

小桐子胚愈伤组织耐盐性研究

林奇生¹, 刘强^{1,2}, 符春娇¹, 李斌¹, 许鹏¹, 吴统七¹, 王颖¹, 负喆¹, 张颖^{1*}

(1. 海南师范大学生命科学学院, 海南海口 571158; 2. 海南省热带动植物生态学重点实验室, 海南海口 571158)

摘要 [目的] 筛选耐盐性较强的小桐子新品种。[方法] 以小桐子种胚为材料, 采用含不同浓度 6-苄基腺嘌呤(6-BA) 和吲哚丁酸(IBA) 组合的培养基对其进行愈伤组织诱导, 筛选出最佳诱导培养基; 在最佳诱导培养基中分别加入 0.20、40、60、80、100 mmol/L NaCl 对小桐子胚愈伤组织进行诱导, 研究胚愈伤组织的耐盐性。[结果] 小桐子胚愈伤组织的最佳诱导培养基为 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IBA; 胚愈伤组织在含 40、60 mmol/L NaCl 的培养基上生长状况最佳, 当培养基中 NaCl 浓度达到 100 mmol/L 时, 小桐子胚愈伤组织无法存活。[结论] 在 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IBA 培养基中, 小桐子胚愈伤组织具有较好的耐 NaCl 性。

关键词 小桐子; 胚愈伤组织; 耐盐性

中图分类号 Q132 **文献标识码** A **文章编号** 0517 - 6611 (2009) 25 - 12179 - 02

Study on Salt Tolerance of Embryo Callus of *Jatropha curcas*

LIN Qi-sheng et al (Life Science College of Hainan Normal University, Haikou, Hainan 571158)

Abstract [Objective] The aim was to select new *Jatropha curcas* variety with strong salt tolerance. [Method] With seed embryos of *J. curcas* as the materials, the embryo callus was induced with the mediums that contained different concn. of 6 benzyl adenine (6-BA) and indole butyric acid (IBA), and then the optimum induction medium was screened out. And then 0, 20, 40, 60, 80, 100 mmol/L NaCl was added into the optimum induction medium resp. to induce embryo callus of *J. curcas*, and the salt tolerance of the embryo callus was studied. [Result] The optimum induction medium for embryo callus of *J. curcas* was MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IBA. The growth status of embryo callus in mediums that contained 40, 60 mmol/L NaCl were the best. When NaCl in medium reached 100 mmol/L, the embryo callus of *J. curcas* could not survival. [Conclusion] The embryo callus of *J. curcas* in medium of MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IBA had better salt tolerance.

Key words *Jatropha curcas*; Embryo callus; Salt tolerance

小桐子 (*Jatropha curcas*) 属大戟科 (Euphorbiaceae) 油料植物, 广泛分布于热带和亚热带地区。在我国的云南、四川、贵州、广东、广西、海南、福建和台湾均有大量分布。小桐子种子含油率高达 60%^[1], 可用来研制生物柴油。小桐子汁液中含有大量的毒蛋白、麻疯酮等抗病毒、抗肿瘤成分。因此, 小桐子是目前公认的具有产业化应用前景的能源植物。但小桐子的适宜种植区域有限, 严重制约了其产业化发展。若能解决我国 0.37 亿 hm²^[2] 的盐碱地用于种植小桐子, 就可解决我国生物柴油植物与粮食作物的争地矛盾。所以选育耐盐小桐子品种是发展小桐子产业的必由之路。

目前, 有关小桐子的组织快繁技术已有较多报道, 林娟等^[3-5, 1] 曾以小桐子种胚、子叶、下胚轴、叶柄、叶片及上胚轴为外植体, 利用含不同浓度 6-BA 和 IBA 及不同浓度 6-BA 和 NAA (α 萘乙酸) 的培养基进行组织培养及植物株再生, 但有关小桐子耐盐性的研究尚未见报道。笔者以小桐子 (*J. curcas*) 种胚为外植体, 用含不同浓度 6-苄基腺嘌呤 (6-BA) 和吲哚丁酸 (IBA) 的培养基对其进行愈伤组织诱导, 同时, 用不同浓度 NaCl 对胚愈伤组织的耐盐性进行研究, 以期选育出耐盐性较强的小桐子新品种, 为小桐子新品种的快速繁育提供技术指导。

1 材料与方

1.1 材料 小桐子种子采自海南省海口市琼山区。

1.2 方法

1.2.1 消毒灭菌。 将小桐子种子放入 75% 酒精中摇动 1 min, 再用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒 15 min, 用无菌水冲洗 4 次, 剥开种壳, 取出胚, 用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒灭菌 3 min, 用无菌水冲洗 4 次, 彻底洗去残余的 HgCl₂。

1.2.2 培养方法。 将胚接种到 1~6 号培养基 (表 1) 上, 依次进行愈伤组织诱导; 用 4、7~10 号 (表 1) 培养基对愈伤组织进行盐胁迫处理。培养温度 25~28 °C, 光照强度 2 500 lx, 光照时间 12 h/d, 培养基 pH 值 5.8~6.8。培养基分装后在 121 °C 条件下灭菌 20 min。

表 1 培养基配方

Table 1 Formula of the media

培养基 Media	6-BA//mg/L	IBA//mg/L	MS	NaCl//mmol/L
1	0.10	0.10	+	0
2	0.25	0.10	+	0
3	0.50	0.10	+	0
4	1.00	0.10	+	0
5	1.00	0.25	+	0
6	1.00	0.50	+	0
7	1.00	0.10	+	20
8	1.00	0.10	+	40
9	1.00	0.10	+	60
10	1.00	0.10	+	80
11	1.00	0.10	+	100

基金项目 973 计划前期研究专项 (2008CB117008); 教育部科技研究重点项目 (205126); 海南师范大学实验室开放项目 (KFSY08034); 海南省科技厅项目 (808150)。

作者简介 林奇生 (1986 -), 男, 广东潮州人, 本科生, 专业: 生物技术。
* 通讯作者。

收稿日期 2009-05-05

2 结果与分析

2.1 培养基筛选结果 将培养基中 6-BA 设置 4 种不同浓度, 将 IBA 设置 3 种不同浓度进行交叉配比试验。结果表明, 4 号培养基对小桐子胚愈伤组织的诱导效果最佳。

2.2 胚愈伤组织的耐盐性 以 4 号培养基为基础, 分别加入 0、20、40、60、80、100 mmol/L NaCl 对小桐子胚愈伤组织进

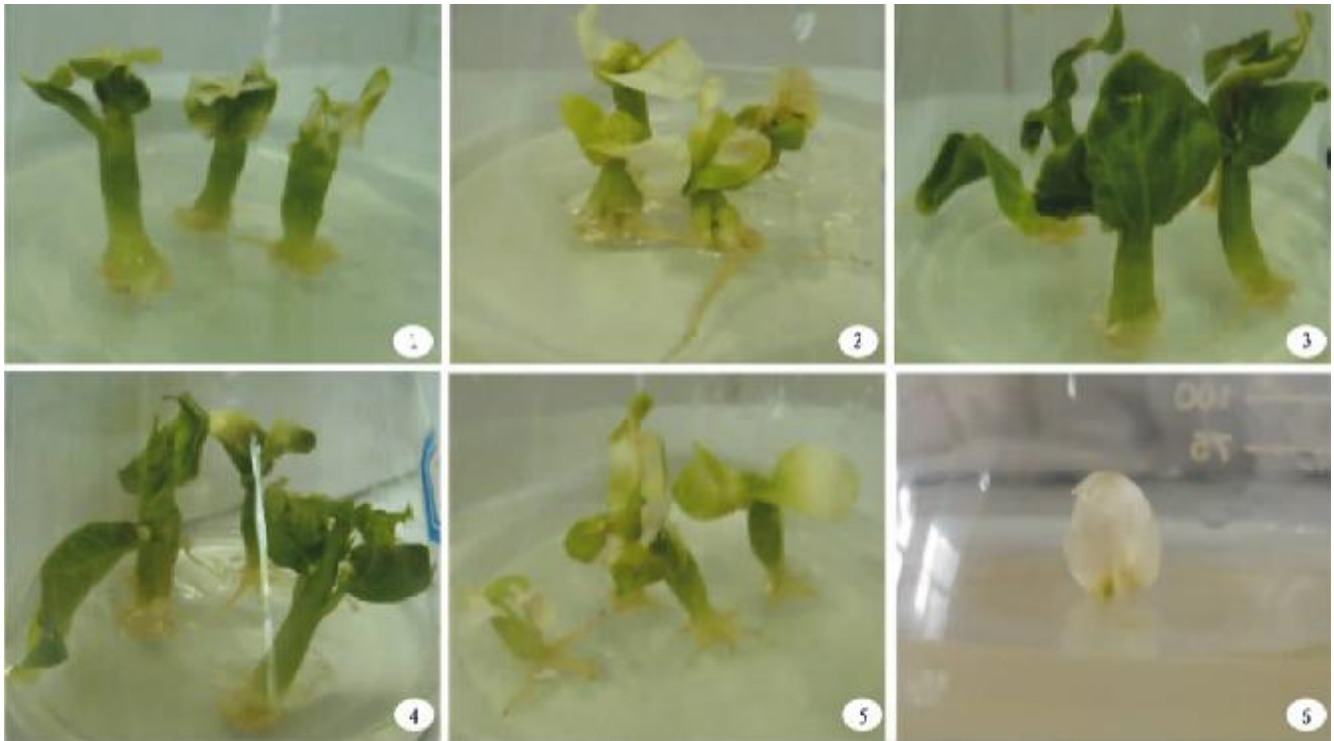
行诱导。结果表明,40、60 mmol/L NaCl 胁迫下,小桐子胚愈伤组织的生长状况最佳,培养基中 NaCl 浓度超过 100 mmol/L 时,外植体无法存活(图 1)。

3 结论与讨论

外源激素浓度、光照、温度等条件与植物组织快繁中外植体愈伤组织的诱导和生长密切相关。该研究以 MS 培养基为基础,以 6-BA 和 IBA 为外源激素配制培养基。由表 2 可知,培养基中 6-BA 浓度一定时,减小 IBA 浓度可提高胚愈伤组织的诱导效果。培养基中 IBA 浓度一定时,6-BA 浓度越高小桐子胚愈伤组织的诱导效果越好。可见,6-BA 在小桐子胚愈伤组织诱导和生长过程中起主要作用,IBA 可能起协

表 2 不同 6-BA 和 IBA 配比培养基对小桐子胚愈伤组织的诱导效果
Table 2 Effects of media with different concentrations of 6-BA and IBA on the callus induction of *Jatropha curcas*

培养基 Media	接种数//个 Number of inoculation	愈伤组织诱导率//% Induction rate of calli
1	100	32
2	100	43
3	100	55
4	100	89
5	100	66
6	100	51



注:图 1 ~6 分别表示 NaCl 浓度为 0、20、40、60、80、100 mmol/L 的处理。

Note:1 - 6 stand for treatments with NaCl solution at 0, 20, 40, 60, 80 and 100 mmol/L resp. .

图 1 NaCl 胁迫下小桐子胚愈伤组织的发育情况

Fig 1 Development of embryo calli of *J. curcas* under NaCl stress

同作用,但两者配比浓度需根据不同品种进一步研究。1 mg/L 6-BA 和 0.1 mg/L IBA 配比的培养基中小桐子胚愈伤组织具有较好的耐 NaCl 性,在一定浓度 NaCl 范围(40 ~ 60 mmol/L)内,小桐子胚愈伤组织分化生长良好,说明小桐子具有一定的耐盐性。

参考文献

[1] 秦虹,宋松泉,龙春林,等. 小桐子的组织培养和植物再生[J]. 云南植物研究,2006,28(6): 649 - 652.
 [2] 赵可夫,范海. 盐生植物及其对盐渍生境的适应生理[M]. 北京:科学出版社,2005.
 [3] 林娟,唐琳,陈放. 麻疯树的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯,2002,38(3): 252.
 [4] 陆伟达,魏琴,唐琳,等. 麻疯树愈伤组织的诱导及快速繁殖[J]. 应用与环境生物学报,2003,9(2): 127 - 130.

[5] WEI Q, LU W D, LIAO Y, et al. Plant regeneration from epicotyl explant of *Jatropha curcas* [J]. J Plant Physiol Mol Biol, 2004, 30 (4) :475 - 478.
 [6] MA HY, GUO R, LI HA, et al. Study on salinity tolerance of tomatoes during seed germination under different salt stress conditions [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9 (4) :4 - 7.
 [7] 韦小敏,何金环,陈彦惠,等. 玉米耐盐愈伤组织变异体的筛选及耐盐性分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(9): 73 - 78.
 [8] DENG MH, WEN JF, ZOU XX. In vitro plant regeneration of pepper cytoplasmic male sterility (CMS) lines via cotyledon culture [J]. Agricultural Science & Technology, 2009, 10 (1) :39 - 42.
 [8] LI YM, JIANG YT, SUN ZH. Uniform design for optimizing regeneration shoots directly from young leaves and plant regeneration system of *Rhododendron chrysanthum* Pall. [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9 (6) :31 - 34.