 的诱导率最高,2,4-D 0.5 ng/L+6-BA 1.0 ng/L 诱导愈伤组织的生长状态最好,利于培养。

表2 不同激素组合对山茶幼嫩叶片愈伤组织诱导效应

Table 2 The callus induction effects of different combinations on the tender leaves of camellia

激素组合	浓度 ng/L	愈伤组织块数	愈伤组织诱导率 %	生长状态
Hormone combinations	Concentration	Callus block number	Callus induction rate	Growth status
NAA+6-BA	0.5+0.5	66	33.0	-
	0.5+1.0	76	38.0	-
	0.5+2.0	81	40.5	-
	1.0+0.5	78	39.0	-
	1.0+1.0	184	92.0	++
	1.0+2.0	183	91.5	-
	2.0+0.5	93	45.5	-
	2.0+1.0	170	85.0	+
	2.0+2.0	159	79.5	--
	2,4-D+6-BA	0.5+0.5	94	49.0
0.5+1.0		158	79.0	+++
0.5+2.0		160	80.0	++
1.0+0.5		82	41.0	-
1.0+1.0		102	51.0	-
1.0+2.0		123	61.5	-
2.0+0.5		88	44.0	--
2.0+1.0		140	70.0	--
2.0+2.0	138	69.0	--	

参考文献

- [1] 刘建林,罗强,李晓江,等.攀西种子植物[M].北京:清华大学出版社,2007.
- [2] 罗强,刘建林,袁颖,等.攀西西南山茶扦插试验[J].中国林副特产,2008(4):29-30.
- [3] 范翠娜,刘国杰.荔枝幼叶愈伤组织诱导的研究[J].中国果树,2006(3):25-27.
- [4] 杨育红.明月山红花油茶嫩枝组织培养研究[J].安徽农学通报,2008(14):98-99.
- [5] 胡莹,杨柳青.山茶科植物组织培养研究进展[J].江苏农业科学,2008(2):6-8.
- [6] 孙玉强,童建新,阮松林,等.千层塔组织培养中的外植体愈伤组织研究[J].杭州农业科技,2008(4):10-12.

学报,2006,26(10):2023-2027.

- [4] JIANG Q, DONG L, NING Z Y, et al. Establishment of somatic cell clones in *Thesium chinense Turcz* and its in vitro rooting technique[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2008, 9(5):47-49, 62.
- [5] 李美善,安桂花,王琳,等.植物激素对高山红景天试管苗愈伤组织再分化的影响[J].延边大学农学学报,2008,30(1):9-11.
- [6] LIU H M, LIU H U K Y, FANG X B. The study on induction and proliferation of tube bulbs in *Lilium brownii* [J]. *Agricultural Science & Technology*, 2008, 9(1):18-20, 53.

(上接第7865页)

参考文献

- [1] 罗明,谭敦炎,张玉霞.高山红景天的组织培养[J].新疆农业科学,1996(3):123-125.
- [2] 张弓,张继福,侯晓航,等.高山红景天组织培养技术研究[J].特产研究,1995(4):26-32.
- [3] 刘海军,郭斌,晏琼,等.4种红景天植物的组织培养研究[J].西北植物