

山茶科植物组织培养研究进展

胡 莹, 杨柳青

(中南林业科技大学环境艺术设计学院, 湖南长沙 410004)

摘要: 总结了我国山茶科植物的组织培养研究现状, 分析了已有组织培养报道的山茶科植物在外植体选择和分化途径上的特点, 并从基本培养基、激素及附加营养成分等方面分析了山茶科植物组织培养的影响因素, 提出了山茶科植物组织培养研究和实际应用中存在的问题。

关键词: 山茶科植物; 组织培养; 分化; 基本培养基; 植物激素

中图分类号: S685.140.4⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2008)02-0006-03

《中国植物志》第四十九卷第三分册记载, 山茶科植物约有 36 属、700 种, 我国有 15 属、480 余种^[1]。广泛分布于热带与亚热带地区, 是华南地区常绿阔叶林的建群种, 其中不乏高价值的经济树种。如原产我国的茶树 (*Camellia sinensis*), 其嫩叶可制茶叶; 油茶 (*C. oleifera*) 富含油脂, 可榨茶油, 供食用和工业用; 山茶 (*C. japonica*) 和茶梅 (*C. sasanqua*) 花大而艳丽, 是世界著名的木本花卉植物。山茶科还有许多珍稀濒危植物, 如金花茶 (*C. nitidissima*) 是我国一级保护植物, 有“植物大熊猫”之称^[2-3]。山茶科中有很多植物为国家级珍稀植物, 如猪血木 (*Euryodendron excelsum*)、圆籽荷 (*Apterosperma oblata*) 和杜鹃红山茶 (*Camellia changii*) 等, 其中猪血木和圆籽荷为单种属植物, 已被列为国家二级保护植物^[4-6]。

将植物组织培养技术应用于山茶科植物的快速繁殖, 对保护山茶科树种的种质资源, 丰富园林植物多样性, 缓解国内优质木材和园林绿化植物供应紧张的状况, 具有重要的意义。本文从山茶科植物组织培养外植体的选择和分化途径、基本培养基、激素及附加营养成分的使用等方面探讨组织培养技术在山茶科植物中的研究现状和实际应用中存在的问题。

1 山茶科植物组织培养概况

山茶科野生植物大多生长在深山老林, 与世隔绝且生境范围狭窄, 性喜温暖湿润气候, 栽培环境应适当遮阴并保持一定的湿度, 避免强阳光长时间直接照射。由于它对栽培环境、土壤、水分及管理技术的要求比较高, 加上资源稀少, 应用受到极大限制, 也导致人们对它的研究热情不高。我国所有的山茶科 15 个属中, 只有山茶属、大头茶属、木荷属 3 个属有组织培养成功的报道, 这 3 个属中仅有茶树和油茶的组织培养技术已趋于成熟, 更多的尚在起步阶段。

到目前为止, 组织培养已获成功的山茶科植物有茶树 (*C. sinensis*)^[7-9]、油茶 (*C. oleifera*)^[10-13]、滇大头茶 (*Gordonia yunnanensis*)^[14]、蕲北茶 (*Yabukita*)^[15]、木荷 (*Schima superba*) 和红木荷 (*S. wallichii*)^[16]、金花茶 (*Camellia chrysantha*)^[17] (表 1)。

2 山茶科植物组织培养外植体选择和分化途径

2.1 山茶科植物组织培养外植体的选择

外植体的选择是植物组织培养能否成功的关键因素之一。外植体供体植株的年龄、发育阶段、生长环境和外植体取材部位不同可导致外植体生理状态差异, 从而影响组织培养的形态发生。山茶科植物组织培养采用的外植体种类较多, 包括茎尖、种子、花蕾等。无论何种外植体, 它们所处的发育状态与来源均影响体胚发生, 如切取茶树种子无苗萌发的子叶、胚芽、胚轴与胚根切段外植体, 几种外植体诱导胚性愈伤组织的能力存在差异, 只有胚轴、子叶、胚芽能产生胚性愈伤组织, 其中以子叶和胚轴形成的愈伤组织生长较快。

收稿日期: 2007-10-17

基金项目: 湖南省林业科技项目 (编号: 2006-07); 中南林业科技大学引进人才项目 (编号: 101-0093)。

作者简介: 胡 莹 (1982—), 女, 江西南昌人, 硕士研究生, 从事园林植物研究。E-mail: freebird7788@hotmail.com。

通讯作者: 杨柳青, 博士, 教授, E-mail: liuqingyang1208@yahoo.com.cn。

表1 已报道的山茶科植物组织培养技术概况

植物名称	外植体	分化途径	主要培养基	分化程度
茶树 ^[7] (龙井43)	幼叶、幼芽、幼茎	愈伤组织	MS + 2,4-D 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L	愈伤组织
茶树 ^[8] (东湖早)	胚、茎段	愈伤组织	MT + BA 4 mg/L + IBA 2 mg/L + GA ₃ 3 mg/L	体细胞胚、不定芽
茶树 ^[9] (福鼎大白茶、蒙山9号、蒙山11号和名山131)	带芽茎段	芽、愈伤组织	1/2MS + BA 2 mg/L + NAA 1.5 mg/L + CH500	小植株
油茶 ^[11] (普通油茶、小果油茶、越南油茶等)	花药	愈伤组织	MS + 2,4-D 0.5 mg/L + NAA 0.4 mg/L	愈伤组织
油茶 ^[12] (小果油茶、广宁红花油茶)	花药	愈伤组织	MS + 2,4-D 0.6 mg/L + NAA 0.4 mg/L; B ₅ + 2,4-D 1.2 mg/L + 6-BA 0.4 mg/L	愈伤组织
滇大头茶 ^[14]	茎尖、茎段	愈伤组织	芽萌动和生长: MS + 6-BA 1.0 mg/L + IAA 0.5 mg/L; 多芽体诱导 MS + 6-BA 3.0 mg/L + IAA 0.5 mg/L; 壮苗培养基: MS + ZT 1.0 ~ 2.0 mg/L + IAA 0.5 mg/L 或 MS + 10% 椰子汁 (CM) + IAA 0.5 mg/L; 生根培养基: 1/2ER + IBA 0.5 mg/L; 纸桥生根培养液: 1/2ER + IBA 0.5 ~ 1.0 mg/L	小植株
薏北茶 ^[15]	带腋芽的茎段	愈伤组织	1/2MS + 1.0 mg/L BA + 0.2 mg/L IBA	小植株
木荷、红木荷 ^[16]	顶芽、嫩芽茎段	愈伤组织	种子萌发培养基: 1/2MS + 活性炭 0.15%; 芽诱导培养基: MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; 继代增殖培养基: MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2; 生根培养基: 1/2MS + IBA 0.5 mg/L + ABT 1.0 mg/L	小植株
金花茶 ^[17]	种子	丛芽、愈伤组织	改良 MS + BA 2.5 mg/L + IAA 1.5 mg/L + 水解乳蛋白 500 mg/L	小植株

2.2 山茶科植物组织培养的分化途径

通常细胞组织培养获得再生植株有两条途径,一是器官发生途径;二是体细胞胚胎培养^[18]。从现有的报道来看,山茶科植物组织培养已获成功的分化途径有器官发生途径和体细胞胚、花药发生途径两种。

器官发生包括由茎尖、腋芽、原球茎、球茎、块茎、鳞茎等外植体直接分化成器官的直接发生和外植体先脱分化形成愈伤组织再分化成器官的间接发生两种。此途径中茎芽和根是在愈伤组织或外植体的不同部位分别独立形成的。在直接器官发生途径中,以芽或带芽茎段为外植体直接诱导芽的萌发获得再生植株的植物有薏北茶、滇大头茶、龙井茶、油茶。在间接器官发生途径中,以茎段或叶为外植体通过诱导愈伤组织,再诱导芽的再生的植物有滇大头茶、油茶。

体细胞胚胎培养是指双倍体或单倍体的体细胞在特定条件下,未经性细胞融合,而通过与合子胚胎发生类似的途径发育出新个体的形态发生过程^[19]。杜克久等^[20]将云南大叶茶(*Camellia sinensis* var. *asamica* Kitamura)胚性细胞系中悬浮培养物继代转入附加 0.05 mg/L 2,4-D 和 0.5 mg/L BA 的改良 MS 液体培养基上暗培养 28 d 后,诱导外植体产生黄色、松散颗粒的愈伤组织,再转入到液体分化培养基上(不附加生长调节剂,其余同诱导培养基)培养 28 d,获得了不同发育时期的体胚。

花药培养是把发育到一定阶段的花药接种在人工培养基上,使其发育分化成植株的过程。郭玉琼等^[21]用铁观音的花蕾及花药在含有 0.5 mg/L 2,4-D 的 MS 培养基上成功诱导出了愈伤组织。

3 山茶科植物组织培养的基本培养基

应用于山茶科植物组织培养的基本培养基主要有:MS、1/2MS、改良 MS、ER、MT,以 MS 培养基居多。杨国伟等^[7]报道,MS 比 Heller、White 培养基更利于茶树愈伤组织的生长,茶树愈伤组织在 MS 培养基上诱导率可达到 90%。

从已有的报道来看,基本培养基中的大量元素对山茶科植物组织培养影响很大,MS 培养基大量元素减半,不仅有利于山茶科植物茎段的诱导和生长,而且有利于减少茎段的褐化,提高成活率。在实际应用中,大多数学者在诱导和增殖培养时采用全量的大量元素,而在生根培养时采用半量的大量元素^[7]。

在组织培养时,由于培养物的光合作用能力较弱,所以需要在培养基中添加一些糖类。一方面,糖作为碳源,为细胞的呼吸提供底物和能源;另一方面,在培养过程中,组织不断从培养基中吸取糖,随着时间的延长,糖浓度不断降低,不能维持正常的渗透压;此外,适宜的糖浓度对器官的发生也有重要作用。山茶科植物组织培养所需的蔗糖浓度多在 4%,而金花茶胚培养需要 6%~8%^[10]。

4 山茶科植物组织培养的激素及附加营养物

植物生长调节物质是培养基中的关键物质,虽用量极小,但在组织培养中起着重要的调节作用。激素的种类和不同功能激素的配比是影响外植体能否成功启动的关键因素之一。对茶树而言,各因素对龙井茶愈伤组织诱导的作用大小依次为:2,4-D > 6-BA > NAA。在油茶科植物愈伤组织或芽的诱导阶段,大部分植物使用 6-苄基腺嘌呤(6-BA),浓度为 0.5~4 mg/L^[7]。毕方铤等^[13]在油茶试验中发现,在不同的 6-BA 浓度中,以 3.0 mg/L 的诱导效果最好,芽的诱导率为 73.33%,而在 6-BA 和 NAA 组合中,以 6-BA 3.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L 为最佳浓度组合,诱导率最高,达 83.33%。李建安等^[12]在广宁红花油茶和小果油茶的花药培养试验中发现,两种油茶在 MS + 2,4-D 0.6 mg/L + NAA 0.4 mg/L 和 B₅ + 2,4-D 1.2 mg/L + 6-BA 0.4 mg/L 培养基中,广宁红花油茶诱导率高达 94.67% 和 91.00%,小果油茶则分别为 8.00% 和 3.34%。

椰乳、水解乳蛋白等营养物质也被用于山茶科植物的组织培养中。谭和平等^[9]通过茶树腋芽的诱导分化试验发现,水解乳蛋白的加入可明显促进芽的诱导。

山茶科植物组织培养的生根培养只需单独添加生长素 BA 或 NAA 就能有效地生根。毕方铤等^[13]在油茶的生根培养试验中发现,NAA 7 mg/L 或 BA 6~7 mg/L 得到较好的生根效果,但获得的再生苗大多只有一条主根,须根很少。

5 山茶科植物组织培养及植株再生中存在的问题

5.1 山茶科植物组织培养中的褐变

山茶科植物中酚类物质含量较高,酚类的糖苷化合物是木质素、单宁和色素合成的前体。因此,当酚类化合物含量高时,木质素、单宁或色素形成就多,易导致褐变的发生,有些细胞会因褐变而死亡。较高的培养温度、培养基中较高浓度的无机盐、较高浓度的激素及木质化程度高的外植体都会促进褐变的发生。阙生全等^[23]在试验中发现,以油茶茎段作为外植体诱导愈伤组织时,随着基本培养基中无机盐离子浓度的降低,褐化现象减轻。在培养基中加入吸附剂能有效抑制褐化的发生。通过吸附剂活性炭、PVP 和 3 种抗氧化剂(维生素 C、NaS₂O₃ 和柠檬酸)对褐化的影响对比发现,加入吸附剂(活性炭)的培养基效果最

好,随着其浓度的升高,抗褐化效果提高。另外,接种后暗处理,可在一定程度上减轻褐化反应。

5.2 山茶科植物组织培养中的污染问题

能否有效控制微生物污染是组织培养能否成功的关键因素之一。在油茶科植物组织培养中污染可分为外植体、培养基和无菌操作 3 个方面,其中以外植体方面的污染最复杂,也最难控制。通常在春季 2~3 月份和秋冬季腋芽在培养基上容易萌发,且污染现象不明显;而在夏季腋芽不仅不容易萌发且容易污染。究其原因,一方面可能与外植体的季节性带菌情况有关;另一方面可能与外植体的生理状态有关。此外,外植体消毒剂的选择和消毒时间的选择也影响污染情况。在油茶组织培养中,用 25% 次氯酸钠消毒 20 min 对油茶腋芽消毒效果最好,芽的萌发诱导率达 85%^[13]。

6 小结与展望

山茶科植物的组织培养研究中,除了油茶、茶树等少数植物相对成熟外,还有许多种植物仍处于探索阶段。大多数植物的诱导率、增殖率、生根率等都不高,离实际应用还有一定的差距;体细胞胚胎发生、细胞培养、原生质培养的研究更有待于加强。

山茶科植物组织培养研究的前景十分广阔,很多山茶科植物都具有很高的经济价值和造园价值。因此,通过组培快繁技术实现山茶科植物的大规模生产,不但可以提高它们的应用价值,而且对物种资源保护和种群扩大有着重大的意义。

参考文献:

- [1] 张宏达. 中国植物志:第四十九卷[M]. 北京:科学出版社, 1998.
- [2] 吴征镒. 云南植物志:第八卷[M]. 北京:科学出版社, 1997.
- [3] 闵天禄, 张文驹. 山茶属古茶组和金花茶的分类学问题[J]. 云南植物研究, 1993, 15(1): 1-15.
- [4] 张宏达. 山茶科一新属——猪血木属[J]. 中山大学学报, 1963 (4): 126-130.
- [5] 张宏达. 山茶属植物的系统研究[M]. 广州:中山大学出版社, 1981.
- [6] 傅立国. 中国植物红皮书:稀有濒危植物[M]. 北京:科学出版社, 1992.
- [7] 杨国伟, 兰 蓉, 王晓杰, 等. 茶树愈伤组织诱导和组织培养[J]. 江苏农业科学, 2006(4): 122-124.
- [8] 刘德华, 周带娣, 肖文军. 茶树茎段培养胚性状态的调控及其分化[J]. 湖南农业大学学报, 2000, 26(2): 110-112.

(下转第 9 页)

近 10 年来江苏省李研究与生产进展和展望

郭忠仁, 周义峰

(江苏省中国科学院植物研究所/南京中山植物园, 江苏南京 210014)

摘要: 江苏省李的研究主要集中于种质资源的搜集评价和开发应用。目前, 江苏省李产量及在果品中所占比例均呈上升趋势, 年产鲜果约 3 944 t。栽培主要集于苏北的徐州、连云港、淮安 3 市, 主要品种有大石早生和早黄李等近 20 个品种。

关键词: 江苏; 李; 研究; 生产

中图分类号: S662.302.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2008)02-0009-04

李是我国栽培历史悠久的果树树种。据考古学研究证明, 远在 5 000 乃至 6 000 年前, 我国的祖先已经采食李的果实用以充饥, 有记载的栽培历史在 3 500 年以上。在中国湖北、云南至今仍有野生的中国李分布, 可见上百年生的古树。中国李 (*Prunus salicina* Lindl) 是在西汉时期 (公元前 206 年至公元 25 年间), 随桃、杏传播到日本和伊朗。在近百年内, 中国李才传至欧洲和美洲, 并颇受重视, 特别是传入美国后, 与美洲李杂交, 培育出许多种间杂种, 在李的品种改良方面贡献极大。中国李传入欧洲和美洲后, 就以果实较大、色泽艳丽、香气浓郁、风味佳美、适应性强的特点, 迅速在当地推广, 很快就成为

全世界最主要的李栽培种。

中国李在我国分布很广, 适应性强, 尤以河北、河南、山东、安徽、山西、甘肃、新疆、江苏、湖南、湖北、江西、浙江、四川、云南、贵州、广东、辽宁等省 (区) 栽培较多。江苏省栽培李已有 500 多年的历史, 徐州、溧阳、吴县等地普遍种植。

1 江苏省李研究进展

目前江苏省开展李研究的单位主要是江苏省农业科学院、南京农业大学和南京野生植物研究院等, 主要从事种质资源的搜集评价和利用以及李的营养成分和产品加工工艺研究。近年来, 先后开展了李种质资源 ISSR 反应体系的建立, 李 RAPD 优化反应体系及其在品种鉴定中的应用, 桃、李种间远缘杂交亲和性研究等工作。

收稿日期: 2007-12-12

作者简介: 郭忠仁 (1960—), 男, 江苏南京人, 硕士, 研究员, 主要从事果树育种和果树种质、观赏园林植物资源研究。E-mail: zhongrenguo@yahoo.com.cn.

(上接第 8 页)

- [9] 谭和平, 余桂容, 杜文平, 等. 不同茶树品种组培快繁技术研究[J]. 西南农业学报, 2003, 16(1): 102-104.
- [10] 程柳, 汤浩如. 茶树组织培养影响因素[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(7): 1960-1963.
- [11] 张日清, 闻丽, 刘友全, 等. 低温预处理对油茶花药愈伤组织诱导的影响[J]. 中南林学院学报, 2005, 25(6): 24-28.
- [12] 李建安, 张日清, 石明旺, 等. 油茶两种花药培养愈伤组织诱导试验[J]. 经济林研究, 2003, 21(3): 36-38.
- [13] 毕方铨, 谭晓风, 张智俊, 等. 油茶离体培养诱导再生植株的研究[J]. 经济林研究, 2004, 22(2): 5-9.
- [14] 庄承纪, 刘劲科. 滇大头茶的组织培养和微型繁殖[J]. 植物生理学报, 2005, 41(3): 343.
- [15] 张娅婷, 张伟. 薏北茶的组织培养[J]. 周口师范学院学报, 2004, 21(5): 74-76.
- [16] 徐位力, 苏开君, 王伟平, 等. 防火树种木荷和红木荷的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(2): 255.
- [17] 黄小荣, 韦鹏霄. 金花茶种质资源的组织培养保存[J]. 广西林业科学, 2004, 33(4): 190-194.
- [18] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998.
- [19] 欧阳权. 桉树愈伤组织诱导及培养研究[J]. 植物生理学报, 1980, 6(4): 429-432.
- [20] 杜克久, 曹慧娟, 张辉, 等. 云南大叶茶体细胞胚发生及体细胞胚苗形成体系的建立[J]. 植物学报, 1997, 39(12): 1126-1130.
- [21] 郭玉琼, 陈财珍, 赖钟雄, 等. 茶树花药愈伤组织诱导及茶多酚含量测定[J]. 福建茶叶, 2001(4): 7-10.
- [22] 张智俊, 罗淑萍, 李亚玲, 等. 油茶优良无性系子叶体细胞胚植株再生[J]. 植物学通报, 2005, 22(增刊): 43-49.
- [23] 阙生全, 彭凌, 朱必凤, 等. 油茶组织培养过程中防止褐变的研究[J]. 韶关学院学报, 2006, 27(3): 67-69.