

濒危植物金佛山兰愈伤组织诱导条件的研究*

陈晓麟, 李 铭

(重庆教育学院 生命科学与化学系, 重庆 400067)

摘 要 选择不同的外质体、基本培养基和激素配比,对金佛山兰愈伤组织的诱导进行了研究。幼嫩的子房培养在 $MS + CH100mg \cdot L^{-1} + 2,4-D2mg \cdot L^{-1} + 6-BA1mg \cdot L^{-1}$ 培养基上,其愈伤组织诱导率高,诱导时间短,组织结构疏松,生长良好而且快速。这一研究为金佛山兰的快速克隆繁殖奠定了基础。

关键词 :金佛山兰 ;愈伤组织 ;培养条件

中图分类号 :Q943.1

文献标识码 :A

文章编号 :1672-6693(2006)02-0062-02

Studies on Induction Conditions for Callus of *Tangtsinia Nanchuanica*

CHEN Xiao-lin , LI Ming

(Dept. of Biology Chongqing College of Education , Chongqing 400067 , China)

Abstract :*Tangtsinia nanchuanica* S. C. Chen is a kind of endangered plant , an important protected species in China. This paper studies on the induction conditions for callus. The callus were grew well when the young oval were cultured on $MS + CH100mg \cdot L^{-1} + 2,4-D2mg \cdot L^{-1} + 6-BA1mg \cdot L^{-1}$ media.

Key words :*Tangtsinia nanchuanica* ; Callus ; culture condition

金佛山兰(*Tangtsinia nanchuanica* S. C. Chen)隶属兰科(Orchidoideae) ,由我国植物学家陈心启于 20 世纪 60 年代在南川金佛山所发现 ,定名发表且认定为我国金佛山地区所特有的单属单种植物。金佛山兰全草药用 ,具有清热、祛痰之功效^[1]。由于金佛山兰种群数量极少、分布区十分狭窄且有逐年减少的趋势 ,人工栽培繁殖困难 ,加之人为因素对环境的破坏 ,致使该物种处于濒危状态 ,被确定为国家二级保护植物^[2]。我国对兰科植物的研究自 20 世纪 20 年代开始至今已取得了长足进展^[3] ,但研究工作主要侧重于分类描述和系统学研究 ,有关保育的许多基础性研究还处于起步阶段 ,有些工作甚至还未开展 ,对金佛山兰的研究也不例外 ,目前仅就濒危现状、部分生物学特性等方面进行了一些初步探讨^[4,5] ,本文利用离体培养技术 ,对金佛山兰愈伤组织的诱导条件进行了初步探索 ,为金佛山兰的快速克隆繁殖奠定了一定基础。

1 材料与amp;方法

* 收稿日期 2005-09-21 修回日期 2006-02-20

资助项目 :重庆市科委资助项目

作者简介 :陈晓麟(1958-) ,女 ,重庆人 ,副教授 ,研究方向为植物解剖学。

1.1 植物材料

金佛山兰植株于 2003 年 5 月采自重庆南川金佛山北坡黄草坪,海拔 800 ~ 1 000 m。

1.2 实验方法

取金佛山兰的幼叶、幼根、子房、花瓣等幼嫩组织,用 75% 酒精浸泡 1 min,无菌水清洗 3 次,0.1% 升汞消毒 8 ~ 10 min,无菌水清洗 3 ~ 5 次,得到无菌材料,选择不同的基本培养基,置于温度 20℃、光照 6 h/d、光照强度 1 500 ~ 2 000 lx 条件下培养。

2 结果与讨论

2.1 最佳外质体的选择与确定

植物不同组织器官外质体的生理状况和生长能力不同,为在离体条件下使细胞组织快速脱分化,诱导愈伤组织及快速克隆繁殖,必须对外质体进行选择^[6]。取金佛山兰的幼叶、幼根、子房、花瓣等幼嫩组织,用 MS + 2.4-D 2mg · L⁻¹ + 6-BA 1mg · L⁻¹ 培养基培养,其生长情况见表 1。

表 1 不同组织器官外质体的愈伤组织诱导及生长情况

外质体	诱导率/%	诱导愈伤组织时间/d	生长情况
幼叶	2	20	生长缓慢
幼根	0	—	—
子房	85	15	生长良好、快速
花瓣	58	18	生长良好、快速

从表 1 可以看出,子房为愈伤组织诱导培养的最佳外质体,花瓣次之。花器官(子房和花瓣)在相同的条件下诱导率均较高,平均诱导时间较短,组织结构疏松,生长良好而且快速。子房的诱导率比花瓣更高,很可能是子房的细胞和组织吸收养分比较快,而且完整的子房在消毒过程中未受到较大的伤害^[7]。幼叶和幼根的诱导率仅为 2% 和 0%,不宜作为愈伤组织诱导培养的外质体。

2.2 不同基本培养基对愈伤组织诱导的影响

将无菌子房分别接种在 MS、White、B₅ 和 N₆ 4 种培养基上(均添加 CH100mg · L⁻¹, 2.4-D 2mg · L⁻¹, 6-BA 1mg · L⁻¹),比较其愈伤组织形成的情况,见表 2。

表 2 子房在不同培养基上愈伤组织的发生率

培养基	接种数	愈伤组织发生数	诱导率/%
MS	50	43	86
B ₅	50	20	40
White	50	0	0
N ₆	50	0	0

从表 2 可以看出,只有在 MS 和 B₅ 培养基上才有愈伤组织形成,而在 White 和 N₆ 两种培养基上均无愈伤组织形成。一般来说,含盐量较大的培养基有利于愈伤组织的形成,MS 具有较高浓度的硝酸盐、钾离子和氨离子,微量元素较全面,特别是对金佛山兰这种兰科植物来说,营养显得更为重要。

2.3 愈伤组织诱导最佳激素组合的选择

用于诱导植物愈伤组织细胞的激素配比方案一般采用高生长素、低分裂素的配比^[8,9]。本实验根据一般规律,按生长素:分裂素 = 2:1 的配比,设计多组配比方案,以子房作为外质体,用 MS + CH 300mg · L⁻¹ 培养基培养,观察其诱导、生长情况,比较组织结构和生长速度,选择最佳配比,结果见表 3。

从表 3 可以看出,2.4-D:BA = 2:1 和 2.4-D:KT = 2:1 的激素配比诱导出来的愈伤组织细胞群生长良好、快速,组织结构疏松呈乳白色(见图 1),适宜继代培养和快速繁殖。

表 3 不同的激素对比对愈伤组织诱导和生长的影响

组别	激素配比/(mg · L ⁻¹)	组织结构	生长情况
1	2 4 - D 2	乳白色、紧密	生长缓慢
2	2 4 - D :BA = 2 :1	乳白色、疏松	良好、快速
3	2 4 - D :KT = 2 :1	乳白色、疏松	良好、快速
4	NAA :BA = 2 :1	黑褐色、紧密	生长缓慢
5	NAA :KT = 2 :1	黄褐色、紧密	生长缓慢



图 1 金佛山兰愈伤组织的生长情况

参考文献：

- [1] 张惠源,袁昌齐.中国中药资源[M].北京:科学出版社,1995.273.
- [2] 傅立国,金监明.中国植物红皮书——稀有濒危植物[M].北京:科学出版社,1992.
- [3] 陈心启,罗毅波.中国兰科植物研究的回顾与前瞻[J].植物学报,2003,45(增刊)2-20.
- [4] 李铭,陈晓麟.珍稀濒危植物金佛山兰生态形态特征观察及与金兰的比较[J].重庆教育学院学报,2002,15(6)39-41.
- [5] 郭志华,藏润,奇文清,等.两种原始兰科植物生理生态特征比较[J].林业科学,2003,39:50-55.
- [6] 宋思扬,楼士林.生物技术概论[M].北京:科学出版社,1999.61-80.
- [7] 陈因良,陈志宏.细胞培养工程[M].上海:华东华工学院出版社,1992.251-253.
- [8] 韩德元.植物生长调节剂[M].北京:北京科学出版社,1997.10-56.
- [9] 欧阳杰,王晓东,陈书安.肉苁蓉种子愈伤组织诱导条件的研究[J].中国药学杂志,2002,37(7):491-493.

(责任编辑 许文昌)