

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2019.02.010

## 油樟组织培养技术研究

李佳蔓, 黄振, 杨汉波, 陈炙, 邢文曦, 靳伟, 郭洪英\*

(四川省林业科学研究院, 四川 成都 610081)

**摘要:**以当年生油樟枝条为研究对象,探索了消毒剂种类、浓度及其作用时间、MS培养基、6-BA、NAA、IBA等5种因素对油樟茎段组织培养的影响,分析筛选出了一套能够产出具有优良素质油樟种苗的组织培养技术。结果表明:油樟茎段经10% 84处理15min或15% 84处理10min两种方法进行消毒均能获得污染率<15%,且成活率>70%的无菌外植体;适合不定芽诱导的培养基为:蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +卡拉胶 $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;适合不定芽增殖继代的培养基:蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +卡拉胶 $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;生根培养基:蔗糖 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +卡拉胶 $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +1/2MS+IBA $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**关键词:**油樟;组织培养;培养基;外源激素

中图分类号:S723.1+32.6 文献标识码:A 文章编号:1003-5508(2019)02-0042-06

## A Study of Tissue Culture of *Cinnamomum longepaniculatum*

LI Jia-man HUANG Zhen YANG Han-bo CHEN Zhi XING Wen-xi

JIN Wei GUO Hong-ying

(Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610081, China)

**Abstract:** The tissue culture technique was selected for *Cinnamomum longepaniculatum* to breed excellent nursery stock, by analyzing and comparing the influence of disinfectant varieties, concentration and action time, MS medium, 6-BA, NAA and IBA on tissue culture of annual shoots. The results showed that contamination rates were no higher than 15% and survival rates were higher than 70%, under 10% of 84 disinfectant treatment for 15min, or 15% of 84 disinfectant treatment for 10 min. The optimum medium for adventitious bud regeneration was sucrose  $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  + carrageenan  $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  + MS + 6-BA  $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  + IBA  $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; The medium for multiplication of adventitious buds was sucrose  $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  + carrageenan  $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  + MS + 6-BA  $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  + NAA  $0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  + IBA  $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; The rooting medium was sucrose  $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  + carrageenan  $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  + 1/2MS + IBA  $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  + NAA  $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

**Key words:** *C. longepaniculatum* N. Chao ex H. W. Li, Tissue culture, Culture medium, Exogenous hormone

油樟 (*Cinnamomum longepaniculatum* (Gamble) N. Chao ex H. W. Li) 属樟科樟属的多年生常绿乔

收稿日期:2018-12-10

基金项目:油樟组培快繁技术研究(2018CZZX27);森林和湿地生态恢复与保育四川重点实验室资助项目

作者简介:李佳蔓(1989-),女,实习研究员,硕士,主要从事林木遗传育种、林木组织培养研究,e-mail:337657726@qq.com。

\*通讯作者:郭洪英(1973-),女,研究员,博士,主要从事林木育种、林木组织培养研究,e-mail:ghy0607@163.com。

木,其叶、枝、干、树兜均富含油樟油,油樟油主要用于医药、化工、香料等工业,是重要的国防、轻工、医药等方面的稀有原料,国际市场需求量大,供不应求,因此油樟又是一种重要的经济树种<sup>[1-6]</sup>。

四川宜宾盛产油樟,我国 70% 的油樟产量来自宜宾,占世界总产量的三分之一,因此宜宾有“天然油樟植物园”的美誉<sup>[5]</sup>。21 世纪初,顺应西部大开发的形式和退耕还林工程,宜宾县的油樟种植面积有明显的扩张,但由于其用途广泛,使用价值高,市场需求量大,部分樟农对油樟叶进行掠夺式采摘,甚至砍树挖兜提炼黄油,使得优良母树资源被严重破坏,优良种子缺乏,因此,对油樟的优良种质资源进行保护已迫在眉睫<sup>[2,7]</sup>。植物组织培养能够繁殖出与亲本基因型完全相同的子代,这对于珍稀优良品种资源保存的意义非同寻常<sup>[8-9]</sup>。要建立油樟组培无性系需涉及外植体的选择、消毒、不定芽诱导、增殖和生根等诸多环节。本文以当年生油樟茎段为研究对象,探索油樟组织培养过程中各阶段适宜的培养方案,为建立稳定、高效、重复性好的油樟组织培养体系提供理论依据,为油樟优良种质资源的保存开辟途径。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

试验材料为油樟成年优树基部萌发当年生枝条,取至宜宾县隆兴国有林场。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 取样

于晴朗上午露水干后,采取健壮、半木质化程度的当年生基部萌条,用洁净保鲜膜包裹好,置于放有冰袋的保温盒,迅速带回实验室。

#### 1.2.2 预处理

取回的枝条于叶柄处剪去叶片(不伤及不定芽),流水冲洗 2h,洗洁精溶液泡洗 3 min,期间用细毛刷刷轻轻刷洗表面,流水冲净残留,吸水纸吸干表面水分。

#### 1.2.3 外植体消毒

设置不同消毒液浓度和不同消毒时间对油樟茎段进行表面消毒(见表 1),消毒后迅速用无菌水泡洗 8 次,1 次 30 s,期间适度震荡。随后无菌吸水纸吸干表面水分,接种入附加有 6-BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>、

NAA 0.01 mg · L<sup>-1</sup>、蔗糖 30.0 g · L<sup>-1</sup>、卡拉胶 6.0 g · L<sup>-1</sup> 的 MS 培养基中培养 7 ~ 14 d,期间统计污染情况。每个处理接种 10 瓶,单瓶单株,试验重复 3 次。

表 1 油樟外植体消毒方案

Tab. 1 Sterilization of explants of *C. longepaniculatum*

处理号	处理方法	处理号	处理方法
1	0.1% HgCl <sub>2</sub> 处理 3 min	9	10% 84 处理 5 min
2	0.1% HgCl <sub>2</sub> 处理 5 min	10	10% 84 处理 10 min
3	0.1% HgCl <sub>2</sub> 处理 7 min	11	10% 84 处理 15 min
4	0.1% HgCl <sub>2</sub> 处理 9 min	12	10% 84 处理 20 min
5	0.2% HgCl <sub>2</sub> 处理 3 min	13	15% 84 处理 5 min
6	0.2% HgCl <sub>2</sub> 处理 5 min	14	15% 84 处理 10 min
7	0.2% HgCl <sub>2</sub> 处理 7 min	15	15% 84 处理 15 min
8	0.2% HgCl <sub>2</sub> 处理 9 min	16	15% 84 处理 20 min

#### 1.2.4 不定芽诱导

将消毒后未污染的带芽茎段转接于附加有 6-BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>(处理 1)、IBA 0.1 mg · L<sup>-1</sup>(处理 2)、6-BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup> + IBA 0.1 mg · L<sup>-1</sup>(处理 3)和 6-BA 1.0 mg · L<sup>-1</sup> + IBA 0.1 mg · L<sup>-1</sup>(处理 4)4 种培养基中,培养 30 d,统计不定芽诱导情况。每个处理 5 瓶,每瓶 3 株,试验重复 3 次。

#### 1.2.5 不定芽增殖

将初代诱导培养基中获得的无菌不定芽剪成带 1 ~ 2 个侧芽的茎段,接种于含有 6-BA、NAA、IBA 不同浓度配比的基本培养基中。6-BA 浓度分别为 0.5 mg · L<sup>-1</sup>、1.0 mg · L<sup>-1</sup>、1.5 mg · L<sup>-1</sup>,NAA 浓度分别为 0.05 mg · L<sup>-1</sup>、0.1 mg · L<sup>-1</sup>、0.15 mg · L<sup>-1</sup>,IBA 浓度分别为 0.1 mg · L<sup>-1</sup>、0.15 mg · L<sup>-1</sup>、0.2 mg · L<sup>-1</sup>,采用 L<sub>9</sub>(3)<sup>4</sup> 试验设计,用以筛选较佳的油樟增殖培养基配方。30 d 继代 1 次,记录增殖芽数,计算增值倍数。试验共设 9 个处理,每个处理 5 瓶,每瓶 3 株,试验重复 3 次。

#### 1.2.6 生根

以 1/2MS 培养基为基本培养基,添加蔗糖 15.0 g · L<sup>-1</sup>,不同浓度配比的 IBA 和 NAA,IBA 浓度分别为 1.0、1.5、2.5 mg · L<sup>-1</sup>,NAA 浓度分别为 0.5 mg · L<sup>-1</sup>、1.0 mg · L<sup>-1</sup>、1.5 mg · L<sup>-1</sup>,采用 L<sub>9</sub>(3)<sup>4</sup> 试验设计,以期筛选出较佳的油樟生根培养基。选取生长健壮且大于 2.0 cm 的单株不定芽接种于生根培养基中,20 d 后统计生根率及根系长势。试验共设 9 个处理,每个处理 5 瓶,每瓶 3 株,试验重复 3 次。

#### 1.2.7 培养基质和培养条件

如无特殊说明,上述所有基本培养基均为 MS 基本培养基,附加卡拉胶浓度 6.0 g · L<sup>-1</sup>用以固化,蔗糖浓度 30.0 g · L<sup>-1</sup>,pH = 5.8 ~ 6.0;室内培养温

度 25℃ 左右;光照强度 1 500 Lx ~ 2 000 Lx,光照周期 12 h · d<sup>-1</sup>。

### 1.3 统计计算

所得数据采用 Excel 2015 进行整理,SPSS21.0 软件进行处理分析,Origin 8.5 进行作图。

污染率(%) = (污染的外植体数/接种外植体总数) × 100%;

消毒后存活率(%) = [(接种外植体总数 - 污染数 - 死亡数)/接种外植体总数] × 100%;

诱导率(%) = (萌芽外植体数/接种外植体总数) × 100%;

出芽指数 = 萌芽总数/萌芽外植体总数;

生根率(%) = (生根幼苗数/接种芽苗总数) × 100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体消毒

分别以 HgCl<sub>2</sub> 和 84 两种消毒剂对外植体进行

表面消毒,结果表明(见图 1):同种类型且相同浓度的消毒剂处理,随着消毒时间的增加,油樟茎段污染率表现出逐渐降低趋势,当消毒时间延长时,茎尖因被消毒剂杀伤导致的消毒后存活率也逐渐降低,如经处理 3 消毒后茎段污染率为 13.33%,消毒后存活率达 76.67%,而经处理 4 消毒后茎段污染率虽降至 6.67%,但存活率也降至 40.00%,茎段经处理 11 消毒后污染率为 16.67%,存活率为 73.33%,经处理 12 消毒后污染率降至 6.67%,存活率也降为 33.33%,部分未污染茎段由于消毒过度致死;分析图 1-A 和图 1-B、图 1-C 和图 1-D 可知,同种类型不同浓度消毒剂处理茎段,在一定时间范围内,处理相同时间,高浓度消毒剂消毒效果更好,如经处理 2 消毒后茎段污染率为 36.67%,存活率为 53.33%,而经处理 6 消毒后茎段的污染率降到 20.00%,成活率达 73.33%,处理 10 和处理 14 消毒后,茎段污染率分别为 36.67% 和 13.33%,而消毒后存活率分别为 53.33% 和 73.33%。综上,对油樟茎段消毒效果较好的有处理 11 和 14 两种方法。

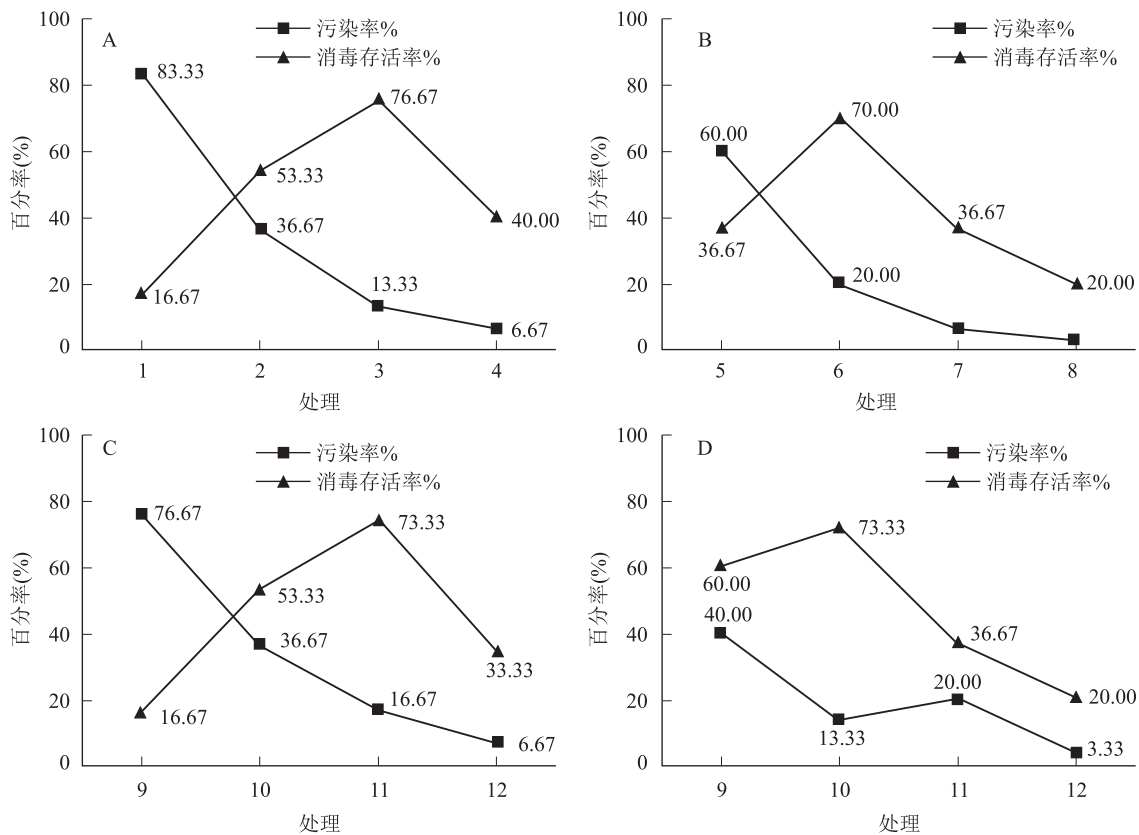


图 1 外植体消毒结果

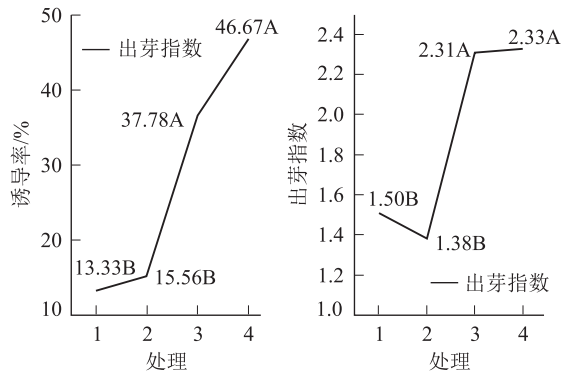
Fig.1 The sterilization result of explants

### 2.2 不定芽诱导培养

不定芽诱导试验结果见图 2。结果表明:单独

添加 6-BA 或者 IBA,油樟不定芽诱导率并不高,仅为 13.33% 和 15.56%,同时,出芽指数也较低(1.50

和 1.38),而当 6-BA 和 IBA 两种激素配合使用,不定芽诱导率和出芽指数均显著提高,极显著高于单独添加一种激素( $P < 0.01$ );处理 3 和 4 表明,6-BA 和 IBA 配合使用时,IBA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  保持不变,随着 6-BA 浓度的增加,不定芽诱导率显著提升,当 6-BA 浓度为  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,诱导率达 46.7%,但两个处理的出芽指数并未随 6-BA 升高表现出差异显著性。因此,处理 4 为较理想的油樟茎段不定芽诱导培养基。



注:图中大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ )

图 2 不同处理对不定芽诱导的影响

Fig. 2 Effects of different treatments on adventitious buds

### 2.3 不定芽增殖培养

继代培养是植物组织培养苗木生产的主要程序,一般情况下 25 ~ 30 d 继代 1 次,苗木生产数量与代数间呈倍数增长。 $L_9(3)^4$  实验结果表明(见表 2):对油樟不定芽增殖倍数影响最大的外源激素类型为 6-BA,其次是 NAA,IBA 在油樟不定芽增殖过程中的影响最小;单因素方差分析表明,增殖倍数在不同 6-BA 浓度下差异极显著( $P \approx 0.002$ ),在不同浓度 NAA 和 IBA 作用下差异不显著( $P > 0.05$ )(见表 3);极差分析得油樟不定芽最佳增殖培养基配方为: $A_3B_3C_3$ ;当 6-BA 浓度较低时( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),油樟不定芽平均增殖系数不超过 1.6,且芽细弱、偏黄;当 6-BA 浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,芽增殖系数约为 2.0,比较芽的生长状况,前者芽正绿、健壮,而后者芽细小、生长能力弱,认为 6-BA 为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时更适于有效芽获得;分析处理 3、处理 6 和处理 9 可知,高浓度的 NAA( $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 容易使芽发生愈伤,一定程度上阻碍后期生长。综上所述,选择处理 5 为油樟不定芽增殖培养为较理想的培养基配方,能够获得正绿、健壮的油樟有效不定芽,且增殖系数接近 2。

表 2 增殖培养试验设计及结果

Tab. 2 Experimental design and results of enrichment cultivation

处理	A/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 6-BA	B/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) NAA	C/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) IBA	增殖系数	不定芽生长状况
1	1(0.50)	1(0.05)	1(0.10)	1.34	偏黄、细弱
2	1	2(0.10)	2(0.15)	1.56	偏黄、细弱
3	1	3(0.15)	3(0.20)	1.57	偏黄、细弱、有愈伤
4	2(1.00)	1	2	1.91	正绿、健壮
5	2	2	3	1.99	正绿、健壮
6	2	3	1	2.02	正绿、有愈伤
7	3(1.50)	1	3	1.98	弱、细小
8	3	2	1	2.02	弱、细小
9	3	3	2	2.03	弱、细小、有愈伤
K1	4.47	5.23	5.38		
K2	5.92	5.57	5.50		
K3	6.03	5.62	5.54		
k1	1.49	1.74	1.79		
k2	1.97	1.86	1.83		
k3	2.01	1.87	1.85		
极差 R	0.52	0.13	0.06		
主次因子	A > B > C				
优水平	$A_3$	$B_3$	$C_3$	优组合:	$A_3B_3C_3$

表 3 增殖培养方差分析

Tab. 3 Variance analysis of multiplicate culture

差异源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
6-BA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	1.940	2	0.970	500.648	0.002**
NAA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.026	2	0.013	6.752	0.129
IBA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.002	2	0.001	0.560	0.641

注:\*\* 表示差异极显著,即  $P < 0.01$ 。

### 2.4 生根培养

油樟不定芽生根试验结果如下:不定芽生根率和平均根数在不同浓度 IBA 作用下差异极显著,在不同浓度 NAA 作用下差异显著(见表 5);处理 4、处理 7 和处理 8 表明,当 IBA 升高至一定浓度后,生根

率不再上升,此时配合使用适宜浓度的 NAA,能提高不定芽的生根率和生根数量;对处理 6(生根率 55.56%,比处理 5 小 2.22%)和处理 9(生根率 62.22%,比处理 8 小 2.22%)的生根率和生根数量分析表明,高浓度 NAA 使得不定芽根基部产生愈伤,基部愈伤组织对生根存在一定影响,表现为降低生根率; $L_9(3)^4$  正交实验结果显示(见表 4),对油

樟不定芽生根率和平均根数产生影响的因子主次顺序为 IBA > NAA;极差分析表明,当激素配比为  $A_3B_2$  时,油樟不定芽生根率和生根数量均较佳,此时根粗壮、白色、根数多、基部无愈伤,生长旺盛,即选择处理 8 为油樟不定芽生根较理想的培养基配方。

表 4 不同激素对比对油樟生根的影响  
Tab.4 Effects of different hormone combination on rooting culture

处理	A/(mg·L <sup>-1</sup> ) IBA	B/(mg·L <sup>-1</sup> ) NAA	平均生根率 (%)	平均根数 (条)	根系生长状况
1	1(0.50)	1(0.50)	20.00	1.32	细弱
2	1	2(1.00)	24.44	1.41	细弱
3	1	3(1.50)	26.67	1.46	细弱
4	2(1.50)	1	42.22	1.99	粗壮、白色
5	2	2	57.78	2.14	粗壮、白色
6	2	3	55.56	2.09	粗壮、白色、基部愈伤
7	3(2.50)	1	44.44	2.46	粗壮、白色
8	3	2	64.44	2.61	粗壮、白色
9	3	3	62.22	2.51	粗壮、白色、基部愈伤
平均生根率	K1	71.11	106.66		
	K2	155.56	146.66		
	K3	171.10	144.45		
	k1	23.70	35.55		
	k2	51.85	48.89		
	k3	57.03	48.15		
	极差 R	33.33	13.34		
	主次因子	A > B			
	优水平	A3	B2	优组合: A3B2	
平均根数	K1	4.19	5.77		
	K2	6.22	6.16		
	K3	7.58	6.06		
	k1	1.40	1.92		
	k2	2.07	2.05		
	k3	2.53	2.02		
	极差 R	1.13	0.13		
	主次因子	A > B			
	优水平	A3	B2	优组合: A3B2	

表 5 生根培养方差分析  
Tab.5 Variance analysis of rooting culture

生根	差异源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值
生根率	IBA/mg·L <sup>-1</sup>	1 930.144	2	965.072	56.702	0.001**
	NAA/mg·L <sup>-1</sup>	336.996	2	168.498	9.900	0.028*
生根数	IBA/mg·L <sup>-1</sup>	1.940	2	0.970	642.007	0.000**
	NAA/mg·L <sup>-1</sup>	0.027	2	0.014	9.051	0.033*

注: \*\* 表示差异极显著,即  $P < 0.01$ ; \* 表示差异显著,即  $0.01 < P < 0.05$ 。

### 3 讨论

木本植物在其组织培养过程中极易产生如污染、褐变、玻璃化、不正常变异等问题。能否有效控制外植体污染率,获得无菌外植体是植物离体培养

成功的首要技术之一,也是建立无菌优良无性系的前提<sup>[10~11]</sup>。植物组织培养最常用的外植体消毒剂为  $HgCl_2$ 、 $NaClO$  和  $Ca(ClO)_2$ <sup>[12~14]</sup>。魏琴<sup>[15]</sup>等单独用  $HgCl_2$  对油樟进行表面消毒,周锦霞<sup>[14]</sup>等认为,在油樟组织培养过程中,10%  $Ca(ClO)_2$  和 0.1%  $HgCl_2$  配合使用有利于降低油樟污染率。消毒剂浓度和作用时间的把握是消毒成功与否的关键,浓度过低或作用时间过短,消毒剂未充分接触到外植体表面,使得消毒不彻底,污染率得不到控制,而浓度过高或作用时间过长,消毒剂与外植体表面过分接触,外植体表面微生物被彻底杀死,同时也伤害到外植体本身,使得部分外植体致死。本研究中,采用 0.1%  $HgCl_2$  处理 7 min、10% 84 (84 有效成分为  $NaClO$ ,有效氯含量  $8\ 000\ mg \cdot L^{-1} \sim 10\ 500\ mg \cdot L^{-1}$ )

处理 15 min 和 15% 84 处理 10 min 3 种消毒方案也能获得污染率较低 (< 15%) 而成活数较高 (> 70%) 的油樟无菌外植体,但实验结果不及周锦霞,主要原因可能是由于本实验单独使用一种消毒剂进行表面消毒,而周锦霞采取 HgCl<sub>2</sub> 和 Ca(ClO)<sub>2</sub> 配合使用,配合使用两种或以上消毒剂消毒效果更佳<sup>[14]</sup>。

植物细胞分化和生长方向主要受激素调控,不同激素类型及其比例能有效控制植物的形态建成<sup>[16]</sup>。细胞分裂素的主要作用是引起植物细胞进行分裂,从而诱导芽的形成和促进芽的生长;而生长素主要促进植物细胞伸长和根的分化。在一定浓度范围内,细胞分裂素与生长素的比值决定着芽和根的分化。通常情况下,细胞分裂素与生长素比值在 1 左右时,促进愈伤组织的诱导和分化;当两者的比值低时,促进根的生长;两者的比值高时,则促进芽的生长<sup>[17]</sup>。本研究中,油樟无菌外植体在 MS + 6-BA 1.0 mg · L<sup>-1</sup> + IBA 0.1 mg · L<sup>-1</sup> 的培养基中诱导率达 46.7%,出芽指数 2.33,不定芽在 MS + 6-BA 1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA 0.10 mg · L<sup>-1</sup> + IBA 0.2 mg · L<sup>-1</sup> 的培养基中增殖良好,在 1/2MS + IBA 1.5 mg · L<sup>-1</sup> + NAA 1.0 mg · L<sup>-1</sup> 的生根培养基中生根效果理想。本研究实验结果基本符合激素控制植物形态建成理论。

有关油樟组织培养方面报道较少,周锦霞<sup>[14]</sup>等报道了油樟组织培养过程中污染率控制办法,认为当年生枝条污染率比两年生的低,春季采集的材料污染率比秋季的低;魏琴<sup>[18]</sup>等报道了不同因素(基本培养基、光照和几种抗生素)对油樟愈伤组织生长的影响,报道称,在 MS 培养基中添加 25 ~ 50 mg · L<sup>-1</sup> 链霉素的培养基上愈伤组织生长较好;魏琴<sup>[15]</sup>等还报道了组培条件(如透气性、激素浓度、糖浓度、琼脂浓度等)对油樟试管苗玻璃化的影响,认为封口膜的透气性与油樟苗的玻璃化关系不大,通过在培养基中适当调整蔗糖、琼脂、6-BA 的浓度,能有效地控制油樟玻璃化苗数。本研究比较系统报道了油樟从外植体采集、诱导培养、增殖培养、生根培养等植物组织培养全过程,对后期油樟组织培养工厂化育苗具有一定参考意义。

在进行植物组织培养研究过程中需注意,培养对象的状态是多种因素共同作用的结果,如外植体选择、离体器官基因型、培养基成分和环境条件及操作差异等等均有可能造成最终结果的差异,没有哪一种培养基适合于培养同一物种中的所有材料,因

此,在利用所建立的组织培养体系进行工厂化生产时,应特别注意材料选择、培养条件及材料基因型的一致性,从而确保技术体系的稳定性和可重复性<sup>[19~21]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 程必强,喻学俭,丁靖垵,等. 中国樟属植物资源及其芳香成分 [M]. 昆明:云南科技出版社,1997,34 ~ 35.
- [2] 魏琴,李群,罗扬,等. 油樟油对植物病原真菌活性的抑制作用 [J]. 中国油料作物学报,2006,28(1):63 ~ 66.
- [3] 叶奎川. 油樟叶提取物的体外抗肝癌活性及其作用机理研究 [D]. 成都:四川农业大学,2012.
- [4] 陶翠,魏琴,殷中琼,等. 油樟叶挥发油对三种真菌的抗菌效果 [J]. 中国兽医科学,2011,41(1):89 ~ 93.
- [5] 刘盼,刘燕,陈斯伟,等. 气相色谱法测定油樟油中精油的含量 [J]. 西南医科大学学报,2017,40(1):64 ~ 66.
- [6] 廖时权. 宜宾县开发天然油樟 [J]. 农村经济与科技,1995,(8):31.
- [7] 罗中杰,李维一,魏琴,等. 宜宾油樟的现状与未来 [J]. 四川师范大学学报:自然科学版,2001,24(3):317 ~ 319.
- [8] Christopher P. Wilkies, Johu H. Dobbs. 应用组织培养技术保存植物遗传资源(下) [J]. 生物学杂志,1986,14(4):16 ~ 22.
- [9] 李斌,林源,唐军荣,等. 无籽刺梨的组织培养研究 [J]. 经济林研究,2016,34(3):142 ~ 147.
- [10] 汤雪燕,赵统利,邵小斌,等. 植物组织培养的污染防治 [J]. 江苏农业科学,2014,(1):50 ~ 52.
- [11] 王曙光,丁雨龙,林树燕,等. 慈竹组织培养消毒方法筛选及丛芽诱导研究 [J]. 西部林业科学,2013,(1):38 ~ 41.
- [12] 王涌鑫,关宁,李聪. 高效的苜蓿组织培养再生体系的建立 [J]. 东北师大学报:自然科学版,2008,40(3):112 ~ 117.
- [13] 邹娜,李意,连芳青. 优良观赏药用地被植物——白芨组织培养及快速繁殖研究 [J]. 江西农业大学学报,2013,35(5):950 ~ 955.
- [14] 周锦霞,周黎军,魏琴. 油樟组织培养污染率控制试验 [J]. 宜宾学院学报,2006,(6):33 ~ 34.
- [15] 魏琴,周黎军,宣朴,等. 组培条件对油樟试管苗玻璃化的影响 [J]. 四川师范大学学报:自然科学版,2006,29(5):606 ~ 608.
- [16] 张日清,刘海龙,汪灵丹,等. 榉树组培芽继代增殖的影响因素 [J]. 经济林研究,2013,31(3):54 ~ 58.
- [17] Dhiman M, Shatma V, Moitra S. Somatic embryogenesis and plant regeneration in Ephedrafoliates (Boiss.); anonconiferous gymnosperm. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 2010, 20(2):133 ~ 143.
- [18] 魏琴,李想韵,王丽,等. 不同因素对油樟愈伤组织生长的影响 [J]. 安徽农业科学,2008,36(17):7135 ~ 7137.
- [19] 孙敬三,朱至清. 植物细胞工程实验技术 [M]. 北京:化学工业出版社,2006:28 ~ 55.
- [20] 李俊明. 植物组织培养教程 [M]. 朱登云译,北京:中国农业大学出版社,2005:39 ~ 64.
- [21] 辛亚龙,唐军荣,杨宇明,等. 牛樟组织培养技术研究 [J]. 中南林业科技大学学报,2017,37(8):48 ~ 53.