

蓝花楹组织培养与快速繁殖研究

阳莉^{1*}, 石大兴², 麦苗苗², 王米力²

(1. 内江师范学院张大千美术学院, 四川 内江 641100; 2. 四川农业大学林学院, 四川 雅安 625014)

摘要: 以蓝花楹(*Jacaranda mimosifolia* Humb. et Bonpl.)胚轴为外植体进行组织培养和快繁体系建立的研究。结果表明, 蓝花楹种子经 40℃ ~45℃ 温水浸泡后发芽率较高, 达到 55.7%。蓝花楹不定芽和愈伤组织诱导的最适培养基分别为 MS + 6-BA 2.0 mg L⁻¹ + NAA 0.1 mg L⁻¹ + 2,4-D 0.1 mg L⁻¹ 和 MS + 6-BA 0.5 mg L⁻¹ + NAA 1.0 mg L⁻¹ + 2,4-D 1.0 mg L⁻¹。不定芽和愈伤组织增殖的最适培养基分别为改良 MS 培养基 + 6-BA 0.5 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + IBA 0.5 mg L⁻¹ 和 MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + ZT 3.0 mg L⁻¹。愈伤组织分化最适培养基为 MS + BA 1.0 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + 2,4-D 0.5 mg L⁻¹。最适生根培养基为 1/2MS + 蔗糖 20 g L⁻¹ + NAA 0.1 mg L⁻¹ + 活性炭 2.0 g L⁻¹, 生根率达 78.3%。

关键词: 蓝花楹; 下胚轴; 愈伤组织; 组织培养; 快速繁殖

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2012.01.005

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Jacaranda mimosifolia*

YANG Li^{1*}, SHI Da-xing², MAI Miao-miao², WANG Mi-li²

(1. Chang Academy of Fine Arts, Neijiang Normal University, Neijiang 641100, China; 2. College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: The hypocotyls of *Jacaranda mimosifolia* used as explants, the tissue culture and rapid propagation system were studied. The results showed that the seed germination rate of *J. mimosifolia* reached up to 55.6% after warm water immersion for 60 minutes at 40℃ -45℃. The optimum mediums for induction of adventitious buds and callus were MS + 6-BA 2.0 mg L⁻¹ + NAA 0.1 mg L⁻¹ + 2,4-D 0.1 mg L⁻¹, and MS + 6-BA 0.5 mg L⁻¹ + NAA 1.0 mg L⁻¹ + 2,4-D 1.0 mg L⁻¹, respectively. The optimum mediums for proliferation of adventitious buds and callus were modified MS + 6-BA 0.5 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + IBA 0.5 mg L⁻¹, and MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + ZT 3.0 mg L⁻¹, respectively. The optimum medium for callus differentiation was MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + 2,4-D 0.5 mg L⁻¹. The optimum rooting medium was 1/2MS supplemented with 20 g L⁻¹ sugar and NAA 0.5 mg L⁻¹ and 2.0 g L⁻¹ active carbon (AC) with rooting up to 78.3%.

Key words: *Jacaranda mimosifolia*; Hypocotyls; Callus; Tissue culture; Rapid propagation

蓝花楹(*Jacaranda mimosifolia* Humb. et Bonpl.)为紫葳科(Bibnoniaceae)蓝花楹属落叶乔木^[1], 是极少的开蓝紫色花的高大观赏乔木, 观赏价值极高^[2]。蓝花楹一般采用种子和扦插繁殖, 但繁殖系数低, 种子的发芽率在 5% 左右^[3]; 扦插繁殖虽能生根, 但成苗率低^[4], 不能满足市场需求。通过组培快繁技术可在短期内获得大量基因型一致的优质苗

木, 大大加快育苗进程, 有利于进行种质资源保存, 为较好地开发利用蓝花楹这一树种开辟新的途径。

目前, 对蓝花楹组织培养的研究报道不多, 仅王红梅^[5]以实生苗茎尖为外植体进行组织培养, 但成苗率低。本文以蓝花楹下胚轴为外植体, 进行不定芽和愈伤组织诱导、增殖及生根、移栽试验, 以建立蓝花楹的快繁体系, 为更好地开发利用蓝花楹提

收稿日期: 2011-05-19 接受日期: 2011-07-28

基金项目: 森林培育学四川省重点学科建设项目(SZD0419)资助

作者简介: 阳莉, 女, 硕士, 毕业于四川农业大学, 现任职于内江师范学院

* 通讯作者 Corresponding author, email: seavow@yeah.net

供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验用蓝花楹(*Jacaranda mimosifolia* Humb.et Bonpl.)种子于2008年采自重庆市沙坪坝,采回后贮藏于-20℃冰箱内备用。

蓝花楹种子属顽拗性种子,发芽率低,播种前需进行预处理来促进萌发。采用常温清水(对照,25℃)、4℃冷水以及40℃~45℃温水预先浸种60 min后,在常温下浸种40~48 h,筛选蓝花楹种子的最佳萌发方法。浸种后对种子进行消毒处理^[6],并接种到1/2MS培养基中(大量元素减半),以萌发后的健壮下胚轴为外植体进行正交试验设计。

1.2 初代培养

将种子发芽获得的下胚轴接种于初代培养基中,分别进行不定芽和愈伤组织诱导,暗培养7 d后转入正常培养。以MS为基本培养基,设计3因素3水平正交试验。不定芽诱导培养添加6-BA (1.0、2.0、3.0 mg L⁻¹)、NAA (0.1、0.5、1.0 mg L⁻¹)和2,4-D (0.05、0.1、0.5 mg L⁻¹);愈伤组织诱导培养添加6-BA (0.5、1.0、2.0 mg L⁻¹)、NAA (0.1、0.5、1.0 mg L⁻¹)和2,4-D (0.1、0.5、1.0 mg L⁻¹)。每一处理接种20个外植体,3次重复,培养30 d后进行统计。出芽指数=外植体上出芽数的平均值;出愈率(%)=诱导出愈伤组织的外植体数/接种外植体总数×100%。

1.3 增殖培养

将诱导的不定芽和愈伤组织转入增殖培养基中。不定芽增殖培养以改良MS(NH₄NO₃减少,KNO₃增加,Fe盐加倍)为基本培养基,设计3因素4水平正交试验,添加6-BA (0.5、1.0、2.0、3.0 mg L⁻¹)、NAA (0、0.01、0.1、0.5 mg L⁻¹)和IBA (0、0.01、0.1、0.5 mg L⁻¹);愈伤组织增殖培养以MS为基本培养基,设计3因素3水平正交试验,添加6-BA (1.0、2.0、3.0 mg L⁻¹)、NAA (0.05、0.1、0.5 mg L⁻¹)和ZT (1.0、2.0、3.0 mg L⁻¹),培养30 d后进行统计。芽增殖倍数=增殖后的有效芽数/茎段上原有的腋芽数。愈伤组织增殖倍数是以最初接入直径为0.8 cm左右的愈伤组织为基数,根据其体积的增大来计算其增殖倍数,愈伤组织增殖倍数=增殖后愈伤组织体积/接种时愈伤组织体积。

培养条件若无特别说明,培养温度均为(25±2)℃,光照时间为12~14 h d⁻¹,光照强度为2500~3000 mmol m⁻² s⁻¹。所有培养基中的琼脂为6 g L⁻¹;pH为5.8~6.0;除生根培养基外,其余培养基中蔗糖均为30 g L⁻¹。

1.4 愈伤组织的分化培养

将增殖的愈伤组织转入分化培养基中,以MS为基本培养基,设计3因素3水平正交试验,添加6-BA (0.5、1.0、2.0 mg L⁻¹)、NAA (0.1、0.5、1.0 mg L⁻¹)和2,4-D (0.05、0.1、0.5 mg L⁻¹),培养50 d后进行统计。分化率(%)=已分化的愈伤组织数/接种的愈伤组织总数×100%。

1.5 壮苗培养

将不定芽进行壮苗培养,采用MS、MS+IBA (0、0.05 mg L⁻¹)、1/2MS、1/2MS+IBA (0、0.05 mg L⁻¹) 4种培养基,培养30 d后统计。

1.6 生根培养

将壮苗后苗高≥2.0 cm,芽苗健康的有效苗进行生根培养,以1/2MS为基本培养基,采用3因素3水平正交试验设计,添加蔗糖(10、20、30 g L⁻¹)、NAA (0.1、0.5、1.0 mg L⁻¹)和活性炭(1.0、2.0、3.0 mg L⁻¹),培养40 d后统计。

1.7 炼苗与移栽

选取苗高3~5 cm、根系健壮的生根瓶苗进行移栽和炼苗,打开培养瓶薄膜,在温度为20℃~30℃,相对湿度约70%的培养室散射光下遮荫炼苗3~4 d。然后取出小苗洗净根部培养基移栽入蛭石、珍珠岩和河沙混合的基质,移栽后浇1次透水,并加盖透光塑料薄膜,置于温室内。

1.8 数据分析

采用SAS 9.1.3软件对结果进行方差分析,用LSD法检验差异显著性,结果以平均值±标准差(Mean±SD)表示。

2 结果和分析

2.1 种子萌发率

以常温浸种(对照)的蓝花楹种子发芽率最低,仅为7.9%,而采用40℃~45℃温水浸种的发芽率最高,达55.7%,极显著高于对照($P<0.01$);4℃冷水浸种的发芽率为36.2%,与对照差异极显著($P<0.01$),与温水处理的差异显著($P<0.05$)。这可能是

温水浸种使种子吸水快,在短时间内吸足水分,利于发芽出苗,这与前人的结果一致^[7-9]。但温水浸种处理不当,也易使种子生活力受损。

2.2 不定芽诱导培养

将蓝花楹下胚轴剪成 1.0~1.5 cm 长,竖直接入不定芽诱导培养基中(图 1: 1)。从表 1 可见,就单一

生长调节剂而言,细胞分裂素 6-BA 以 1.0 mg L⁻¹ 的诱导效果最佳;NAA 以 0.1 mg L⁻¹ 的最佳;2,4-D 以 0.1 mg L⁻¹ 的最佳。在正交试验的 9 个处理中(表 1),以 A₄ 处理的效果最佳(图 1: 2),即培养基为 MS+6-BA 2.0 mg L⁻¹ + NAA 0.1 mg L⁻¹ + 2,4-D 0.1 mg L⁻¹。

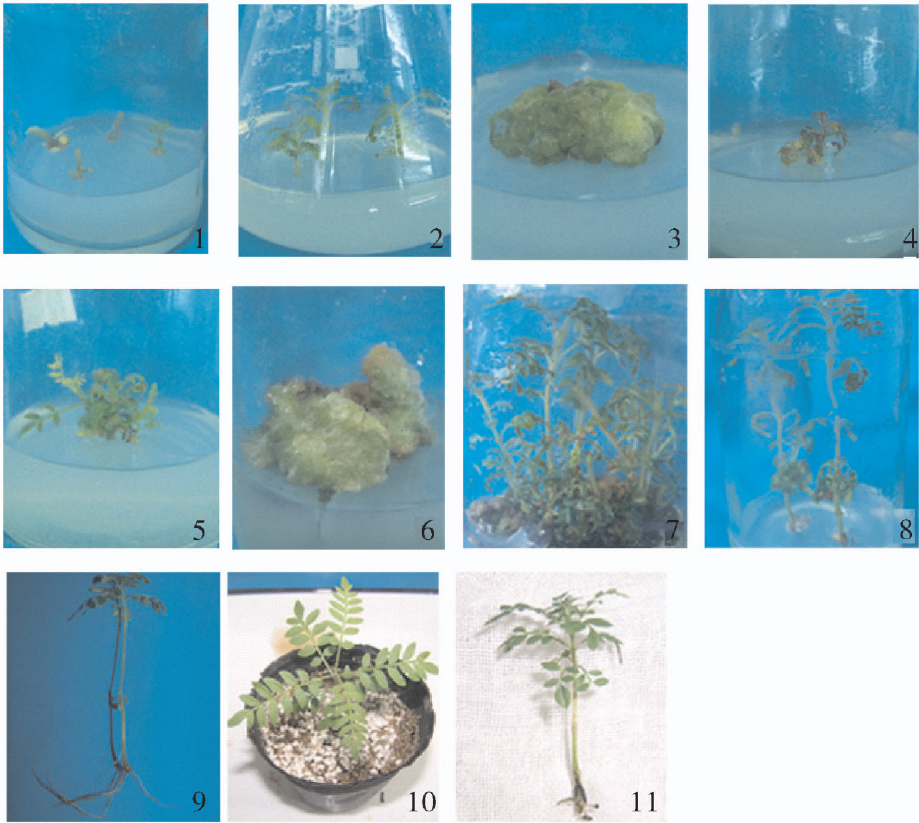


图 1 蓝花楹的组织培养和快繁体系。1. 下胚轴接种; 2. 茎段启动培养; 3. 绿色致密的愈伤组织; 4. 茎顶端褐化死亡; 5. 不定芽增殖; 6. 愈伤组织增殖; 7. 愈伤组织分化; 8. 不定芽; 9. 生根诱导; 10. 移栽; 11. 无活性炭处理的生根苗。

Fig. 1 Tissue culture and rapid propagation of *Jacaranda mimosifolia*. 1. Inoculation of hypocotyls; 2. Initial culture of stems; 3. Green, compact callus; 4. Browning death of stem top; 5. Proliferation of adventitious buds; 6. Proliferation of callus; 7. Differentiation of callus; 8. Adventitious buds; 9. Rooting; 10. Transplanted plantlet; 11. Seedling treated without AC.

表 1 生长调节剂对不定芽诱导的影响

Table 1 Effects of growth regulator on induction of adventitious buds

编号 No.	6-BA (mg L ⁻¹)	NAA (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)	诱导率 Induction rate (%)
A ₁	1.0	0.1	0.05	81.1 ± 1.89 ^{aA}
A ₂	1.0	0.5	0.1	83.2 ± 4.13 ^{abABC}
A ₃	1.0	1.0	0.5	89.1 ± 3.15 ^{aAB}
A ₄	2.0	0.1	0.1	92.3 ± 5.51 ^{bcBC}
A ₅	2.0	0.5	0.5	49.1 ± 1.53 ^{dD}
A ₆	2.0	1.0	0.05	65.3 ± 5.69 ^{cCD}
A ₇	3.0	0.1	0.5	71.3 ± 4.51 ^{bcABC}
A ₈	3.0	0.5	0.05	69.1 ± 3.00 ^{bcBC}
A ₉	3.0	1.0	0.1	71.1 ± 3.06 ^{bcABC}

2.3 下胚轴的愈伤组织诱导培养

将蓝花楹下胚轴剪成 0.5 ~1.0 cm,水平放置在愈伤组织的诱导培养基上。从表 2 可见,就单个生长调节剂而言,6-BA 以 0.5 mg L⁻¹ 的诱导最佳,NAA 以 1.0 mg L⁻¹ 的最佳,2,4-D 以 0.5 mg L⁻¹ 的最佳。正交试验的结果表明,以 MS +6-BA 0.5 mg L⁻¹ +NAA

1.0 mg L⁻¹ +2,4-D 1.0 mg L⁻¹ 组合(B₃)的诱导效果最好(图 1: 3),愈伤组织诱导率为 73.7%。2,4-D 是影响愈伤组织诱导的重要因素,适宜浓度的 2,4-D 有利于愈伤组织的诱导,但 2,4-D 的浓度过高,会产生毒害作用,可能导致遗传变异,使诱导率降低^[10]。

表2 下胚轴诱导愈伤组织
Table 2 Callus induction from hypocotyl of *Jacaranda mimosifolia*

编号 No.	6-BA (mg L ⁻¹)	NAA (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)	愈伤组织诱导率 (%) Callus induction rate	愈伤组织颜色及形态 Callus status
B ₁	0.5	0.1	0.1	21.3 ± 0.70 ^{aA}	绿褐色,致密,突起不明显 Green-brown, compacted, process not obvious
B ₂	0.5	0.5	0.5	54.4 ± 3.11 ^{bB}	绿色,致密,表面有突起 Green, compacted, process on surface
B ₃	0.5	1.0	1.0	73.7 ± 2.40 ^{cC}	绿色,致密,表面有突起 Green, compacted, process on surface
B ₄	1.0	0.1	0.5	57.5 ± 1.91 ^{bB}	白色,松软,突起不明显 White, loose, process not obvious
B ₅	1.0	0.5	1.0	44.8 ± 2.61 ^{dD}	黄绿色,松软,表面有突起 Yellow-green, spongy, process on surface
B ₆	1.0	1.0	0.1	23.5 ± 0.85 ^{aA}	绿白色,致密,突起不明显 Green-white, compacted, process not obvious
B ₇	2.0	0.1	1.0	21.5 ± 1.05 ^{aA}	绿色,致密,表面有突起 Green, compacted, process on surface
B ₈	2.0	0.5	0.1	24.1 ± 0.67 ^{aA}	绿色,致密,表面有突起 Green, compacted, process on surface
B ₉	2.0	1.0	0.5	32.6 ± 1.15 ^{eE}	绿白带褐色,松软,表面有突起 Green-white with brown, loose, process on surface

表3 生长调节剂对不定芽增殖的影响
Table 3 Effects of different growth regulator on adventitious buds multiplication

编号 No.	6-BA (mg L ⁻¹)	NAA (mg L ⁻¹)	IBA (mg L ⁻¹)	增殖倍数 Proliferation times
C ₁	0.5	0	0	2.1 ± 0.15 ^{aA}
C ₂	0.5	0.01	0.01	3.1 ± 0.06 ^{bcdBC}
C ₃	0.5	0.1	0.1	3.6 ± 0.12 ^{bBC}
C ₄	0.5	0.5	0.5	3.7 ± 0.20 ^{bB}
C ₅	1.0	0	0.01	2.4 ± 0.21 ^{acdAC}
C ₆	1.0	0.01	0	2.4 ± 0.17 ^{acdABC}
C ₇	1.0	0.1	0.5	3.4 ± 0.12 ^{bBC}
C ₈	1.0	0.5	0.1	3.3 ± 0.15 ^{bcBC}
C ₉	2.0	0	0.1	2.4 ± 0.15 ^{acdABC}
C ₁₀	2.0	0.01	0.5	2.3 ± 0.12 ^{adAC}
C ₁₁	2.0	0.1	0	2.4 ± 0.12 ^{acdABC}
C ₁₂	2.0	0.5	0.01	3.2 ± 0.21 ^{bcdBC}
C ₁₃	3.0	0	0.1	3.3 ± 0.17 ^{bcBC}
C ₁₄	3.0	0.01	0.5	2.2 ± 0.15 ^{adAC}
C ₁₅	3.0	0.1	0.01	2.8 ± 0.15 ^{acdABC}
C ₁₆	3.0	0.5	0	3.3 ± 0.15 ^{bcBC}

2.4 不定芽的增殖培养

将初代培养中较健壮的不定芽分离,转入增殖

培养基中。在增殖过程中,不定芽接顶端不断出现褐化死亡的现象(图 1: 4),因此对 MS 基本培养基

进行了改良,减少 MS 培养基中的 NH_4NO_3 ,增加 KNO_3 ,Fe 盐加倍。从表 3 可见,就单个生长调节剂而言,6-BA 以 0.5 mg L^{-1} 的增殖效果最佳;NAA 以 0.1 mg L^{-1} 的最佳;IBA 以 0.1 mg L^{-1} 的最佳。正交试验的结果表明,以改良 MS + 6-BA 0.5 mg L^{-1} + NAA 0.5 mg L^{-1} + IBA 0.5 mg L^{-1} 组合(C_4)的继代增殖培养效果最好(图 1: 5),增殖倍数达 3.7(表 3)。蓝花楹不定芽的增殖培养中 6-BA 的浓度较低,可能是多次继代后 6-BA 在体内积累,浓度过高抑制了内源激素的作用,使植物生长封顶,茎细弱等,从而影响增殖效果。当调整 MS 培养基中的大量元素和铁盐浓度加倍后,顶端死亡现象得到较好控制,但其机理尚不清楚,还有待于进一步研究。

2.5 愈伤组织的增殖培养

将诱导出的愈伤组织转入增殖培养基中培养。从表 4 可见,就单个生长调节剂而言,6-BA 以 1.0 mg L^{-1} 的增殖效果最佳,NAA 以 0.1 mg L^{-1} 最佳,细胞分裂素 ZT 以 3.0 mg L^{-1} 较合适。正交试验

的结果表明,以 MS + 6-BA 1.0 mg L^{-1} + NAA 0.5 mg L^{-1} + ZT 3.0 mg L^{-1} 组合(D_3)的愈伤组织增殖培养效果最好(图 1: 6),增殖倍数达 4.2。相对而言,愈伤组织的增殖培养比愈伤组织的诱导与分化容易,增殖倍数较高。ZT 可能在蓝花楹愈伤组织的增殖过程中主要起分裂作用,以促进愈伤组织的增殖。

2.6 愈伤组织的分化

从表 5 可见,就单个生长调节剂而言,6-BA 以 2.0 mg L^{-1} 最佳,NAA 以 0.1 mg L^{-1} 最佳,2,4-D 以 0.5 mg L^{-1} 最佳。正交试验的结果表明,以 MS + 6-BA 1.0 mg L^{-1} + NAA 0.5 mg L^{-1} + 2,4-D 0.5 mg L^{-1} 组合(E_5)的愈伤组织分化培养效果最好,分化率达 66.1%(图 1: 7)。在蓝花楹组织培养中,愈伤组织诱导率低,增殖倍数大,愈伤组织分化较少,这可能与蓝花楹本身的生理状态和遗传特性有关,还有待进一步深入研究。

表 4 愈伤组织的增殖培养

Table 4 Proliferation culture of callus

	6-BA (mg L^{-1})	NAA (mg L^{-1})	ZT (mg L^{-1})	增殖倍数 Proliferation times
D_1	1.0	0.05	1.0	$3.5 \pm 0.21^{\text{aABC}}$
D_2	1.0	0.1	2.0	$3.7 \pm 0.12^{\text{abcAB}}$
D_3	1.0	0.5	3.0	$4.2 \pm 0.06^{\text{bA}}$
D_4	2.0	0.05	2.0	$3.7 \pm 0.15^{\text{abcAB}}$
D_5	2.0	0.1	3.0	$3.8 \pm 0.20^{\text{bcAB}}$
D_6	2.0	0.5	1.0	$2.7 \pm 0.12^{\text{dC}}$
D_7	3.0	0.05	3.0	$3.1 \pm 0.12^{\text{adBC}}$
D_8	3.0	0.1	1.0	$3.7 \pm 0.15^{\text{abcAB}}$
D_9	3.0	0.5	2.0	$3.1 \pm 0.12^{\text{adBC}}$

表 5 愈伤组织的分化培养

Table 5 Differentiation culture of callus

	6-BA (mg L^{-1})	NAA (mg L^{-1})	2,4-D (mg L^{-1})	分化率 Differentiation rate (%)
E_1	0.5	0.1	0.05	$18.6 \pm 1.20^{\text{aA}}$
E_2	0.5	0.5	0.1	$26.8 \pm 1.47^{\text{bB}}$
E_3	0.5	1.0	0.5	$29.5 \pm 1.90^{\text{bcB}}$
E_4	1.0	0.1	0.1	$31.9 \pm 1.73^{\text{cB}}$
E_5	1.0	0.5	0.5	$66.1 \pm 2.40^{\text{dC}}$
E_6	1.0	1.0	0.05	$40.6 \pm 2.81^{\text{eD}}$
E_7	2.0	0.1	0.5	$38.2 \pm 2.17^{\text{fE}}$
E_8	2.0	0.5	0.05	$49.3 \pm 2.06^{\text{gF}}$
E_9	2.0	1.0	0.1	$40.6 \pm 0.85^{\text{fE}}$

2.7 壮苗和生根培养

把高度为 3 cm 左右的不定芽切割后转入壮苗培养基,30 d 后观察统计。以在 1/2MS + IBA 0.05 mg L⁻¹ 上培养的有效芽率最高,达 85.7%,生长良好,苗高 3 ~5 cm,茎叶绿色,苗健壮,叶片舒展(图 1: 8)。无论是 MS 还是 1/2MS 培养基,添加 IBA 处理获得的有效芽均高于无 IBA 处理的,说明 IBA 对瓶苗复壮起促进作用。在 1/2MS 培养基上获得的有效芽均显著高于 MS 培养基,可能是因为大量元素的减少有利于植物健壮生长。

表 6 不同培养基对试管苗生根的影响

Table 6 Effects of different media on rooting of plantlet

编号 No.	蔗糖 Sugar (g L ⁻¹)	NAA (mg L ⁻¹)	活性炭 Active carbon (g L ⁻¹)	生根率 Rooting (%)
G ₁	10	0.1	1.0	66.3 ± 7.36 ^{aAB}
G ₂	10	0.5	2.0	49.3 ± 7.86 ^{bCD}
G ₃	10	1.0	3.0	37.4 ± 5.49 ^{cD}
G ₄	20	0.1	2.0	78.3 ± 4.69 ^{dA}
G ₅	20	0.5	3.0	75.2 ± 3.94 ^{adA}
G ₆	20	1.0	1.0	56.4 ± 2.31 ^{bBC}
G ₇	30	0.1	3.0	48.6 ± 5.77 ^{bCD}
G ₈	30	0.5	1.0	52.7 ± 0.75 ^{bC}
G ₉	30	1.0	2.0	67.1 ± 7.09 ^{aAB}

2.8 炼苗移栽

将苗高 3 ~5 cm,枝叶舒展、根系健壮的生根苗移栽入基质中。结果表明,在蛭石:珍珠岩:河沙=1:1:2 基质中的成活率最高,达 63.6%(图 1: 10);在蛭石:珍珠岩:河沙=1:1:3 基质中的次之,为 59.3%;而在蛭石:珍珠岩:河沙=1:1:1 基质中的最低,为 55.6%。可见,这 3 种物质搭配适宜蓝花楹生长,既有较好的保水能力又能满足蓝花楹喜排水良好环境的特性。一般来说,河沙的通透性能较好,但保水能力较差;蛭石和珍珠岩是矿物质,具有良好的保湿效果。

3 讨论

通常来说,外源生长调节剂对植物作用的时效较长,经过多次添加,某些生长调节剂会在植物体内累积,当超过一定量时,植株会出现玻璃化、生长缓慢等毒害现象。本试验中,不定芽增殖培养过程中出现了顶端褐化死亡的现象,可能是因为多次继代培养使外源生长调节剂在体内积累,抑制了内源激素,导致生长势变差及玻璃化等现象,使植物生

将壮苗后的健康单苗接入生根培养基。从表 6 可见,以 1/2MS 为基本培养基,蔗糖为 10 ~20 g L⁻¹, NAA 为 0.1 ~0.5 mg L⁻¹,活性炭为 2.0 ~3.0 g L⁻¹ 对不定芽的生根效果最佳。综合来看,蓝花楹最适的生根培养基为 G₄ 组合:1/2MS + 蔗糖 20 g L⁻¹ + NAA 0.1 mg L⁻¹ + 活性炭 2.0 g L⁻¹,植株生长健壮,生根率最高,达 78.3%(图 1: 9)。使用过高浓度的生长素和蔗糖对蓝花楹幼苗生根有一定抑制作用。活性炭有利于根系发育和幼苗健壮^[11],添加活性炭使长出的根长且健壮。

长封顶,茎细弱,不利于植株的生长^[12],影响增殖效果。在继代培养 2 ~3 代后,就不定芽接种于 MS 培养基,使其释放部分生长调节剂,以后又可继续进行不定芽的继代增殖培养。

一般来说,生长素和细胞分裂素在不同组织的茎芽分化过程中的作用不同,作用的大小与植株体的水平相关。愈伤组织能否分化出不定芽,与这些外源生长调节剂的配比是否适宜有关^[13]。此外,培养的光照、温度也可能影响愈伤组织分化成芽。

在本试验中,蓝花楹下胚轴诱导愈伤组织率较低,增殖倍数大,且愈伤组织分化较少,一般低于 40%,最高也只有 66.1%。愈伤组织分化出不定芽需要较长时间,同时不少愈伤组织出现严重褐化现象,最终死亡,从而使愈伤组织的分化率较低。这可能是由于植物本身的生理状态和遗传特性等因素造成的,还有待于进一步深入研究。

生根试验中采用了添加和不添加活性炭的处理,不添加活性炭处理的幼苗长出的根较短且易断(图 1: 11),其机理尚不明确,可能是因为活性炭能

吸附植物组织自身分泌的酚类物质和防止变褐老化,对形态发生和器官形成有良好效应^[14]。

参考文献

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae(中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora Reipublicae Popularis Sinicae Tomus 69 [M]. Beijing: Science Press, 2006: 54–56.(in Chinese)
- [2] 卢思聪. 一树蓝花一树梦: 美丽的园林树种蓝花楹 [J]. 中国花卉盆景, 2002(8): 9.
- [3] 黄英辉. 蓝花楹 [J]. 园林, 2003(10): 36–37.
- [4] 谢玉华. 优美的园林树种: 蓝花楹 [J]. 西南园艺, 2004, 32(6): 31–32.
- [5] Wang H M(王红梅). Study on tissue culture technique of *Jacaranda acutifolia* [J]. J W China For Sci(西部林业科学), 2008, 37(3): 18–22.(in Chinese)
- [6] Yang L(阳莉), Shi D X(石大兴), Wang M L(王米力), et al. Tissue culture and rapid propagation of *Callispidia guttata* (Brandegge) Bremek. [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 2008, 44(2): 287.(in Chinese)
- [7] Guan Z J(关正君), Teng H M(滕红梅), Li H J(李鸿俊), et al. Influence of different processes on seed germination characters of 3 species of wild ornamental flowers [J]. Agri Techn(农业与科技), 2008, 28(1): 56–59.(in Chinese)
- [8] 毛英魁, 裴利娜. 蔬菜种子播种前的几种浸种方法 [J]. 麦类文摘(种业导报), 2007(2): 38.
- [9] Zheng J(郑健), Zhang Y G(张彦广). Study on the germination of seeds of wild flower *Potentilla fruticosa* L. [J]. J Hebei Norm Univ Sci Techn(河北科技师范学院学报), 2004, 18(2): 62–64.(in Chinese)
- [10] Shi D X(石大兴), Shi Y S(石铁松), Wang M L(王米力), et al. Rapid propagation from sprout culture *in vitro* of *Eucalyptus grandis* [J]. Sci Silv Sin(林业科学), 2003, 39(1): 69–74.(in Chinese)
- [11] Liu G Z(刘桂珍), Liang G P(梁国平), Wang L L(王兰岚), et al. Tissue culture and rapid propagation of *Dracaena draco* [J]. Acta Hort Sin(园艺学报), 1997, 24(3): 303–304.(in Chinese)
- [12] Han Y F(韩一凡). Forest biotechnology and conservation of gene resources in Germany [J]. World For Res(世界林业研究), 1993, 6(2): 23–26.(in Chinese)
- [13] Li M J(李明军), Xue J P(薛建平), Chen M X(陈明霞), et al. The influence of different factors on callus induction of *Dioscorea opposita* [J]. Guihaia(广西植物), 2000, 20(2): 156–160.(in Chinese)
- [14] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 1–71.