

噻重氮苯基脲对文冠果愈伤组织诱导与分化的影响

任如意¹, 王书臻¹, 司徒琳莉¹, 纪 萍²

(1. 牡丹江师范学院 生命科学与技术学院, 黑龙江 牡丹江 157012; 2. 黑龙江省林副特产研究所, 黑龙江 牡丹江 157011)

摘 要:以文冠果茎段和幼嫩叶片为外植体, 分别进行了茎段和幼嫩叶片的组织培养试验, 研究了附加不同浓度的噻重氮苯基脲(TDZ)愈伤组织和不定芽分化的影响。结果表明: MS+TDZ 0.05 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 培养基对幼叶的诱导分化培养效果最好; MS+TDZ 0.02 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L 培养基对茎段诱导不定芽的效果最好; 而 TDZ 在文冠果生根培养中不起作用。

关键词:文冠果; TDZ; 愈伤组织

中图分类号:S 667.9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)06-0127-03

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia*)为无患子科文冠果属多年生木本植物, 又名文冠树、文官果、木瓜等, 原产于我国北方^[1]。抗逆性强, 是治理荒漠化的理想造林树种, 也是北方寒冷地区难得的优良绿化树种; 种子含油率为 30%~36%, 种仁含油率为 55%~67%, 种子是生产生物柴油的优质原料^[2]; 其提取物具有药用价值, 干果回味悠长, 是上好休闲绿色保健食品; 但文冠果素有“千花一果”之称, 种源严重不足^[3]。文冠果组织培养可以从根本上解决种源不足的问题, 实现文冠果快繁, 并保持植株优良性状。

噻重氮苯基脲(N-phenyl-N'-1, 2, 3-thiadiazol-5-yl urea, Thidiazuron, 以下简称 TDZ)是一种新型高效的生物调节剂, 具有细胞分裂素和生长素的双重作用的特殊功能^[4], 有研究表明, 它可以促进植物芽的再生和繁殖, 具有促进愈伤组织生长, 促进种子萌发, 打破果树休眠, 延缓植物衰老等多重功能^[5]。该试验通过不同浓度的 TDZ 对文冠果愈伤组织的诱导的研究, 探索其对文冠果组培过程的影响, 以期对文冠果的组织培养与快繁工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

文冠果嫩芽(带嫩茎)、嫩叶(带叶柄)材料取自牡丹江师范院校园内(2005 年从哈尔滨第三苗圃引入)^[1]。

1.2 试验设计

以 MS 为基本培养基, 在其基础上添加不同浓度的

TDZ 和 NAA 诱导愈伤组织与不定芽。

1.3 试验方法

采用单因子试验, 每个处理 10 瓶, 每瓶接种 3 个外植体, 重复 3 次。将从牡丹江师范学校校园采来的文冠果茎段进行修剪, 选取合适的外植体用含 0.02%洗洁精水浸泡 10 min 后, 流水冲洗后用滤纸吸干, 在超净工作台上先后用 75%乙醇处理 20 s, 无菌水冲洗 3 次, 0.2%的 HgCl₂ 灭菌 5~7 min, 无菌水冲洗 3~4 次, 无菌滤纸吸干水分, 将幼嫩的茎段切取 0.5~1 cm 大小, 或将幼叶切取 0.5~1 cm 大小接种到培养基上, 叶片应平展接种于培养基上。

培养基的 pH 为 5.8, 20℃暗培养后再转入 25℃光下培养, 光周期 14 h/d, 光强 2 000~2 500 lx (光源为植物组织培养用日光灯), 试验结果采用 3 次重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 TDZ 对幼叶愈伤组织诱导和不定芽分化的影响

将文冠果幼嫩的叶片接种于诱导培养基, 20℃暗培养 7 d 后, 转至 25℃光下培养, 整个叶片逐渐膨大, 叶片的边缘及切口处出现褶皱。随后在叶脉和切口处开始产生愈伤组织。至 30 d 左右时, 叶片全部形成愈伤组织。愈伤组织继续培养, 各种培养基继代过程中都会出现褐化的现象, 但在 Y6~Y10 附加不同浓度 TDZ 的培养基中, 愈伤组织褐化现象相对较少。Y1、Y4、Y5 培养基愈伤组织褐化现象相对较重, 培养 50 d 时, 褐化率达到 85%以上。

愈伤组织培养 40~50 d 会出现芽, 继续培养 20~30 d 芽可以长到 2~3 cm, 超过 2 个茎节, 可以进行壮苗生根培养。

第一作者简介: 任如意(1968-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为分子生物学遗传育种。E-mail: swxrry@126.com。
基金项目: 黑龙江省普通高校毕业生学术骨干计划资助项目(1152G047); 牡丹江师范学院大学生创新资助项目。
收稿日期: 2011-01-13

表 1 TDZ 对幼叶诱导不定芽培养的结果

处理	培养基成分			接种外植体数 /块	产生愈伤 组织数/块	愈伤诱导率 /%	分化丛生芽 /块	丛生芽生长情况	愈伤分化率 /%
	TDZ	6-BA	NAA						
Y1	0.00	1.0	0.00	30	12	40.00	7	丛生芽少	38.89
Y2	0.00	1.0	0.01	30	26	86.67	12	丛生芽多,有2~3个芽超过2节	46.15
Y3	0.00	1.0	0.02	30	17	56.67	11	丛生芽多,有2~3个芽超过2节	64.70
Y4	0.00	0.5	0.01	30	19	63.33	6	丛生芽少	31.58
Y5	0.00	0.5	0.02	30	14	46.67	8	丛生芽少	57.14
Y6	0.01	1.0	0.01	30	22	73.33	13	丛生芽多,有3~4个芽超过2节	59.10
Y7	0.02	1.0	0.01	30	21	70.00	13	丛生芽多,有3~4个芽超过2节	61.90
Y8	0.05	1.0	0.01	30	29	96.67	21	丛生芽多,有3~4个芽超过2节	72.41
Y9	0.10	1.0	0.01	30	14	46.67	10	丛生芽多,有3~4个芽超过2节	71.42
Y10	0.20	1.0	0.01	30	16	53.33	7	丛生芽多,有3~4个芽超过2节	43.75

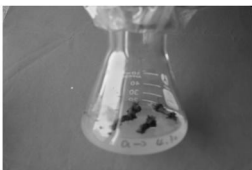


图 1 愈伤组织上分化出的苗 图 2 茎段两端出现的芽点

2.2 TDZ 对幼茎组织诱导不定芽的影响

幼茎接种于诱导培养基, 20℃暗培养 7 d 后, 转至 25℃光下培养, 茎段两端的伤口处逐渐膨大, 28~35 d 有芽点出现。由表 2、图 2 可知, 在不同浓度 TDZ 和 NAA 的培养基中, 芽点出现与生长状况表现出差异。

从表 2、图 3 可知, Y8 培养基对茎段不定芽的诱导效果最好, 丛生芽茂密, 长势正常, 芽粗壮, 每个芽点茎节较多, 易于分开, 而且褐化程度较轻, 适于进一步的生根培养。



图 3 大量的丛生芽 图 4 生根前植株(3~4 cm)

表 2 TDZ 对茎段诱导不定芽培养的结果

处理	培养基成分			接种外植体数 /块	分化丛生芽 /块	丛生芽生长情况	褐化情况	丛生芽生长率 /%
	TDZ	6-BA	NAA					
Y1	0.00	1.0	0.00	30	13	丛生芽稀少, 生长缓慢	褐化严重	43.33
Y2	0.00	1.0	0.01	30	17	丛生芽稀少, 生长缓慢	褐化严重	56.67
Y3	0.00	1.0	0.02	30	28	丛生芽比较繁茂, 且芽生长较旺, 芽茎节较细弱	褐化严重	93.33
Y4	0.00	0.5	0.01	30	19	丛生芽稀少, 生长缓慢	褐化严重	63.33
Y5	0.00	0.5	0.02	30	18	丛生芽稀少, 生长缓慢	褐化严重	60.00
Y6	0.01	1.0	0.02	30	27	丛生芽比较繁茂, 且芽生长旺, 芽茎节粗壮	褐化较轻	90.00
Y7	0.02	1.0	0.02	30	30	丛生芽繁茂, 且芽生长旺, 芽茎节粗壮	褐化较轻	100.00
Y8	0.05	1.0	0.02	30	30	丛生芽比较繁茂, 且芽生长旺, 芽茎节粗壮	褐化较轻	100.00
Y9	0.10	1.0	0.02	30	23	丛生芽稀少, 生长缓慢	褐化较轻	76.67
Y10	0.20	1.0	0.02	30	25	丛生芽稀少, 生长缓慢	褐化较轻	83.33

2.3 文冠果无根苗的壮苗培养

在不定芽长至 3~5 cm 时, 将不定芽切下转至生根培养基中进行生根培养, 不定芽在生根培养基中培养 12~15 d 开始长根, 20~25 d 能长出 2 cm 左右长的根。

从表 3 可知, G2 生根培养基的生根效果相对较好。

表 3 文冠果不定根诱导培养结果

处理	培养基成分				接种苗数	生根苗数	根生长情况	生根率/%
	TDZ	6-BA	NAA	IBA				
G1	0.00	0.00	0.0	1	16	3	20 d 左右有根生成, 比较正常	18.75
G2	0.00	0.01	0.0	1	17	6	15 d 左右有白色根生成, 比较粗壮	35.29
G3	0.00	0.00	1.0	0	14	2	23 d 左右出现根, 生长速度较慢	14.28
G4	0.00	0.01	1.0	0	20	1	28 d 左右有 1 株出现根, 生长速度较慢	5.00
G5	0.01	0.01	0.0	1	14	0	无生根现象出现	0.00
G6	0.10	0.01	0.0	1	16	1	28 d 左右有 1 株出现根, 生长速度较	6.25
G7	0.00	0.01	0.5	1	13	3	23 d 左右出现根, 生长速度较慢	23.08

IBA 和 NAA 对文冠果的生根作用影响不大, 而 TDZ 对生根作用不大, 总之, 文冠果的生根率比较低, 对于如何提高文冠果的生根作用还有待于进一步的研究。

揭开瓶盖, 练苗 3~5 d 后, 可进行移栽。

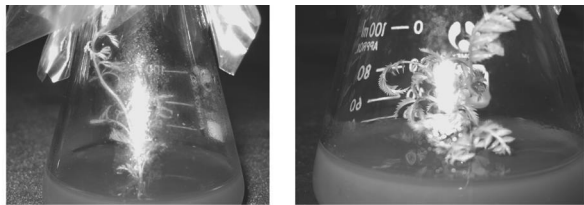


图5 文冠果生根培养(15 d) 图6 文冠果生根培养(15 d)

3 讨论

关于文冠果的组织培养的研究曾有报道^[3,9],在大多数的文冠果组织培养研究中通常使用 6-BA 和 NAA 诱导愈伤组织的产生和芽的分化,未见有使用 TDZ 的报道。该研究探索了 TDZ 对文冠果组织培养过程中幼叶愈伤组织的诱导和不定芽分化的影响,最适的使用 TDZ 的浓度为 0.05 mg/L,茎段不定芽的发生最适 TDZ 浓度为 0.02~0.05 mg/L。可见,TDZ 对再生芽的诱导具有一定的效果^[7-8]。试验表明 TDZ 作为一种植物生长调节剂,有很强的细胞分裂素活性,可以在再生芽的诱导中起一定的作用。

试验过程中,愈伤组织的诱导和不定芽的诱导极易出现褐化,这是文冠果无性快繁中的一个难题,虽然在研究中发现 TDZ 的使用可有效的抑制褐化,但仍是亟待解决的问题,需要进一步研究克服文冠果组织培养过程中的褐化因素。

参考文献

[1] 李晶,王承义,孙海滨,等.文冠果体细胞胚胎发生体系建立[C].第二届中国林业学术大会—S2 功能基因组时代的林木遗传与改良论文集 2009:379-383.
[2] 方有海,孙林,赵凌泉,等.文冠果的生物生态学特性及其开发利用[J].防护林科技,2010(1):96-97.
[3] 顾玉红,高述民,郭惠红,等.文冠果的体细胞胚胎发生[J].植物生理学通讯,2004,40(3):311-313.
[4] 许晓峰,黄学林.TDZ:一种有效的植物生长调节剂[J].植物学通报 2003,20(2):227-237.
[5] 郎文香,李宏博,孙丹,等.离体条件下 TDZ 对解除北五味子种子休眠的影响[J].西北植物学报,2010,30(9):1871-1875.
[6] 王永明,赵静茹,陈颖.文冠果组织培养[J].植物生理学通讯,1986(1):42.
[7] 连露,马锋旺,陈登文,等.TDZ 对仙客来不同外植体再生的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2006,34(4):39-42.
[8] 胡纳梅,韩素英,梁国鲁,等.TDZ 诱导中间锦鸡儿植株再生[J].北方园艺,2009(8):204-205.

Study on Effects of Different Concentrations of TDZ on Callus Induction of *Xanthoceras sorbifolia*

REN Ruyi¹, WANG Shuzhen¹, SITU Linli¹, JI Ping²

(1.College of Life Science and Technology, Mudanjiang Normal University, Mudanjiang Heilongjiang 157012; 2.Heilongjiang Forest Vice special Product Research Institute, Mudanjiang Heilongjiang 157011)

Abstract: With stem section and younger leaves of *Xanthoceras sorbifolia* as explants, tested some tissue culture experiments on stem section and younger leaves, studied the effects of different concentrations of TDZ on callus induction and adventitious bud differentiation. The results showed that MS+TDZ 0.05 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L medium had the best effect on differentiation culture for younger leaves, MS+TDZ 0.02 mg/L 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L medium had the best effect on adventitious bud for stem section; but TDZ had no effect on rooting culture *Xanthoceras sorbifolia*.

Key words: *Xanthoceras sorbifolia*; TDZ; callus induction