

明月山红花油茶嫩枝组织培养研究

杨育红

(宜春学院生命科学与资源环境学院, 江西宜春336000)

摘要:研究了以明月山红花油茶嫩枝为外植体诱导形成愈伤组织的过程。通过正交试验及单因素试验方法, 确定了红花油茶脱分化培养的最适方案: ①诱导材料: 龄级为10d的红花油茶嫩枝茎尖; ②有效愈伤组织诱导培养基: MS+NAA 0.5mg/L+BA 2.0mg/L+3%蔗糖。

关键词:明月山红花油茶; 愈伤组织; 分化

中图分类号S794.4

文献标识码B

文章编号1007-7731(2008)24-098-02

Induction Differentiation and Plant Regeneration of *Camellia chekiangoleosa* of mingyueshan

YANG Yu-Hong

(College of Life Science and Resources Environment, Yichun University, Yichun, Jiangxi 336000, China)

Abstract: *Camellia chekiangoleosa* is a very important Oil-tea *Camellia* species. In order to accelerate reproduction and keep its excellent ability, the formation of plantlet regeneration from explants of *Camellia chekiangoleosa* were studied. The optimal culture conditions were established with the methods of the orthogonal tests and single factor tests. They are as follows: ① explants: the cotyledon of 10 days old; ② Efficiency differentiation induction media: MS+0.5mg/L NAA+2.0mg/L BA+3% sucrose.

Key words: *Camellia chekiangoleosa*; regeneration tissue; differentiation

红花油茶(*Camellia chekiang-oleosa*)系属山茶科山茶属植物, 为我国栽培的油茶主要种群之一, 也是我国主要的木本食用油料。是一种常绿、长寿树种, 一次种植, 收获期长达百年以上。一般栽后8~10a郁蔽成林。既能增加油源, 又可提高森林覆盖率, 具有美化环境、保持水土、涵养水源、调节气候等生态功能。红花油茶由于花色艳丽、花枝紧凑、树形美观而成为园林绿化植物中的佼佼者, 同时, 它又是一个抗污染能力强的树种, 对二氧化硫抗性强, 抗氯和吸氯能力也很强, 是优良园林树种^[1-3]。

明月山位于江西省西北部, 明月山红花油茶垂直分布在明月山海拔900m以上的溪水旁或山坡上, 是明月山的独特树种, 不仅数量少, 而且在全国仅明月山独有, 经中国林科院鉴定是油茶属一新种, 故命名为明月山红花油茶。它与一般油茶树有所不同, 其显著特点是: (1)含油率高。茶仁含油率达67.04%, 比一般油茶含油率高1倍以上, 堪称“油茶冠军”。(2)叶片边缘无锯齿。故又名全缘红山茶。(3)花色红、朵大、花期长。花朵直径为10cm, 花期长达1个多月, 花形杯状, 是极好的观赏树种。(4)果实生长特性独特。它每年4月中旬开花, 5月下旬结果, 10月成熟, 与一般油茶10月开花, 12月结果, 次年9月成熟相比较, 缩短果期4个月以上, 有利于保树保果和提高油茶产量与质量^[4]。所以, 研究明月山红花油茶的组织培养及快速繁殖技术对促进红花油茶的种植推广有着长远意义。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为明月山红花油茶多年生硬枝, 采自江西省宜春市明月山。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的初代培养 将明月山红花油茶多年生硬枝插入盛有湿润河沙的纸箱内, 保持河沙湿度70%~80%, 室温20~25℃。经过45d左右的培养, 红花油茶硬枝上逐渐萌发出嫩芽。继续培养40d左右, 以生长不同时间新萌发的侧芽为材料进行试验。

将红花油茶新发嫩枝于流水下冲洗1h后, 用无菌水浸泡10min, 70%乙醇浸泡15s左右, 然后用体积分数0.1%HgCl₂水溶液(加少许吐温80)灭菌4~8min, 再用无菌水清洗四五次。灭菌后的材料接种到添加有不同浓度激素的MS培养基上, 置于培养基内进行培养。

所有培养基中激素单位均为mg/L(下同), 全量MS培养基均加0.6%琼脂, 3%蔗糖; pH5.8~6.0; 培养温度为(24±4)℃; 光照12h/d; 光照强度2000lx。

1.2.2 愈伤组织的诱导 试验采用正交设计。将初代培养的材料剪切后转入继代培养基中, 以MS为基本培养基, 对①2,4-D(0, 0.1, 0.2, 0.5)、②NAA(0.05, 0.1, 0.2, 0.5)及③BA(0.5, 1.0, 1.5, 2.0), 进行L₁₆(4⁵)正交试验^[5]。将剪切好的材料接种在培养基上, 观察其分化产生愈伤组织的情况, 统计分化率(产生愈伤的外植体占无菌外植体总数的百分率)。

2 结果与分析

作者简介: 杨育红(1979~), 女, 陕西丹凤人, 硕士, 主要从事园林花卉的遗传育种及快速繁殖技术的研究工作。

收稿日期: 2008-11-30

2.1 不同外植体的离体培养 选取易于分化的明月山红花油茶茎尖作为外植体,经过预试验和参照前人研究结果,选定MS+0.3NAA+1.0BA作为进行外植体选择的基本培养基。

由表1可以看出,培养10d的新萌发嫩枝各部位的愈伤组织的分化率均较20d和30d嫩枝高,并且随着苗龄的增加材料的死亡率上升;茎尖的分化率明显高于下胚轴和胚根,其中茎尖分化的愈伤组织的比例较叶片要高。在MS+0.3NAA+1.0BA培养基上,苗龄10d的嫩枝茎尖有较高的愈伤组织分化率,是较适宜的诱导愈伤材料。

表 1 明月山红花油茶不同外植体分化情况比较 单位: d、%					
苗龄	外植体	样本数	分化率	死亡率	愈伤组织产生率
10	茎尖	106	84.9	0.0	81.1
10	叶片	50	42.0	18.0	52.4
20	茎尖	46	41.3	26.4	69.2
20	叶片	55	80.0	1.8	43.2
30	茎尖	85	82.4	0.0	58.5
30	叶片	48	37.5	33.3	38.9

注:样本数=接种外植体数-污染外植体数

2.2 愈伤组织的诱导 外源激素可以诱导成熟的植物器官脱分化产生愈伤组织。以MS培养基为基本培养基,添加生长素2,4-D、NAA和细胞分裂素BA,进行明月山红花油茶愈伤组织的诱导。以分化率为试验指标,对诱导愈伤的L16(45)正交试验进行极差分析,结果见表2,在愈伤组织诱导中2,4-D是主要影响因素,其次为NAA和BA。当NAA0.5mg/L、BA2.0mg/L时,愈伤组织的分化率达到84.9%,与其他组合相比较可用来诱导的不定芽的有效愈伤组织比率达到最高。

(上接38页)有机肥腐熟后产生有机酸,能把土壤中不可给态养分溶解为可给态,及时供给大豆吸收利用。同时,有机肥还能改善土壤的理化性质,增加疏松程度,增强土壤蓄水、蓄肥和保温能力,为大豆根系和根瘤的生长提供良好的环境。

农家肥的施用量因肥料种类、土壤肥瘠和前作物施肥多少等具体情况而定。一般每667m²施1 000 ~ 3 000kg,在整地时施入。

播种前,在播种行旁边深施过磷酸钙,每667m²10 ~ 15kg,贫瘠土壤还可以配合施用尿素,每667m²5 ~ 10kg,可以获得明显增产效果。施肥时,注意肥种隔离,避免烧种烧苗。播种后,覆盖草木灰效果更好。

2.2 追肥 大豆植株积累氮素最多最快的时期在开花结荚阶段。因此,在分枝期到开花初期追肥,有良好增产效果。土壤肥力低或大豆幼苗生长瘦弱,封垄较为困难的地块应适当早施多施追肥。在土壤肥沃,基肥充足,大豆生长健壮,植株繁茂时,不需追肥,以免大豆徒长倒伏。

大豆追肥时可氮磷配合施用。在大豆生育后期,如发现脱肥现象,可以用尿素加磷酸二氢钾,稀释成水溶液进行叶面喷施。有试验表明,在大豆种子形成期间,喷洒与大豆种所含N、P、K、S比例大体相同的液体肥料,有一定的增产效果。

试验中还发现,随着2,4-D浓度的升高,愈伤组织的分化率有所上升,当把子叶接到A16(MS+2,4-D0.5+NAA0.5+BA0.5+3%蔗糖)培养基时,材料在20d内全部愈伤化,且整块愈伤组织极度膨大,结构疏松。

表2 激素对明月山红花油茶愈伤组织分化的影响 单位: %					
代号	激素类型			分化率	愈伤组织类型
	2,4-D	NAA	BA		
1	0	0.05	0.5	11.6	48.3
2	0	0.1	1.0	37.3	69.7
3	0	0.2	1.5	73.1	89.2
4	0	0.5	2.0	84.9	73.2
5	0.1	0.05	1.0	64.1	62.4
6	0.1	0.1	0.5	68.5	79.3
7	0.1	0.2	2.0	85.2	57.2
8	0.1	0.5	1.5	81.3	50.7
9	0.2	0.05	1.5	79.8	83.3
10	0.2	0.1	2.0	80.7	53.1
11	0.2	0.2	0.5	76.2	62.7
12	0.2	0.5	1.0	82.7	42.9
13	0.5	0.05	2.0	72.4	61.7
14	0.5	0.1	1.5	68.6	37.6
15	0.5	0.2	1.0	65.3	31.8
16	0.5	0.5	0.5	65.9	0

参考文献

[1]庄瑞林.中国油茶[M].北京:中国林业出版社,1988:112.

[2]胡哲森.浙江红花油茶种子油中脂肪酸的分析[J].福建林学院学报,1987,7(1):70 ~ 71.

[3]李克瑞,漆龙霖,赵思东等.山茶属27种植物油脂理化性质及脂肪酸组成的研究[J].中南林学院学报,1984,4(2):101 ~ 109.

[4]潘 辉.明月山红花油茶.知识沙龙,1992,28(2).

[5]唐启义,冯明光.实用统计分析及其DPS数据处理系统[M].北京:科学出版社,2002. (李志明编,徐爱民校)

2.3 施用钼肥和硼肥 在酸性土壤上,种豆科作物特别容易发生缺钼现象,影响产量。因此,应适量施用钼肥。施钼的方法有拌种和叶面喷施两种。拌种:在播种前按钼肥说明书规定的剂量,用喷雾器喷向种子喷雾同时搅拌,待搅拌均匀溶液全被种子吸收阴干后即可播种。注意拌种后不要晒种,以免影响种子发芽。叶面喷施:在大豆开花期喷施适量的钼酸铵,还可在喷钼酸铵的同时,叶面喷施磷肥,效果更好。

硼肥作基肥,每667m²用硼砂0.4 ~ 0.5kg拌细土10 ~ 15kg施用。也可于苗期至开花期,叶面喷施二三次。

3 大豆需水特性及水分管理策略

开花期是大豆需水的关键时期。有研究表明,在大豆不同生育时期进行灌水处理,产量存在显著差异。

分枝后期灌水有很好的增产效果。在大豆的花芽分化期,充足的水分供应能提高大豆的荚数,针对特定的品种而言,大豆的百粒重相对稳定,因此,结荚数的多少直接影响产量。

开花期灌水能提高叶绿素含量,提高光合速率,并很好的维持大豆叶片的功能。由于在这两个生育时期是大豆的营养生长和生殖生长并进时期,适宜的水分能协调大豆的库源关系。在生产实践中,开花期灌水,并配合增施磷肥,能提高大豆干物质积累,从而提高产量。 (徐爱民编,校)