

马尾树愈伤组织的诱导与褐化控制研究

郭治友 (黔南民族师范学院生命科学系, 民族生物资源研究所, 贵州都匀 558000)

摘要 [目的] 为保护和开发利用马尾树资源提供科学的理论依据。[方法] 以 MS 为基本培养基, 用 IBA 和 6-BA 以及不同浓度配比的抗褐化剂 AC、V_c 和 Na₂S₂O₃ 诱导马尾树愈伤组织。[结果] 在诱导过程中马尾树愈伤组织的褐化现象很突出, 接种几小时后外植体周围即出现褐化物质。以冬芽和春芽为外植体时, 这些抗褐化剂均不起作用。以嫩叶为外植体时, 抗褐化剂 AC 起显著作用。3 种抗褐化剂组合使用时, 仅 AC 的作用显著, 而 V_c 和 Na₂S₂O₃ 的作用不显著。仅在以嫩叶为外植体的培养中诱导出了愈伤组织。MS+ IBA 1.5 mg/L + 6-BA 2.5 mg/L + AC 3.0 g/L 最适于马尾树嫩叶愈伤组织的诱导。[结论] 马尾树的嫩叶可用于诱导愈伤组织, 这为马尾树的细胞培养奠定了基础。

关键词 马尾树; 褐化控制; 愈伤组织诱导

中图分类号 S336 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)11-04429-02

Experimental Study on the Induction and Browning Control of Rhoiptelea chiliantha Callus

GUO Zhi-you (Department of Life Science and Institute of National Biological Resources, Qiannan Normal College for Nationalities, Duyun, Guizhou 558000)

Abstract [Objective] The purpose was to supply scientifically theoretical basis for protecting and exploiting Rhoiptelea chiliantha Dieis et Hang-Mazz resources. [Method] With MS as basic media, IBA, 6-BA and anti-browning agents AC, V_c and Na₂S₂O₃ with different concn. ratios were used to induce R. chiliantha callus. [Result] The browning phenomenon of R. chiliantha callus was very outstanding in the induction course and the browning substance appeared around the explant after several hours since inoculation. With winter and spring buds as explants, these anti-browning agents had no effect. With tender leaves as explants, the anti-browning agent AC had significant effect. When the combination of these 3 anti-browning agents was used, only the effect of AC was significant and that of V_c and Na₂S₂O₃ were not significant. Only in the culture with tender leaves as explants, the callus was induced. MS + IBA 1.5 mg/L + 6-BA 2.5 mg/L + AC 3.0 g/L was optimum for the callus induction of tender leaves in R. chiliantha. [Conclusion] The tender leaves of R. chiliantha could be used to induce the callus, which laid a foundation for the cell culture of R. chiliantha.

Key words Rhoiptelea chiliantha Dieis et Hang-Mazz; Browning control; Callus induction

马尾树 (*Rhoiptelea chiliantha* Dieis et Hang-Mazz.) 起源于第三纪古老单型科, 仅 1 属 1 种, 其系统演化地位较为特殊孤立, 在分类学上具有重要意义^[1-2]。它分布于我国贵州、广西、云南三省区的狭窄区域, 在越南也有分布。马尾树为落叶乔木, 枝为黑褐色或黄褐色, 单数羽状复叶, 互生, 长 20~30 cm, 种子为卵形, 褐色。种子萌发需要的生态条件较为特殊, 繁殖较困难, 种群数量较少, 分布局限^[3]。但其树皮和果实富含单宁, 是良好的栲胶原料; 木材坚实, 有多种用途; 树皮和叶可入药^[4]; 生长快, 可作造林树种。因多遭砍伐, 其数量日趋减少, 目前在分布区已少见母树, 若不加以保护将会陷于灭绝状态^[2]。在 1999 年 8 月国务院颁布的《国家重点保护野生植物名录 (第 1 批)》中, 马尾树被列入 2 级保护物种。目前马尾树组织培养方面的研究尚未见报道。笔者就马尾树愈伤组织的诱导和褐化控制进行了研究, 为下一步组织培养奠定基础, 以期为保护和开发利用这一珍稀植物资源提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料 马尾树采自贵州省都匀市斗篷山风景名胜胡广峡谷和马腰河峡谷。选择健壮植株的顶枝和侧枝, 剪取长 5~8 cm 枝条, 扦插于实验室内苗床上培养备用。

1.2 方法

1.2.1 取材 冬芽: 健壮植株的顶芽和侧芽; 春芽: 为扦插枝春天萌发出来的新芽; 叶片: 为幼嫩叶片。

1.2.2 外植体的消毒 冬芽: 用流水冲洗 0.5 h, 转至无菌室,

在超净工作台上先用 75% 酒精浸泡 20 s, 再用无菌水冲洗 1 次, 然后用 0.1% HgCl₂ 浸泡 8 min, 再用无菌水冲洗 6~8 次, 最后将消毒好的冬芽接种到培养基上进行培养; 春芽和叶片: 除了不用 75% 酒精浸漂以外, 其他与冬芽的处理相同^[5]。

1.2.3 培养基。

1.2.3.1 抗褐化剂的试验设计。在 MS+1.0 mg/L IBA+2.0 mg/L 6-BA 的培养基上, 试验设计附加物浓度见表 1。

表 1 不同附加物抗褐化的试验设计及结果
Table 1 Test design and results of anti-browning of different additives

处理号 Treatment No.	AC g/L	V _c g/L	Na ₂ S ₂ O ₃ ml/L	褐化率 Browning rate//%		
				冬芽 Winter buds	春芽 Spring buds	嫩叶 Young buds
1	1.0	0	0	100	100	83.0
2	2.0	0	0	100	100	68.0
3	3.0	0	0	100	100	34.0
4	4.0	0	0	100	100	36.0
5	0	1.0	0	100	100	86.0
6	0	2.0	0	100	100	91.0
7	0	3.0	0	100	100	94.0
8	0	4.0	0	100	100	93.4
9	0	0	5	100	100	92.0
10	0	0	10	100	100	91.0
11	0	0	15	100	100	87.0
12	0	0	20	100	100	91.0
13	4.0	1.0	0	100	100	35.0
14	3.0	2.0	0	100	100	35.0
15	2.0	3.0	0	100	100	46.0
16	1.0	4.0	0	100	100	78.0
17	4.0	0	5	100	100	36.0
18	3.0	0	10	100	100	35.4
19	2.0	0	15	100	100	52.0
20	1.0	0	20	100	100	84.0
21	0	2.0	15	100	100	92.0
22	2.0	2.0	15	100	100	48.0

注: 褐化率=褐化块数/供试外植体数×100%。

Note: Browning rate = Browning number / Tested explants × 100%.

基金项目 黔南州科技局资助项目(2004NY04)。

作者简介 郭治友(1973-), 男, 贵州独山人, 副教授, 从事植物学的教学与科研工作。

致谢 孙刚强、李艳和吴红在试验中给予了大力协助, 在此致谢!

收稿日期 2008-02-13

1.2.3.2 激素的试验设计。外植体为嫩叶,培养基为 MS+AC 3.0 g/L+琼脂 7.5 g/L+白糖 30 g/L, pH 值为 5.6~5.8, 分别加入不同浓度的 IBA 和 6-BA, 具体见表 2。

表 2 不同浓度激素组合对愈伤组织诱导的影响
Table 2 Effects of different concentration of hormone combination on callus induction

序号 No.	6-BA mg/L	IBA mg/L	首先出现愈伤组织的时间 Initial appearance time of callus//d	诱导率 Induction rate %
1	2.0	0	21	33
2	2.5	0	15	51
3	3.0	0	11	47
4	3.5	0	9	43
5	4.0	0	7	36
6	1.5	2.5	30	18
7	2.0	2.0	25	31
8	2.5	1.5	10	66
9	3.0	1.0	11	49
10	3.5	0.5	9	27
11	4.0	0.25	8	32

注:诱导率=诱导出现愈伤组织的块数/供试外植体块数×100%。

Note: Induction rate = Callus number by induction / Tested explant number × 100%.

1.2.4 培养条件。培养室温度为 26~28 ℃, 光照时间为 12 h/d, 光照强度约 40 μmol/(m²·s), 湿度为 100%。

2 结果与分析

2.1 不同抗褐化剂对马尾树愈伤组织诱导过程中褐化现象的影响

接种后几小时即可见到外植体周围有褐化物质产生(图 1、2)。马尾树科和胡桃科有非常近的亲缘关系^[6], 在代谢生理上可能较相似, 所以该试验采用与核桃组织培养相关的抗褐化剂^[7-9], 试验结果见表 1。由表 1 可以看出: ①在外植体为冬芽和春芽时, 这几种抗褐化剂均没有起到作用; ②在外植体为嫩叶时, 起明显作用的抗褐化剂为 AC; ③在 3 种抗褐化剂同时组合使用时, 仅 AC 起显著作用, V_c 和 Na₂S₂O₃ 作用不明显; ④从 3 种抗褐化剂的作用机理来看, AC 吸附而起到控制作用, 而 V_c 和 Na₂S₂O₃ 起氧化控制作用^[7-9]。说明吸附作用起主要作用, 氧化作用不显著。可能是冬芽和春芽诱导时产生的褐化物质极丰富而 AC 无法完全吸附, 而嫩叶褐化物质产生量少, 诱导出了愈伤组织(图 3)。V_c 和 Na₂S₂O₃ 是强氧化剂, 但在冬芽、春芽和叶的诱导中都没有明显的作用, 有 2 种可能: 一是产生的褐化物质极丰富, 氧化剂浓度过低起不了控制作用; 二是马尾树诱导产生褐化机理与核桃等不同, 强氧化剂对其作用不明显。

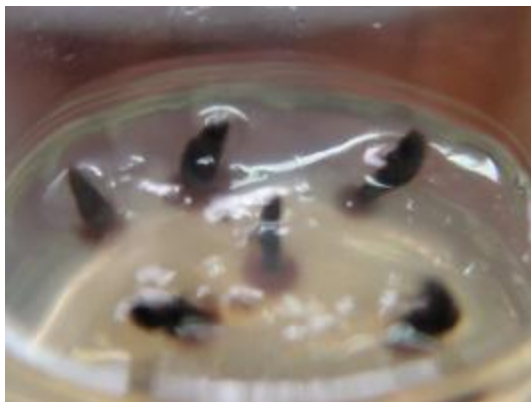


图 1 马尾树芽的褐化现象(加 V_c 和 Na₂S₂O₃)
Fig. 1 Browning phenomenon of *Rhoiptelea chiliantha* buds (adding V_c and Na₂S₂O₃)

2.2 不同激素对比对马尾树愈伤组织诱导的影响 不同激素配比是组织培养中对愈伤组织诱导和愈伤组织生长影



图 2 马尾树芽的褐化现象(加 AC)
Fig. 2 Browning phenomenon of *Rhoiptelea chiliantha* buds (adding AC)

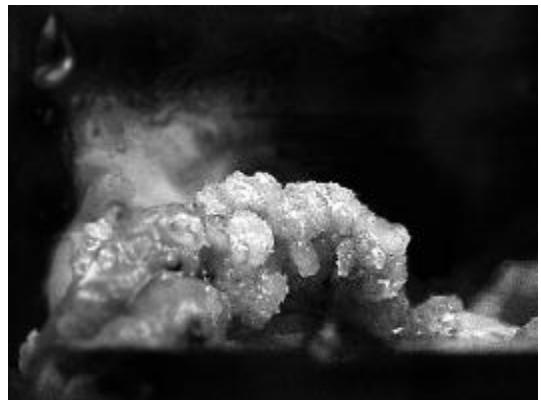


图 3 马尾树叶片诱导出的愈伤组织
Fig. 3 Leaf induced callus of *Rhoiptelea chiliantha*

响最大的因素之一。由表 2 可见, MS+1.5 mg/L IBA+2.5 mg/L 6-BA+3.0 g/L AC 最适于马尾树愈伤组织的诱导, 诱导率达 66%。

3 讨论

(1) 在马尾树愈伤组织的诱导过程中, 褐化现象十分突出, 在以冬芽和春芽作为外植体培养时, 均因褐化严重, 几天后变为黑色而死亡。在以嫩叶为外植体培养时, AC 的吸附作用起到了控制作用, 而 V_c 和 Na₂S₂O₃ 是没有起到明显的作用。所以, 马尾树与核桃褐化机理不同的可能性较大, 有待进一步研究。褐化现象的控制是马尾树愈伤组织诱导成败的关键。

(2) 马尾树嫩叶可诱导出愈伤组织, 为马尾树细胞培养、开发利用和保护这一珍稀植物资源奠定了基础。

参考文献

- [1] 《中国植物志》编委会. 中国植物志: 第 22 卷[M]. 北京: 中国科学出版社, 2007: 414-416.
- [2] 贵州省环境保护局. 贵州珍稀濒危植物[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1989: 57-58.
- [3] 杨礼旦. 南官林区马尾树的群落学特征[J]. 植物资源与环境学报, 2003, 12(2): 46-51.
- [4] 姜志宏, 周荣汉. 马尾树叶的挥发性成分[J]. 植物资源与环境, 1994(1): 62-64.
- [5] 郭治友, 龙应霞, 肖国学. 钟萼木的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(1): 127.
- [6] 陈之瑞, 汪小全. 马尾树科的系统位置: 来自 rbcL 基因核苷序列的证据[J]. 植物分类学报, 1998, 36(1): 1-7.
- [7] 张卫芳, 高疆生, 欧勇慧, 等. 核桃组培中抑制褐化现象初探[J]. 中国农学通报, 2003, 19(5): 43-46.
- [8] 唐利球, 唐君海, 陆祖正, 等. 金钱树愈伤组织的诱导及褐化防止[J]. 广西热带农业科学, 2003(3): 12-13.