园 艺 学 报 2003, 30 (2): 239~241
Acta Horticulturae Sinica

滇润楠的组织培养及快速繁殖研究

林 萍 普晓兰
(西南林学院，昆明 650224)

摘 要：用滇润楠成年树带芽嫩茎、嫩叶和根部萌蘖枝条上带芽嫩茎为材料进行组织培养，在 MS + BA 4 mg·L^{-1} + NAA 0.5 mg·L^{-1}的培养基上，树冠越冬芽褐化较轻，腋芽萌发率高，小苗生长良好，同时也有利于后期增殖；在 MS + BA 8 mg·L^{-1} + NAA 0.5 mg·L^{-1} + KT 1.0 mg·L^{-1}的培养基上能分化出丛生芽，但增殖率低；在 1/2 MS + NAA 0.1 mg·L^{-1}的培养基上诱导出白色健壮根。外植体取材部位、取材时间、激素等因素是引起滇润楠组培褐变及影响快速繁殖的主要原因。

关键词：滇润楠；组织培养；快速繁殖；激素；褐变
中图分类号：S 68 **文献标识码**：A **文章编号**：0513-353X (2003) 02-0239-03

1 目的、材料与方法

滇润楠 (*Machilus yunnanensis* var. *duclouxii*) 为樟科润楠属常绿乔木，是很好的园林绿化树种，近年来苗木供不应求，常规繁殖方法不能满足市场需求。组织培养繁殖滇润楠，目前国内外尚无报道，进行滇润楠组培快繁研究对扩大其繁殖系数和育苗途径有重要意义。材料取自西南林学院行道树。剪取成年树冠带芽嫩茎、嫩叶及根部萌蘖枝条带芽嫩茎，表面消毒后，将嫩茎剪成 0.5~1.0 cm 长的带芽茎段，叶片切成 1 cm^2 小块，接种于诱导培养基上，待腋芽萌发后进行增殖培养，最后移入生根培养基中诱导生根。以 MS 为基本培养基，添加不同浓度的 BA、KT、NAA、2,4-D，并加 3%蔗糖，0.4%琼脂粉，pH 5.8。培养室温度 (25±3)℃，湿度 50%~80%，光照强度 2 000 lx，光照时间 12 h·d^{-1}。

2 结果与分析

2.1 取材部位的影响

在相同培养条件下，越冬芽接种 11 d 长出愈伤组织，18 d 腋芽萌动，比萌蘖条上的腋芽分别提早 4 d和 7 d，到 30 d 时，愈伤组织和腋芽诱导率分别高出 44.1%和 14.4% (表 1)，且生长健壮。这主要是因为越冬芽通过休眠期后，芽内积累了丰富的营养物质，条件适宜时迅速萌发生长[1]，而根部萌蘖条上的芽形成时间较短，营养物质相对较少。嫩叶的诱导效果介于上述两者之间，但脱分化和再分化的时间较长。

滇润楠组培过程中褐变现象非常严重，尤其是根蘖条上的芽，培养几天后绝大部分死亡，但树冠越冬芽褐变较轻。这与陈正华报道[2]的欧洲栗培养中幼年材料含醌类物质少褐变轻，而成年材料含醌类物质多褐变重的结果不一致，其原因有待于进一步研究。叶片取材容易，不定芽的诱导率也比根蘖条上的腋芽萌发率高，但因分化程度与次生物质含量高，易褐化死亡。因此滇润楠组织培养的外植体取成年树冠上带越冬芽的嫩茎

表 1 不同取材部位诱导率比较

Table 1 Induction rates of different parts of tree as explants

取材部位 Explant types	接种数 No. inoculated	愈伤组织诱导率 Calli induction rate(%)	芽诱导率 Bud induction rate(%)
树冠越冬芽 Over wintering bud of crown	532	73.7	26.7
根部萌蘖条腋芽 Auxiliary bud of stump shoot	341	29.6	12.3
嫩叶 Young leaf	300	43.3	22.7

收稿日期：2002-07-16；**修回日期**：2002-10-10

较好，叶片可作为芽外植体材料不足时的补充。

2.2 取材时间的影响

在试验中看到，2月底至4月初取材褐变较轻，褐变时间推迟，能诱导腋芽萌发或不定芽分化，转接次数少；而4月中旬至5月底剪取的材料接种后迅速褐变死亡，几乎不能诱导出芽。说明器官或组织与整体分离得越早，再生的可能性越高[3]。因此滇润楠外植体取材时间以2月底至4月初为宜。

2.3 激素的影响

2.3.1 KT与2,4-D组合对腋芽萌发的影响

用BA和KT，NAA和2,4-D进行配比试验（每个组合接种30~36个越冬芽外植体，重复2次），发现BA与2,4-D配比、KT与NAA配比几乎没有腋芽萌动，外植体很快褐变死亡，不能获得再生植株。而KT与2,4-D搭配、BA与NAA搭配以及只用BA，对腋芽萌发有明显的效果，褐化较轻。

用KT与2,4-D进行组合试验（表2），当KT为1.0 $mg \cdot L^{-1}$（单位下同）时，随着2,4-D浓度增加，腋芽萌发率明显提高；当KT增至1.5时，随着2,4-D增加，腋芽萌发率虽有上升的趋势，但效果不很明显；而当KT提高到2.0时，2,4-D增加反而使腋芽萌发率降低。以KT 1.0+2,4-D 1.0和KT 2.0+2,4-D 0.1的组合诱导最高。前者小苗平均高度略高于后者，但苗弱色浅，长势较差，而后者小苗叶色浓绿，叶片舒展，生长健壮。说明并非细胞分裂素及生长素浓度增大，诱导率越高，生长就越好，重要的是二者浓度的最佳配比[1]。

表2 KT与2,4-D不同浓度组合下的腋芽诱导率

Table 2 The induction rate of axially bud on different KT and 2,4-D levels (%)

KT	2,4-D ($mg \cdot L^{-1}$)		
($mg \cdot L^{-1}$)	0.1	0.5	1.0
1.0	40.0	50.0	70.0
1.5	36.4	40.0	45.5
2.0	70.0	60.0	45.5

2.3.2 BA与NAA配比对腋芽萌发的影响

如表3所示，在相同的BA浓度下，NAA浓度以0.5效果较好；在相同的NAA浓度下，BA浓度在1.0~4.0的范围内，腋芽诱导率呈上升趋势，BA为6.0时则下降，其中BA 4.0+NAA 0.5的组合诱导率高，芽苗生长健壮，叶平色绿。BA 4.0+NAA 0.1的组合虽然也有满意的诱导率，但芽苗生长显然较差。从表3还可看出，只用BA时腋芽诱导率较高，尤其当BA浓度为4.0时，达到了70.8%的最高诱导率，而只用NAA时腋芽萌发很少。说明诱导滇润楠腋芽萌发，BA的作用至关重要，但BA 4.0单独使用时诱导率虽高，小苗生长却不如加NAA 0.5的组合，综合考虑，还是用BA 4.0+NAA 0.5配比效果较好。

2.3.3 不同浓度的BA与NAA配比对叶片外植体脱分化和再分化的影响

叶片外植体在BA和NAA各个浓度配比下均能脱分化形成愈伤组织，但褐化较重，经继代培养，在BA 4.0+NAA 0.1的组合中，愈伤组织首先分化出红色芽点，继而长成不定芽，其它组合也相继分化出不定芽。由表4可以看出，在9组组合中，诱导不定芽分化的最佳激素浓度组合为BA 4.0+NAA 0.1。以当BA浓度为4.0和6.0时，随着NAA浓度的增加，表现出明显的抑制作用。

表3 BA与NAA不同浓度组合下的腋芽诱导率

Table 3 The induction rate of axially bud on different BA and NAA levels (%)

BA	NAA ($mg \cdot L^{-1}$)			
($mg \cdot L^{-1}$)	0	0.1	0.5	1.0
0	-	4.2	3.8	0
1.0	-	0	20.0	20.0
1.5	-	18.2	28.6	17.7
2.0	32.0	16.1	30.7	26.7
4.0	70.8	53.6	60.0	47.0
6.0	12.0	11.5	18.5	12.5

表4 BA与NAA不同浓度配比下的不定芽诱导率

Table 4 The induction rate of adventitious bud on different BA and NAA levels (%)

BA	NAA ($mg \cdot L^{-1}$)		
($mg \cdot L^{-1}$)	0.1	0.5	1.0
2.0	26.3	29.8	16.4
4.0	41.2	31.7	25.4
6.0	16.8	10.1	7.9

2.3.4　激素种类及浓度对增殖的影响

滇润楠的增殖培养相对较难，带芽嫩茎在只有细胞分裂素或是一种细胞分裂素与一种生长素搭配的培养基里，几乎没有丛生芽形成，而且不能在初代培养的培养基上进行继代增殖，否则小苗或愈伤组织会逐渐变褐死亡，其原因可能是在培养过程中逐渐消耗了在原有母体组织中存在的与器官形成有关的特殊物质，或是由于组织细胞在长期培养中遗传性的改变[4]。当把 BA 浓度提至 10.0，同时再增加 KT（浓度用 0.5、1.0、1.5），结果只是 BA 8.0 + KT 1.0 + NAA 0.5 的组合获得了一定数量的增殖芽苗，但增殖率低，平均增殖倍数仅为 1.9，其余组合均无不定芽增殖，这远远不能满足大量繁殖的需要，需进一步研究提高增殖率的培养基配方。此外，原来在 KT 和 2,4-D 配比的培养基上生长的芽苗不能诱导出丛生芽，这可能是因为 2,4-D 有抑制芽形成的副作用[3]。考虑到滇润楠次生物质含量高，难诱导，愈伤组织再分化困难，离体培养时应以诱导腋芽萌发、增殖为主。

2.4　生根培养

采用 1/2 MS 附加 NAA 和 IBA，在 0～1.0 浓度范围内，生根率和生长情况不同。从表 5 可看出，两种生长素对根的诱导均有明显的促进作用，且效果相差不大。随着浓度的增加，NAA 对根的诱导率降低，IBA 在 0.3 时有上升，随即也下降。相对而言，效果较好的是 NAA 浓度为 0.1，生根率达到 77.7%，根白色健壮，形成了完整的小植株。

表 5　不同生长素及浓度条件下的生根率

Table 5　The rooting rate of different auxin and its levels　(%)

激素种类 Types of hormone	浓度 Concentration($mg\cdot L^{-1}$)				
	0	0.1	0.3	0.5	1.0
NAA	23.2	77.7	68.4	62.8	48.8
IBA	23.2	61.8	70.2	62.5	50.1

参考文献：

1　李　青，苏雪痕，李湛东．藤本月季组织培养快繁研究．北京林业大学学报，1999，21（6）：18

2　陈正华．木本植物组织培养及其应用．北京：高等教育出版社，1986．34～36

3　谭文澄，戴策刚．观赏植物组织培养技术．北京：中国林业出版社，1997．63～127

4　杨增海．园艺植物组织培养．北京：农业出版社，1987．64

Rapid Propagation of *Machilus yunnanensis* var. *duclouxii* in Vitro

Lin Ping and Pu Xiaolan

(*Southwest Forestry College*, *Kunming* 650224, *China*)

Abstract: The culture of the stem-bud from crown and stump shoot of *Machilus yunnanensis* var. *duclouxii* in vitro was studied. The results showed that the less browning and high germination rate of axially bud from the stem-bud appeared on the medium of MS + BA 4 $mg\cdot L^{-1}$ + NAA 0.5 $mg\cdot L^{-1}$, and the plantlets grew well, which was beneficial to later mutiplication. The tufted buds were differentiated on the medium of MS + BA 8 $mg\cdot L^{-1}$ + NAA 0.5 $mg\cdot L^{-1}$ + KT 1.0 $mg\cdot L^{-1}$, but multiplication rate was low. On the medium of 1/2 MS + NAA 0.1 $mg\cdot L^{-1}$, the white healthy roots were induced. The taken-parts, taken-time of explants of *Machilus yunnanensis* var. *duclouxii* and hormone in medium are main factors that cause browning and affect the speed of propagation during breeding.

Key words: *Machilus yunnanensis* var. *duclouxii*; Culture in vitro; Rapid propagation; Hormone; Browning