

李先民,卜朝阳,李春牛,等. 杜鹃红山茶愈伤组织诱导条件的优化[J]. 江苏农业科学,2021,49(23):61-65.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.23.011

# 杜鹃红山茶愈伤组织诱导条件的优化

李先民<sup>1</sup>, 卜朝阳<sup>1</sup>, 李春牛<sup>1</sup>, 崔学强<sup>1</sup>, 黄莉萍<sup>2</sup>, 卢家仕<sup>1</sup>, 黄展文<sup>1</sup>, 苏群<sup>1</sup>

(1. 广西农业科学院花卉研究所,广西南宁 530007; 2. 华南农业大学林学与风景园林学院,广东广州 510642)

**摘要:**为明确不同处理对杜鹃红山茶愈伤组织诱导的影响,以8年生杜鹃红山茶为材料,研究不同外植体材料、灭菌方式、培养基种类、激素种类及配比、活性炭浓度等对杜鹃红山茶愈伤组织诱导的影响。结果表明:(1)在相同的灭菌方式下,叶片外植体愈伤诱导率均明显高于叶柄外植体和花瓣外植体。采用0.1% HgCl<sub>2</sub> 灭菌5 min,叶片外植体愈伤诱导率最高,达48.89%。(2)MS培养基是最适合叶片和花瓣外植体愈伤组织诱导的基本培养基,叶片和花瓣在该培养基中的愈伤诱导率均最高,分别达42.12%、37.62%。(3)培养基中添加不同浓度的6-BA与GA<sub>3</sub>对叶片外植体愈伤诱导率具有显著影响,低浓度的6-BA和高浓度的GA<sub>3</sub>有利于提高愈伤诱导率,愈伤诱导率最高的激素组合为1 mg/L 6-BA + 1.5 mg/L NAA + 0.6 mg/L GA<sub>3</sub>,诱导率达61.67%。(4)外植体褐化率随添加活性炭浓度的增加呈逐渐降低的趋势,添加活性炭浓度为1.2 g/L时,叶片和花瓣外植体褐化率最低且愈伤诱导率处于最高水平。

**关键词:**杜鹃红山茶;愈伤组织诱导;外植体;灭菌;培养基;激素

**中图分类号:**S685.140.4<sup>+</sup>3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)23-0061-05

杜鹃红山茶(*Camellia azalea*)为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)常绿灌木或小乔木,是中国特有珍稀濒危物种,现存野生植株仅1 000多株,仅在广东省阳春市鹅凰嶂省级自然保护区内一个狭窄的河谷两旁有零星分布<sup>[1]</sup>,已被《中国物种红色名录》列为极危种<sup>[2]</sup>。杜鹃红山茶花期长,夏、秋2季为盛花期,在适宜的栽培条件下一年四季

都可以开花,是迄今为止发现的唯一能真正全年开花的山茶物种,弥补了山茶属夏季和秋季不开花的空白<sup>[3]</sup>。杜鹃红山茶开花稠密、花朵大而艳红,叶形奇特、叶厚革质,植株紧凑,病虫害少,适应性强,在园林与观赏园艺方面具有广阔的应用前景<sup>[4]</sup>;同时,杜鹃红山茶是培育杂交四季茶花优良品种的宝贵亲本材料,具有极高的科研价值<sup>[5]</sup>。

近年来,随着杜鹃红山茶知名度及市场需求与日俱增,国内外关于杜鹃红山茶繁殖技术的研究也逐渐增多,主要集中在扦插繁殖<sup>[6]</sup>、嫁接繁殖<sup>[7]</sup>、播种育苗<sup>[8]</sup>方面,有关组织培养的研究较少。利用组织培养,可以生产大量的优良无性系<sup>[9]</sup>,将植物组织培养技术应用于杜鹃红山茶的快速繁殖,对种质资源保护,丰富园林植物多样性,缓解杜鹃红山茶苗木供应紧张的状况,为科研提供优良无性系,皆

收稿日期:2021-06-22

基金项目:广西科技基地和人才专项(编号:桂科AD18281004);广西农业科学院基本科研业务专项(编号:桂农科2017YM47);广西农业科学院科技先锋队专项(编号:桂农科JZ2020013);广西农业科学院科技发展基金(编号:桂农科2021JM29)。

作者简介:李先民(1988—),男,广西南宁人,硕士,助理研究员,主要从事观赏植物栽培与育种研究。E-mail:lixm7406@126.com。

通信作者:李春牛,硕士,副研究员,主要从事观赏植物选育及栽培研究。E-mail:lichunniu@126.com。

[24]林静,张所兵,张云辉,等. 利用染色体片段置换系定位水稻抗纹枯病QTLs[J]. 江苏农业学报,2013,29(4):691-695.

[25]林静,张云辉,陈海元,等. 水稻地方品种苗期耐盐QTL的定位[J]. 华北农学报,2019,34(增刊1):1-5.

[26]Weng J F, Gu S H, Wan X Y, et al. Isolation and initial characterization of GW5, a major QTL associated with rice grain width and weight[J]. Cell Research,2008,18(12):1199-1209.

[27]Zhang X J, Wang J F, Huang J, et al. Rare allele of *OsPPKL1* associated with grain length causes extra-large grain and a significant yield increase in rice[J]. Proceedings of the National

Academy of Sciences of the United States of America,2012,109(52):21534-21539.

[28]Ishimaru K, Hirotsu N, Madoka Y, et al. Loss of function of the IAA-glucose hydrolase gene *TGW6* enhances rice grain weight and increases yield[J]. Nature Genetics,2013,45(6):707-711.

[29]Li Y B, Fan C C, Xing Y Z, et al. Chalk5 encodes a vacuolar H<sup>+</sup>-translocating pyrophosphatase influencing grain chalkiness in rice[J]. Nature Genetics,2014,46(4):398-404.

[30]孙春龙. 水稻抗性淀粉含量性状的QTL定位及遗传分析[D]. 长春:吉林大学,2013.

具有十分重要的意义。本研究以杜鹃红山茶叶片、叶柄及花瓣作为外植体,研究不同外植体材料、灭菌方式、培养基种类、激素种类及配比、活性炭浓度等对杜鹃红山茶愈伤组织诱导的影响,探索提高杜鹃红山茶愈伤组织诱导效果的技术方法,旨在为杜鹃红山茶组织培养提供理论依据,以期为其他同类型林木组织培养技术的研究提供经验和借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验地位于广西农业科学院花卉研究所组培中心。组织培养室培养温度为 $(25 \pm 2)$  °C,光照度为 3 000 lx,光照时长为 12 h/d。

### 1.2 试验材料

试验材料采自广西农业科学院花卉研发与推广中心山茶资源圃生长健壮的 8~9 年生杜鹃红山茶植株,以成熟叶片、成熟叶片的叶柄、花瓣(选择花苞,剥去外部受损花瓣,采用由外至内第 3~4 层花瓣)3 种材料作为外植体。在碟子上将叶片剪成  $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$  的块状,叶柄剪成约 0.5 cm 的小段,将花瓣剪成  $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$  的块状。

### 1.3 试验方法

1.3.1 不同外植体及灭菌方式 试验于 2020 年 6 月进行,以叶片、叶柄、花瓣作为外植体材料,先用 75% 乙醇棉球擦洗外植体表面,饱和洗衣粉水洗涤,再用流水冲洗 15~20 min,在超净工作台上用 75% 的乙醇浸泡 30 s,无菌水冲洗 3 次后,进行灭菌处理,灭菌剂采用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  (氯化汞)或 10%  $\text{NaClO}$  (次氯酸钠),0.1%  $\text{HgCl}_2$  设置 5、7、10 min 3 个灭菌时间,10%  $\text{NaClO}$  设置 10、15、20 min 3 个灭菌时间,共 6 个灭菌处理,灭菌处理后用无菌水清洗 5~6 次。处理完成接种于  $\text{MS} + 6 - \text{BA}(1.0 \text{ mg/L}) + \text{NAA}(1.0 \text{ mg/L})$  培养基中,各处理接种 15 瓶,每瓶 3 个外植体,重复 3 次。培养 50 d 后统计外植体愈伤诱导率及污染率。

1.3.2 不同外植体及培养基 试验于 2020 年 6 月进行,以叶片、花瓣作为外植体材料,先用 75% 乙醇棉球擦洗表面,饱和洗衣粉水洗涤,再用流水冲洗 15~20 min,在超净工作台上用 75% 的乙醇浸泡 30 s,无菌水冲洗 3 次后,转入 0.1%  $\text{HgCl}_2$  中浸泡 5 min,无菌水冲洗 5~6 次。在碟子上将叶柄剪成约 0.5 cm 的小段,叶片剪成  $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$  的块状,花瓣除去最外层后,将花瓣剪成  $0.5 \text{ cm} \times$

0.5 cm 的块状,分别接入 MS 培养基(青岛海博)、B5 培养基(青岛海博)、WPM 培养基(青岛海博)及 SH 培养基(北京酷来博)中,每种培养基均添加  $1.0 \text{ mg/L } 6 - \text{BA} + 0.2 \text{ mg/L } \text{NAA}$ 。各处理接种 15 瓶,每瓶 3 个外植体,重复 3 次。培养 50 d 后统计外植体愈伤诱导率及褐化率。

1.3.3 不同激素处理 试验于 2020 年 6 月进行,以叶片作为外植体材料,按“1.3.2”节的方法灭菌,诱导培养基以 MS 为基本成分,添加 3% 蔗糖、0.4% 琼脂,同时添加不同种类和浓度的激素,采用  $L_9(3^4)$  正交设计方案(表 1),设置 6 - BA 浓度、NAA 浓度及  $\text{GA}_3$  浓度等 3 个因素,每个因素分别设 3 个水平,共 9 个激素组合处理,pH 值 5.8。各激素组合接种 10 瓶,每瓶 2 个外植体,重复 3 次。培养 50 d 后统计外植体愈伤诱导率。

表 1 不同激素处理  $L_9(3^4)$  正交试验因素水平

水平	激素浓度(mg/L)			空列
	A:6-BA	B:NAA	C:GA <sub>3</sub>	
1	1	0.5	0.2	—
2	2	1.0	0.4	—
3	3	1.5	0.6	—

1.3.4 活性炭防褐化试验 试验于 2020 年 6 月进行,以叶片、叶柄、花瓣作为外植体材料,按“1.3.2”节的方法灭菌,接入不同浓度处理的培养基中。培养基为  $\text{MS} + 6 - \text{BA}(1.0 \text{ mg/L}) + \text{NAA}(1.0 \text{ mg/L})$  诱导培养基,培养基中添加活性炭浓度设置 4 个水平,即 0、0.4、0.6、1.2 g/L。每种处理接种 15 瓶,每瓶 3 个外植体,重复 3 次。培养 50 d 后统计愈伤诱导率和褐化率。

### 1.4 统计分析

采用 Excel 2010 软件进行数据统计,采用 SPSS 21.0 软件进行方差分析和显著性检验(Duncan's 新复极差法)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同外植体及灭菌方式对愈伤组织诱导的影响

不同外植体及灭菌方式对杜鹃红山茶愈伤组织诱导率及污染率的影响见表 2,不同处理间杜鹃红山茶外植体愈伤诱导率及褐化率的差异均达到了显著水平。选择叶片作为外植体,采用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  灭菌 5 min,外植体诱导愈伤诱导率最高,达 48.89%,与选择叶片作为外植体的其他处理以及 T13、T14、T16 相比差异不显著( $P > 0.05$ ),但显著

高于其他处理。选择叶片作为外植体,在相同的灭菌方式下,其愈伤诱导率均明显高于采用叶柄和花瓣作为外植体。选择叶柄作为外植体,采用 10% NaClO 灭菌 10 min,外植体褐化率最高,达 61.90%,

与选择叶柄作为外植体的其他处理以及 T4 相比差异不显著( $P > 0.05$ ),但显著高于其他处理。选择叶柄作为外植体,在相同的灭菌方式下,其褐化率均明显高于采用叶片和花瓣作为外植体。

表 2 不同外植体及灭菌方式对杜鹃红山茶愈伤组织诱导的影响

处理号	外植体	灭菌方式			愈伤诱导率 (%)	褐化率 (%)
		药剂种类	浓度 (%)	时间 (min)		
T1	叶片	HgCl <sub>2</sub>	0.1	5	48.89 ± 20.37a	29.52 ± 10.03cdefg
T2	叶片	HgCl <sub>2</sub>	0.1	7	35.56 ± 3.85abc	27.30 ± 6.76cdefg
T3	叶片	HgCl <sub>2</sub>	0.1	10	32.96 ± 6.12abc	18.89 ± 1.92defg
T4	叶片	NaClO	10.0	10	43.70 ± 16.68a	36.67 ± 15.28abcde
T5	叶片	NaClO	10.0	15	37.04 ± 11.56abc	31.75 ± 16.89bcdef
T6	叶片	NaClO	10.0	20	38.89 ± 14.7ab	24.60 ± 6.87cdefg
T7	叶柄	HgCl <sub>2</sub>	0.1	5	0 ± 0f	57.14 ± 14.29ab
T8	叶柄	HgCl <sub>2</sub>	0.1	7	1.59 ± 2.75f	47.62 ± 21.82abc
T9	叶柄	HgCl <sub>2</sub>	0.1	10	11.11 ± 10.18def	39.05 ± 18.59abcd
T10	叶柄	NaClO	10.0	10	0 ± 0f	61.90 ± 8.25a
T11	叶柄	NaClO	10.0	15	6.30 ± 6.7def	57.14 ± 24.74ab
T12	叶柄	NaClO	10.0	20	5.56 ± 5.56ef	48.15 ± 7.83abc
T13	花瓣	HgCl <sub>2</sub>	0.1	5	35.19 ± 8.49abc	12.22 ± 10.72efg
T14	花瓣	HgCl <sub>2</sub>	0.1	7	31.11 ± 10.18abc	6.67 ± 11.55fg
T15	花瓣	HgCl <sub>2</sub>	0.1	10	24.07 ± 3.21bcd	5.56 ± 9.62g
T16	花瓣	NaClO	10.0	10	33.33 ± 9.62abc	33.33 ± 16.67bcde
T17	花瓣	NaClO	10.0	15	22.22 ± 13.88bcde	28.89 ± 7.70cdefg
T18	花瓣	NaClO	10.0	20	18.52 ± 3.21cdef	25.40 ± 9.91cdefg

注:数据为平均值 ± 标准误,同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )。表 3、表 4、表 6 同。

## 2.2 不同外植体及培养基对愈伤组织诱导的影响

不同外植体及培养基对杜鹃红山茶愈伤组织诱导率及褐化率的影响见表 3,不同处理间杜鹃红山茶外植体愈伤诱导率及褐化率的差异均达到了显著水平( $P < 0.05$ )。各处理中,选择叶片作为外植体,接种于 MS 培养基上,愈伤诱导率最高,达 42.12%,愈伤诱导率显著高于接种于其他培养基上的叶片,但与花瓣接种于 MS、B5 及 SH 培养基相比差异不显著。选择叶片作为外植体,接种于 B5 培养基上,外植体褐化率最高,达 68.75%,显著高于其他处理,其他处理间褐化率差异不显著,褐化率最低的处理为 T3,即选择叶片作为外植体,接种于 WPM 培养基上,褐化率为 31.67%。

## 2.3 不同激素处理对愈伤组织诱导的影响

从表 4 可以看出,愈伤诱导率最高的处理为激素组合 3,即 1 mg/L 6-BA + 1.5 mg/L NAA + 0.6 mg/L GA<sub>3</sub>,发芽率达 61.67%,与组合 5 相比愈伤诱导率差异不显著,显著高于其他处理组合( $P < 0.05$ )。

表 3 不同外植体及培养基对杜鹃红山茶愈伤组织诱导的影响

处理号	外植体	培养基	愈伤诱导率 (%)	褐化率 (%)
T1	叶片	MS	42.12 ± 15.81a	35.45 ± 5.06b
T2	叶片	B5	18.75 ± 6.25cd	68.75 ± 12.50a
T3	叶片	WPM	21.67 ± 7.64bcd	31.67 ± 10.41b
T4	叶片	SH	13.33 ± 5.77d	44.85 ± 8.40b
T5	花瓣	MS	37.62 ± 6.75ab	37.78 ± 6.31b
T6	花瓣	B5	34.44 ± 10.05abc	42.86 ± 19.44b
T7	花瓣	WPM	18.45 ± 3.64cd	32.14 ± 14.28b
T8	花瓣	SH	27.73 ± 11.16abcd	40.48 ± 10.91b

方差分析(表 5)表明,6-BA 浓度与 GA<sub>3</sub> 浓度对杜鹃红山茶叶片愈伤诱导率的影响达到显著水平( $P < 0.05$ )。从图 1 可以看出,随着 6-BA 浓度的增加,愈伤诱导率呈逐渐降低的趋势;随着 GA<sub>3</sub> 浓度的增加,愈伤诱导率呈逐渐升高的趋势。NAA 浓度对杜鹃红山茶愈伤诱导率的影响不显著( $P > 0.05$ ),但较高浓度的 NAA 可提高叶片愈伤诱导率。极差分析结果表明,本试验设置的 3 个因素对发芽

表 4 不同激素处理对杜鹃红山茶愈伤诱导率的影响

处理号	A:6-BA (mg/L)	B:NAA (mg/L)	C:GA <sub>3</sub> (mg/L)	愈伤诱导率 (%)
T1	1	0.5	0.2	46.67 ± 12.58bc
T2	1	1.0	0.4	48.33 ± 11.55bc
T3	1	1.5	0.6	61.67 ± 2.89a
T4	2	0.5	0.4	43.33 ± 2.89c
T5	2	1.0	0.6	58.33 ± 7.64ab
T6	2	1.5	0.2	46.67 ± 5.77bc
T7	3	0.5	0.6	46.67 ± 2.89bc
T8	3	1.0	0.2	23.33 ± 5.77d
T9	3	1.5	0.4	38.33 ± 5.77c
k <sub>1</sub>	52.22a	45.56a	38.89b	
k <sub>2</sub>	49.44a	43.33a	43.33b	
k <sub>3</sub>	36.11b	48.89a	55.56a	
极差	16.11	5.56	16.67	
较优因子	A <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>3</sub>	

表 5 不同激素处理对杜鹃红山茶愈伤诱导率方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
6-BA	1 335.185 2	2	667.592 6	14.137 3	0.000 2*
NAA	140.740 7	2	70.370 4	1.490 2	0.251 8
GA <sub>3</sub>	1 340.740 7	2	670.370 4	14.196 1	0.000 2*
误差	850.000 0	18	47.222 2		
总和	3 901.851 9				

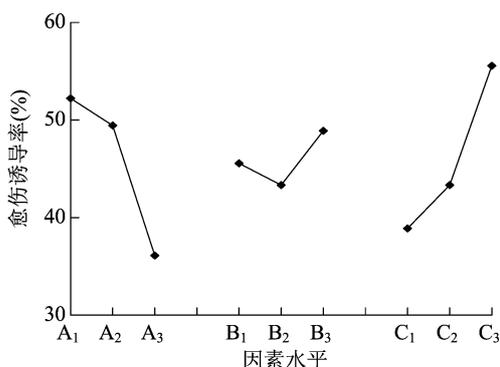


图 1 不同激素处理因素水平与杜鹃红山茶愈伤诱导率关系趋势

率的影响由大到小排列为 GA<sub>3</sub> 浓度 > 6-BA 浓度 > IAA 浓度,就愈伤诱导率而言 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub> 组合为最佳组合,即采用添加了 1 mg/L 6-BA + 1.5 mg/L NAA + 0.6 mg/L GA<sub>3</sub> 的 MS 培养基诱导愈伤组织效果最佳,该组合与实际观测的最优组合(处理组合 3)一致。

#### 2.4 活性炭对愈伤组织诱导及防褐化的影响

不同活性炭浓度对杜鹃红山茶愈伤组织诱导率及褐化率的影响见表 6,不同处理间杜鹃红山茶

外植体愈伤诱导率及褐化率的差异不显著。选择叶片作为外植体,添加活性炭浓度为 1.2 g/L 时,愈伤诱导率最高且褐化率最低,分别为 40.39%、20.56%,但愈伤诱导率和褐化率与其他处理相比差异不显著。选择叶片或花瓣作为外植体,随着添加活性炭浓度的增加,外植体褐化率均呈逐渐降低的趋势。

表 6 活性炭对杜鹃红山茶愈伤组织诱导率及褐化率的影响

处理号	外植体	活性炭浓度 (g/L)	愈伤诱导率 (%)	褐化率 (%)
T1	叶片	0	37.78 ± 10.72a	37.78 ± 20.37a
T2	叶片	0.4	39.44 ± 11.10a	31.55 ± 5.15a
T3	叶片	0.8	37.80 ± 4.03a	21.75 ± 6.14a
T4	叶片	1.2	40.39 ± 6.70a	20.56 ± 4.19a
T5	花瓣	0	34.04 ± 6.05a	33.33 ± 11.55a
T6	花瓣	0.4	35.56 ± 15.40a	28.69 ± 8.75a
T7	花瓣	0.8	32.78 ± 12.06a	26.19 ± 5.41a
T8	花瓣	1.2	34.29 ± 8.14a	25.46 ± 10.79a

### 3 讨论与结论

外植体类型会影响愈伤的诱导<sup>[10]</sup>,同种植物不同部位的组织,其再生能力存在较大差别,因此对外植体的筛选也是组织培养中的关键技术。本试验中,选择杜鹃红山茶叶片和花瓣作为外植体,在相同的灭菌方式下,其愈伤诱导率均高于叶柄,褐化率均低于叶柄,这可能是由于叶柄基部抱茎,夹带有较多杂菌,且外形不规整,不易被消毒清洗彻底,结合实际观察,叶柄作为外植体接种后褐化率较高,导致其难以形成愈伤组织。同时,考虑组织培养生产的无菌叶片数量上要多于叶柄及花瓣,因此,叶片更适合作为外植体加以使用。本试验中,随着灭菌剂灭菌时间的延长,叶片及花瓣的愈伤诱导率及褐化率均逐渐降低,这可能是由于消毒时间适当延长可以降低污染,但是会伤害到外植体组织,导致外植体死亡率升高<sup>[11]</sup>。结合实际观察,选择叶片作为外植体,采用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 灭菌 5 min,出现愈伤组织时间较快,最有利于愈伤组织诱导。

本研究表明,培养基的种类对愈伤组织的诱导率及愈伤组织的质量存在显著影响,这与不同培养基的组成差异较大,对杜鹃红山茶外植体细胞的生长产生了不同的影响有关<sup>[12]</sup>。本试验中,叶片外植体接种于 MS 培养基的愈伤诱导率最高,叶片及花瓣外植体接种于 MS 培养基的愈伤诱导率均高于接

种于其他 3 种培养基。结合实际观察,就叶片而言,接种于 MS 培养基较其他培养基形成愈伤组织快,数量多,质地均匀致密,为黄绿色,愈伤组织质量较好,生长能力更强,更接近与胚性愈伤组织,说明 MS 培养基能充分提供杜鹃红山茶愈伤组织诱导及生长所需养分,是最适合杜鹃红山茶愈伤组织诱导的基本培养基。

植物激素是植物愈伤组织诱导分化的关键性因素<sup>[13]</sup>,外源激素起着传递遗传物质的脱分化、再分化等发育信号的作用<sup>[14]</sup>,激素种类及浓度是影响胚性愈伤组织诱导的关键因子之一<sup>[15-16]</sup>,本试验选择的 3 种激素中,6-BA 浓度与 GA<sub>3</sub> 浓度对杜鹃红山茶叶片愈伤诱导率影响显著,NAA 浓度对杜鹃红山茶愈伤诱导率的影响不显著;随着 6-BA 浓度的增加,愈伤诱导率呈逐渐降低的趋势,随着 GA<sub>3</sub> 浓度的增加,愈伤诱导率呈逐渐升高的趋势。可以认为杜鹃红山茶外植体在诱导愈伤组织阶段对 6-BA 浓度与 GA<sub>3</sub> 浓度反应敏感,外植体要求较低的 6-BA 浓度水平及较高的 GA<sub>3</sub> 浓度水平。试验通过多重比较得出理论上最佳组合为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>,与实际观测的最优组合一致,在今后的试验中可以以这一组合为参考,在此基础上进一步调整细化 6-BA 及 GA<sub>3</sub> 的配比,以达到更为理想的愈伤组织诱导效果。

山茶科植物中酚类物质含量较高<sup>[17]</sup>,当酚类化合物含量高时,木质素、单宁或色素形成就多,酚类物质易经氧化形成醌类物质,导致褐变的发生<sup>[18]</sup>,褐化现象是制约愈伤组织生长、增殖和分化的主要因素<sup>[19]</sup>。在培养基中添加适宜浓度的防褐化剂可有效地抑制褐化<sup>[20]</sup>。本试验中,随着添加活性炭浓度的增加,外植体褐化率呈逐渐降低的趋势,与吕宗友等的研究结果<sup>[21-22]</sup>一致,说明在培养基中添加适宜浓度活性炭对外植体褐化有较好的控制效果,且能有效提高愈伤诱导率,这可能是采用活性炭等酚类吸收剂从根源上阻断了褐化这一系列化学反应,本试验中添加活性炭浓度为 1.2 g/L 时,叶片和花瓣外植体褐化率最低且愈伤诱导率处于最高水平,是最为适合的活性炭添加浓度。

杜鹃红山茶愈伤组织诱导宜选择叶片作为外植体。就叶片外植体而言,采用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 灭菌 5 min 灭菌效果最佳;接种于 MS 培养基上形成愈伤组织快,愈伤组织质量好;在 MS 培养基中添加低浓度的 6-BA 及高浓度的 GA<sub>3</sub> 有利于提高愈伤诱导率,添加 1.2 g/L 活性炭,能有效防止外植体褐化。

#### 参考文献:

- [1] 李先民,刘新亮,李春牛,等. 不同光照条件下杜鹃红山茶幼苗的生长效应及抗氧化生理响应[J]. 热带作物学报,2019,40(4): 688-692.
- [2] 罗晓莹,唐光大,莫罗坚,等. 杜鹃红山茶的传粉生物学[J]. 生态学杂志,2011,30(3):552-557.
- [3] 李先民,蒋月喜,李春牛,等. 杜鹃红山茶无土栽培基质的筛选[J]. 江苏农业科学,2017,45(20):147-151.
- [4] 李先民,李春牛,刘新亮,等. 遮阴对杜鹃红山茶幼苗叶片生长特性及初生代谢的影响[J]. 西北植物学报,2019,39(2):294-301.
- [5] 李辛雷,孙振元,李纪元,等. 杜鹃红山茶花芽分化及其代谢产物的变化[J]. 林业科学,2012,48(8):81-86.
- [6] 李先民,李春牛,卜朝阳,等. 基质、促根剂及插穗对杜鹃红山茶扦插生根的影响[J]. 西南农业学报,2017,30(2):426-431.
- [7] 黄展文,卢家仕,卜朝阳,等. 杜鹃红山茶砧木嫁接苗成活率及生长特性研究[J]. 中国农学通报,2021,37(10):54-59.
- [8] 李先民,卜朝阳,卢家仕,等. 4 种处理对杜鹃红山茶种子萌发的影响[J]. 西部林业科学,2020,49(2):75-81.
- [9] 梁一池,杨华. 植物组织培养技术的研究进展[J]. 福建林学院学报,2002,22(1):93-96.
- [10] 黄烈健,王鸿. 林木植物组织培养及存在问题的研究进展[J]. 林业科学研究,2016,29(3):464-471.
- [11] 饶宝蓉. 杉木苗组织培养外植体的选择及其消毒方法[J]. 热带农业科学,2019,39(8):53-56.
- [12] 张文泉,邓洁,罗国涛,等. 青钱柳组织培养研究[J]. 中南林业科技大学学报,2018,38(3):13-19.
- [13] 叶兴国,王连铮. 大豆花药愈伤组织的分化及其内源激素分析[J]. 作物学报,1997,23(5):555-561.
- [14] 唐佳佳,尚旭岚,洪香香. 黑荆树愈伤组织诱导、增殖与分化[J]. 中南林业科技大学学报,2014,34(9):38-43.
- [15] 罗君琴,徐建国,王平. 不同培养条件对柑橘胚性愈伤组织离体诱导的影响[J]. 北方园艺,2013(13):125-127.
- [16] 李海霞,谢久凤,孙金花. 玉米幼胚胚性愈伤组织诱导和继代研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(7):74-77.
- [17] 胡莹,杨柳青. 山茶科植物组织培养研究进展[J]. 江苏农业科学,2008,36(2):6-9.
- [18] 冯莹,钱莲文,林庆良. 不同激素对青钱柳外植体和愈伤组织褐化的影响[J]. 植物学报,2019,54(5):634-641.
- [19] 代小梅,孙振元,韩蕾. 草地早熟禾愈伤组织诱导及柠檬酸对其褐化的抑制效应[J]. 核农学报,2015,29(2):270-277.
- [20] 冯莎莎,范翠丽,郑志新,等. 金莲花愈伤组织诱导与分化[J]. 北方园艺,2021(4):107-112.
- [21] 吕宗友,苏衍菁,赵国琦,等. 不同防褐化措施对苏丹草愈伤诱导以及抗褐化的效果研究[J]. 草业学报,2011,20(3):174-181.
- [22] 蔡月琴,王艳平,陆奎盾,等. 紫山药愈伤组织的诱导及其分化[J]. 福建农业学报,2017,32(12):1320-1326.