维普资讯 http://www.cqvip.com

不同激素配比对茶树苗组织培养的影响

王云 (南阳师范学院,河南南阳 473061)

摘要 利用茶树苗的叶片、茎段、茎尖等外植体为材料,探讨不同激素配比对叶片、茎段产生愈伤组织,以及对茎尖产生丛生芽的影响。结果表明:叶片、茎段都能产生愈伤组织,但茎段的愈伤组织诱导率较高,叶片的愈伤组织诱导率较低。叶片、茎段愈伤组织培养的最适培养基是 MS+2,4-D(2 mg/L)+6-BA(0.4 mg/L)。

关键词 茶树苗;组织培养;愈伤组织
中图分类号 Q943.1　**文献标识码** A　**文章编号** 0517-6611(2006)14-3312-02

Preliminary Study on Tea Plant Tissue Culture

WANG Yun (Nanyang Normal College, Nanyang, Henan 473061)

Abstract The leaf, stem segments and stem tips of tea plants were used as explants to be cultured on MS media. The effect of different concentrations of hormore on leaf, stem segment and stem tip culture was sdudied. The result indicated that the callus can be induced from leaf and stem segment culture, but the inductivity rate of stem segment were higher than that of leaf. The medium: MS+2,4-D(2 mg/L)+6-BA(0.4 mg/L) was the suitable for the callus induction.

Key words Tea plant; Tissue culture; Callus

茶叶中氨基酸总量为 50%以上。茶氨酸定是茶树的特有氨基酸。现代科学研究发现,茶氨酸具有多种生理和药理作用,是潜在的可开发利用的药物和机能性食品。但由于茶氨酸是在根部合成运到地上部的,所以含量极微。自然条件下茶叶中茶氨酸的含量仅为 1%~2%,产量低,提纯难度大,生产成本高,因此,限制了对其进一步的研究和应用。该研究旨在建立茶树苗的无菌组织培养体系,为今后开展对该茶树的遗传转化工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料 水仙大叶茶当年生的嫩叶、嫩茎、茎尖,由广东韶关茶园提供。

1.2 培养基及培养条件 表 1 中培养基琼脂含量均为 0.8%,蔗糖含量均为 3%,pH 值为 5.7~5.8,且在 121 ℃高压灭菌 20~30 min,培养温度为 26 ℃±1 ℃,光周期为 16 h,光照强度为 1 500~2 000 lx[1],约每 20d 继代 1 次。

表 1 不同材料的培养基

诱导愈伤组织的培养基	产生丛生芽的培养基
MS+IAA(2 mg/L)+6-BA(4 mg/L)[1]	MS+6-BA(0.5 mg/L)
MS+NAA(1 mg/L)+6-BA(4 mg/L)	MS+6-BA(0.5 mg/L)+NAA (0.01 mg/L)
MS+NAA(2 mg/L)+6-BA(4 mg/L)	MS+6-BA(1.0 mg/L)+NAA (0.01 mg/L)
MS+2,4-D(2 mg/L)+6-BA(0.1 mg/L)	
MS+2,4-D(2 mg/L)+6-BA(0.2 mg/L)	
MS+2,4-D(2 mg/L)+6-BA(0.4 mg/L)	

1.3 接种的方法步骤 将供试材料置于洗洁精溶液中浸泡洗涤 5~10 min,然后取出用清水冲洗干净,再用蒸馏水冲洗 2~3 次,放入烧杯中并用报纸封口,在烧杯外面喷上酒精放入超净工作台(已用紫外灯照射灭菌 30 min)。在超净台上先用浓度为 75%的酒精消毒 30 s,再用浓度为 0.1%的升汞(含吐温)消毒 8~10 min,然后用无菌水冲洗 4~5 次待用。将叶片切成约 1 cm^2 的小块,茎段切成 0.5~1.0 cm 的小段,用滤纸吸干水分,分别接在 6 种诱导愈伤组织的培养基上。每个配方接种茎段、叶片各 20 瓶,每瓶接种 3 个外植体。茎尖用滤纸吸干水分,剥去展开的叶片,露出生长点,留 2~3 个叶原基,再在浓度为 75%的酒精中泡洗 10 s 左右,无菌水冲洗后吸干,接种在 3 种产生丛生芽的培养基上[2],每个配方接种茎尖 20 瓶,每瓶接种 3 个外植体。接种好的培养基放于光照培养箱内培养,培养箱温度及光照按培养条件设置。

1.4 调查内容与方法 每天观察外植体的生长情况,并记录愈伤数,计算出愈率。

2 结果与分析

2.1 不同激素配比对叶片、茎段产生愈伤组织的影响 外植体接种 2 d 后,发现有少数污染,且茎段和茎尖的污染数相对较多,叶片的污染数相对较少。培养至第 10 天时,叶片稍有些卷起或隆起,且颜色有些发黄。培养至第 15 天时,茎段两端开始膨大,颜色有些发黄;叶片也开始变厚,尤以切口处明显,且叶脉开始加粗,颜色不再变黄。培养至第 25 天左右时,叶片与茎段在切口表面都产生肉眼可见的愈伤组织,其中培养基 MS+2,4-D(2 mg/L)+6-BA(0.4 mg/L)上的愈伤组织生长最好,诱导率亦最高,其中,叶片的愈伤组织的诱导率为 48.9%,茎段的诱导率为 88.7%(表 2、3)。

表 2 不同激素配比对叶片愈伤组织诱导的影响

激素//mg/L	接种数//块	愈伤数//块	出愈率//%
IAA(2.0)+6-BA(4.0)	50	17	33.3
NAA(1.0)+6-BA(4.0)	50	10	20.4
NAA(2.0)+6-BA(4.0)	52	14	26.9
2,4-D(2.0)+6-BA(0.1)	50	18	35.7
2,4-D(2.0)+6-BA(0.2)	51	17	33.3
2,4-D(2.0)+6-BA(0.4)	51	25	48.9

表 3 不同激素配比对茎段愈伤组织诱导的影响

激素//mg/L	接种数//块	愈伤数//块	出愈率//%
IAA(2.0)+6-BA(4.0)	51	24	47.1
NAA(1.0)+6-BA(4.0)	50	12	24.0
NAA(2.0)+6-BA(4.0)	49	15	30.6
2,4-D(2.0)+6-BA(0.1)	48	28	58.3
2,4-D(2.0)+6-BA(0.2)	51	32	62.7
2,4-D(2.0)+6-BA(0.4)	53	47	88.7

茎段的愈伤组织呈白色、浅绿色,初期生长较慢,组织较为致密,经两三代培养后逐渐疏松,生长速度加快;叶片的愈伤组织呈白色,组织较为疏松,生长速度较慢。叶片的边缘及叶脉处容易产生愈伤组织,随着培养天数的增加,愈伤组织的发生由叶片边缘扩展到叶片表面,但扩展不太明

作者简介 王云(1979-),女,河南南阳人,助教,从事组织培养研究。
收稿日期 2006-04-10

维普资讯 http://www.cqvip.com

显。茎段外植体不仅易于诱导愈伤组织的形成，而且其愈伤组织生长迅速，状态良好(图1、2)。

2.2 不同激素配比对茎尖产生丛生芽的影响 由表4可以看出，茎尖几乎不产生丛生芽，并且出现脱叶、干叶等现象，其中培养基MS+NAA(0.01 mg/L)+6-BA(0.5 mg/L)培养基能使其存活较长时间，但生长不太明显(图3)。

表4　不同培养基对茎尖产生丛生芽影响的比较

激素//mg/L	接种数//个	生长数//个	生长率//%
6-BA(0.5)	50	0	0
6-BA(0.5)+NAA(0.01)	50	3	6
6-BA(1.0)+NAA(0.01)	50	0	0

图1　叶片的愈伤组织

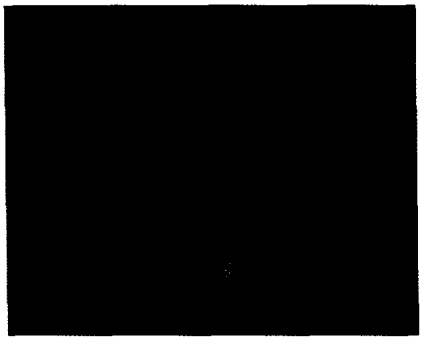

图2　茎段的愈伤组织

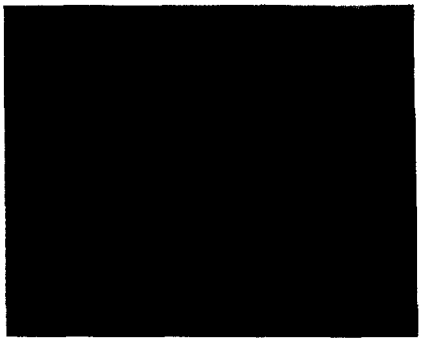

图3　茎尖的生长状况

3 结论与讨论

茎段较容易产生愈伤组织，且出愈率较高。较适宜的培养基为：MS+2,4-D(2 mg/L)+6-BA(0.4 mg/L)。

茎尖的生长状态较差，几乎不产生丛生芽，造成这种情况的可能原因有3个：①茎尖幼嫩，而且茶树苗采集过程中容易受损，导致褐化。②外植体离体时间较长，不是即采即用，可能对丛生芽的培养造成一定的影响。③激素配比或激素浓度不合适。

外植体在培养过程中有褐化现象，切口褐化对愈伤组织的生长产生影响。外植体褐化主要是由于茶叶分泌的多酚类物质被氧化所致[3]。所以，为了减少褐化面积，试验中将叶片的面积尽量切小。结果表明，较短的茎段更容易产生愈伤组织。

试验结果还表明，茎段培养无论在诱导率或生长状态方面都要优于叶片，因此，茎段作为组织培养的外植体材料较好。

参考文献

[1] 袁地顺，倪元栋，邝平喜.茶细胞培养法生产茶氨酸的技术研究——茶愈伤组织的诱导体系的建立[J].福建茶叶，2003(3)：27.
[2]李福元，李福国.云抗10号大叶茶的组织培养[J].保定师专学报：自然科学版，1996，15(4)：1.
[3] 钟俊辉. 茶愈伤组织培养及茶氨酸的累积 [J]. 无锡工业大学报，1997，16(3)：1-7.

(上接第3311页)

致病作用外，环境因素占有重要地位。因此，加强饲养管理，消除各种应激因素的刺激，就成为预防该病发生和流行的主要技术措施。

(3)随着附红细胞体在血液中数量增加，必然会影响、干扰甚至破坏红细胞及血液中其他成分的功能[4]，使猪的抗病能力下降，从而容易发生其他病原微生物的继发感染。为了保证猪群的健康，消除猪附红细胞体给猪群造成的应激，防止其他病原微生物的继发感染。笔者建议，各养猪场应对猪群定期进行抽样检查，对附红细胞体病进行监测，发现有附红细胞体感染时应采取有效的治疗措施，及时消除隐性感染。

参考文献

[1] 蔡宝祥. 家畜传染病学[M].北京：中国农业出版社，2001.
[2] 林孝堂，商国武，陈荣盼，等. 猪附红细胞体病的诊断与防治[J].河南职业技术师范学院学报，2002，30(1)：40-42.
[3] 南京农学院，山东农学院，江苏农学院.家畜传染病学[M].上海：上海科学技术出版社，1986.
[4] 许应天，张守发，宋建臣，等.延边地区牛附红细胞体感染率的调查[J].中国兽医杂，2003，39(8)：24-25.

GB/T 7714-2005

题　名

题名包括书名、刊名、报纸名、专利题名、科技报告名、标准文献名、学位论文名、析出的文献名等。题名按著录信息源所载的内容著录。

(1)同一责任者的多个合订题名，著录前3个合订题名。对于不同责任者的多个合订题名，可以只著录第一个或处于显要位置的合订题名。在参考文献中不著录并列题名。

示例1：自己的园地；雨天的书(原题：自己的园地 雨天的书 周作人著)

示例2：美国十二名人传略(原题：美国十二名人传略 Twelve Famous Americans)

(2)文献类型标志依据GB/T 3469《文献类型与文献载体代码》著录；对于电子文献不仅要著录文献类型标志，而且要著录文献载体标志。

(3)其他题名信息可根据文献外部特征的揭示情况决定取舍，包括副题名，说明题名文字，多卷书的分卷书名、卷次、册次等。

示例1：地壳运动假说：从大陆漂移到板块构造

示例2：中国科学：D辑 地球科学