

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 $MS + CH100mg \cdot L^{-1} + 2.4 - D2mg \cdot L^{-1} + 6 - BA 1mg \cdot L^{-1}$ 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)