



# 观赏植物白花龙的离体快繁条件筛选

吴永清<sup>1</sup>, 胡秀<sup>1\*</sup>, 梁韩枝<sup>1</sup>, 邓莎<sup>1</sup>, 汤聪<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>仲恺农业工程学院 园艺园林学院, 广州 510225; <sup>2</sup>广州恒盛园林股份有限公司, 广州 510030)

**摘要:**【目的】筛选白花龙(*Styrax faberi* Perk.)的离体快繁最佳条件,为白花龙的推广种植及生态环境修复提供参考依据。【方法】以切除或带胚乳的白花龙种子为外植体、MS为基本培养基,添加不同浓度GA<sub>3</sub>进行无菌萌发;以种子无菌萌发的茎段为外植体、MS为基本培养基,采用正交试验设计,筛选适宜白花龙丛生芽增殖培养的最佳6-BA、NAA和TDZ组合;以丛生芽增殖获得的幼苗为外植体、MS或1/2MS为基本培养基,添加不同浓度的IBA,采用直接或间接生根法,筛选白花龙组培苗生根的最佳基本培养基、IBA浓度和生根方法。【结果】带胚乳的白花龙种子在添加不同浓度GA<sub>3</sub>条件下萌发15 d后子叶开始褐化,最终全部死亡;切除胚乳的白花龙种子在无激素条件下也可萌发,但在MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub>培养基中萌发率最高,达97.5%。在继代增殖阶段,白花龙丛生芽在MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA培养基中增殖系数最大,为5.7。在生根阶段,带两个节的白花龙茎段在200.0 mg/L IBA溶液中浸泡15 min后转接至1/2MS空白培养基的生根率最高,达93.3%,平均生根数为7.1条。【结论】切除胚乳的白花龙种子在MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub>培养基中萌发率最高,其萌发的茎段在MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA培养基中增殖系数最大;采用间接生根法,可获得生根效率较高、适应规模化生产的白花龙组培苗。

**关键词:** 白花龙; 种子萌发; 离体培养; 快速繁殖

中图分类号: S685

文献标志码: A

文章编号: 2095-1191(2018)03-0536-07

## Screening for *in vitro* rapid propagation conditions of ornamental plant *Styrax faeri* Perk.

WU Yong-qing<sup>1</sup>, HU Xiu<sup>1\*</sup>, LIANG Han-zhi<sup>1</sup>, DENG Sha<sup>1</sup>, TANG Cong<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture and Landscape, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China; <sup>2</sup>Hengsheng Landscape Architecture Co., Ltd., Guangzhou 510030, China)

**Abstract:**【Objective】The objective of this study was to screen the optimal condition for *in vitro* rapid propagation of *Styrax faberi* Perk. to provide the reference for *S. faberi* planting promotion and eco-environmental modification.【Method】The seeds of *S. faberi* with or without endosperm were used as explants, MS as the basic medium and different concentrations of GA<sub>3</sub> were used for aseptic germination of seeds. Stem of aseptically germinated seeds were used as explants, MS was used as the basic medium, the optimal combinations of 6-BA, NAA and TDZ were screened for proliferation of clustered shoots of *S. faberi* by orthogonal experiment. Seedlings obtained by propagation of clustered shoots as explants, MS or 1/2MS as the basic medium, different concentrations of IBA were added, direct or indirect rooting method were used to screen optimal basic medium, IBA concentration and rooting method for the rooting of *S. faberi*.【Result】The results showed that cotyledon of *S. faberi* seeds with endosperm on media with different concentrations of GA<sub>3</sub> were browning when germinated after 15 d and then died. Seeds without endosperm could germinate even on the medium without any hormone. The optimal medium for seed germination without endosperm was MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub>, and the germination rate was up to 97.5%. At the stage of subculture multiplication, the optimal medium of clustered shoots proliferation was MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA, where the proliferation coefficient was 5.7. At rooting stage, when the stem segments with two sections were soaked in IBA solution of 200.0 mg/L for 15 min and then transferred to 1/2MS blank medium, the rooting rate was the highest, reaching 93.3%, and the average number of roots was 7.1.【Conclusion】The seed germination rate of *S. faberi* is the highest in MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub> medium and the proliferation coefficient of *S. faberi* clustered shoots is the highest in MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA medium. Indirect rooting method can be used to obtain *S. faberi* tissue culture seedlings with high rooting efficiency and large-scale production.

**Key words:** *Styrax faeri* Perk.; seed germination; *in vitro* culture; rapid propagation

收稿日期: 2017-05-09

基金项目: 广东省林业科技创新专项项目(2013KJCX006-01); 广东省教育厅项目(2016GCZX001)

作者简介: \*为通讯作者, 胡秀(1976-), 副教授, 主要从事珍贵树种引种选育研究工作, E-mail: 554311889@qq.com。吴永清(1990-), 研究方向为珍贵树种引种选育, E-mail: 770467299@qq.com

## 0 引言

【研究意义】白花龙(*Styrax faberi* Perk.)属安息香科(Styracaceae)安息香属(*Styrax*)多年生落叶阔叶灌木,主要分布于安徽、湖北、江苏、浙江、湖南、江西、广东、广西和台湾等省(区)。其树形优美,是为数不多的春季开白花、形态富有奇趣的乡土观赏树种,适用于小区、公园、道路等的绿化和边坡生态修复(金建红等,2009)。白花龙还是良好的药用和油脂用植物,果实可治疗头晕发热(陈少卿等,1982),根可用于治疗胃脘痛,种子油可制造肥皂和润滑油(中国科学院华南植物研究所,1987;中国油脂植物编写委员会,1987),叶片可用于止血、生肌和消肿(程家寿等,2011),具有广阔的开发利用前景。白花龙种壳坚硬且具有一定的休眠特性,萌发时间长、萌发率和扦插繁殖成活率低,常规的种苗繁殖方式不能满足市场需求(程家寿等,2011)。植物离体培养快速繁殖是获得大量优质种苗的有效途径(段元杰等,2016;陆荣生等,2016;王林等,2016;吴雪娟等,2016;闫海霞等,2016;Solle and Semiarti,2016;林茂等,2017;刘晓等,2017;田奥磊等,2017),因此,建立白花龙高效离体培养快速繁殖体系,对白花龙的推广种植及生态环境修复具有重要意义。【前人研究进展】安息香科植物种子普遍具有休眠特性,不能随采随播(国家林业局国有林场和林木种苗工作总站,2001),如白花树[ (*S. tonkinensis* (Pierre) Craib ex Hartw.) ]的种子在常温下储藏5个月后发芽率仅20%(刘志强等,2001),激素处理配合低温层积也不能获得满意的发芽效果,如垂珠花(*S. dasyanthus* Perk.)经1200 mg/L GA<sub>3</sub>预处理24 h结合低温沙藏层积,发芽率仅44%(丁芳芳,2013)。王奎玲等(2010)、陈甜甜等(2017)研究发现,玉铃花(*S. obassia*)腋芽增殖阶段最适宜的培养基为MS+2.0 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA,前者的增殖系数为5.56,但后者的仅为3.19。张亮亮等(2013)对白花树、王文君等(2016)对野茉莉(*S. japonicus*)、张琦等(2017)对赛山梅(*S. confusus*)的研究结果显示,MS+0.3 mg/L 6-BA是增殖阶段最适宜的培养基。在生根培养阶段,多位学者均认为适宜的基本培养基为1/2MS(王奎玲等,2010;张亮亮等,2013;王文君等,2016;张琦等,2017)。【本研究切入点】迄今,未见白花龙人工播种繁殖及离体培养繁殖的研究报道。【拟解决的关键问题】通过去除白花龙种壳以增加透气性和透水性、去除胚乳以降低萌发抑制物质和诱导幼苗褐化死亡物质含量,优化其增殖和生根培养基的激素种类和

浓度配比,以提高增殖率和生根率,实现白花龙的离体培养快速繁殖,为其推广种植提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为白花龙成熟果实的种子,2015年10月采自广东省博罗县林业科学研究所林区。试验时间为2015年11月~2017年3月。

### 1.2 试验方法

1.2.1 培养基及培养条件 MS培养基中蔗糖含量30.0 g/L,琼脂含量6.0 g/L,pH 5.8~6.0。1/2MS培养基中的大量元素减半,蔗糖含量30.0 g/L,琼脂含量6.0 g/L。培养基在105 Kpa,121 °C条件下高压灭菌20 min。培养温度(25±1)°C,光照强度2000 lx,光照时间12 h/d。

1.2.2 种子萌发 脱去白花龙果实的果皮,将种子转至超净工作台,用75%酒精浸泡1 min,无菌水清洗1遍后剥开外种壳,放入0.1%升汞中浸泡5 min,无菌水清洗6~8遍。接种时以带胚乳和切除胚乳的种子为外植体,以MS为基本培养基,添加不同浓度(0、1.0、2.0和3.0 mg/L)GA<sub>3</sub>进行种子萌发。每处理10瓶,每瓶接种3个外植体。接种45 d后统计种子的萌发率和成苗率,观察记录苗的生长状况。

$$\text{萌发率}(\%) = \frac{\text{萌发外植体个数}}{\text{接种外植体总数}} \times 100$$

$$\text{成苗率}(\%) = \frac{\text{成活外植体个数}}{\text{接种外植体总数}} \times 100$$

1.2.3 继代培养 以MS为基本培养基,采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计(表1),分析6-BA、NAA和TDZ对白花龙无菌苗茎段增殖培养的影响。每处理10瓶,每瓶接种3个外植体。45 d后统计增殖系数和平均苗高,记录丛生芽的生长情况。

$$\text{增殖系数} = \frac{\text{增殖后芽总数}}{\text{接种外植体总数}}$$

$$\text{平均苗高}(\text{cm}) = \frac{\text{增殖后苗总高度}(\text{cm})}{\text{接种外植体总数}}$$

表1 白花龙继代培养激素种类及浓度的正交试验设计L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)  
Table 1 Orthogonal design L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) for hormones types and concentrations in subculture of *S. faberi*

水平 Level	因素(mg/L) Factor		
	A(6-BA)	B(NAA)	C(TDZ)
1	0.5	0.01	0
2	1.0	0.05	0
3	2.0	0.10	0.01

1.2.4 壮苗与生根 选取高于1.5 cm的白花龙丛生芽转接至MS+0.5 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA+0.5 mg/L GA<sub>3</sub>培养基上培养45 d以壮苗;选择壮苗培

养后生长良好的幼苗,切成带两个节的茎段用于直接或间接生根培养。直接生根培养的培养基为MS或1/2MS添加不同浓度(0、1.0、2.0、3.0、4.0和5.0 mg/L)IBA;间接生根培养是先将茎段置于较高浓度(100.0、200.0和300.0 mg/L)IBA溶液中浸泡15 min,再转至MS或1/2MS空白培养基中进行培养。每处理6瓶,每瓶接种5个外植体。45 d后统计平均生根数,计算生根率,记录根的生长情况。

平均生根数=根总数/接种数

生根率(%)=生根的苗数/接种数×100

1.2.5 炼苗和移栽 选择健壮、侧根发达的幼苗,置于荫棚内炼苗,7 d后将幼苗移栽于泥炭土:珍珠岩:沙=3:1:1的基质中,30 d后观察植株生长情况,统计成活率。

成活率(%)=成活苗数/苗总数×100

### 1.3 统计分析

试验数据采用SPSS 19.0进行统计,以Duncan's进行多重比较分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 GA<sub>3</sub>对白花龙种子萌发的影响

由表2可知,带胚乳的种子在不添加任何激素或添加不同浓度GA<sub>3</sub>条件下,约1个月开始萌发,且萌发15 d后子叶开始褐化,最终全部死亡(图1-A),其萌发时间随GA<sub>3</sub>浓度的增加而明显缩短,萌发率呈先上升后下降的变化趋势,当GA<sub>3</sub>浓度为2.0 mg/L时,萌发率最高,但仅为20.0%;切除胚乳的白花龙种子在不添加任何激素或添加不同浓度GA<sub>3</sub>时,一周内开始萌发,成苗率均高于80.0%,其萌发时间、萌发率和成苗率均显著高于带胚乳种子(P<0.05,下同),萌发率和成苗率随GA<sub>3</sub>浓度的增加呈先上升后下降的变化趋势,当GA<sub>3</sub>浓度为2.0 mg/L时,萌发时间最短(仅需3.0 d),萌发率和成活率最高,均达97.5%,且显著高于其他浓度处理,幼苗生长状态良好(图1-B)。说明白花龙种子胚乳中含有抑制种子萌发和导致幼苗褐化的物质,影响了胚的萌发率和萌发速度。

表 2 GA<sub>3</sub>对白花龙种子萌发的影响

Table 2 Effects of GA<sub>3</sub> on *S. faberi* seed germination

种子类型 Seed type	GA <sub>3</sub> 浓度(mg/L) GA <sub>3</sub> concentration	萌发时间(d) Germination time	萌发率(%) Germination rate	成苗率(%) Survival rate	生长情况 Growth status
带胚乳 With endosperm	0	46.0±2.3a	6.7±0.4g	0d	萌发不整齐,萌发时间长,萌发15 d后子叶开始褐化,最后全部死亡
	1.0	38.0±4.0b	13.3±0.5e	0d	
	2.0	35.0±1.7b	20.0±1.2d	0d	
	3.0	29.0±2.3c	10.0±1.2f	0d	
切除胚乳 Without endosperm	0	7.0±0.6d	85.0±1.7c	85.0±1.7c	萌发整齐,萌发时间短,幼苗健壮
	1.0	5.0±1.2d	94.4±1.1b	94.4±1.2b	
	2.0	3.0±0.0d	97.5±0.5a	97.5±0.6a	
	3.0	3.0±0.0d	83.3±1.2c	83.3±1.2c	

同列数据后不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。表3和表4同

Different lowercase letters in the same column represented significant difference (P<0.05). The same was applied in Table 3 and Table 4

### 2.2 不同激素配比对白花龙继代增殖的影响

由表3可知,培养基为0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA,即在6-BA与NAA的浓度比为10:1、且激素浓度较低时,白花龙丛生芽的增殖系数达5.7,芽长势较好(图1-C);培养基为1.0 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA,即调高6-BA与NAA的绝对浓度但仍保持较低比例时,增殖系数仅为4.0;而培养基为0.5 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA,即调高6-BA与NAA的浓度比但仍保持低绝对浓度时,增殖系数更低,仅3.3。说明增殖培养基中6-BA与NAA的浓度比及绝对浓度均较低时,可获得增殖系数较高的白花龙丛生芽。

由表3可知,白花龙丛生芽的增殖系数为2.9~5.7;高浓度(1.0和2.0 mg/L)6-BA会导致白花龙幼苗出现玻璃化和畸形叶现象。比较极差值R,影响继代

增殖的因子排序为B>A>C,即在白花龙继代增殖中发挥作用的激素排序为NAA>6-BA>TDZ。比较K值,A因子以A<sub>1</sub>、B因子以B<sub>2</sub>、C因子以C<sub>2</sub>的最大,为各因子的最优水平。说明白花龙继代增殖培养的最佳激素组合为A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,即MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA为白花龙丛生芽增殖的最佳培养基。

### 2.3 不同基本培养基、生根方法和IBA浓度对白花龙生根培养的影响

由表4可知,以MS为基本培养基时,白花龙的幼苗经200.0 mg/L IBA溶液浸泡15 min后培养45 d,虽能获得93.3%的生根率和6.3条的生根数,但无根毛产生,根的质量也一般;以1/2MS为基本培养基时,白花龙的幼苗有根毛产生,根质量好。对比白花龙直接生根法和间接生根法的效果发现,直接生根所需时间明显较长、生根率明显较低、生根数明显较少

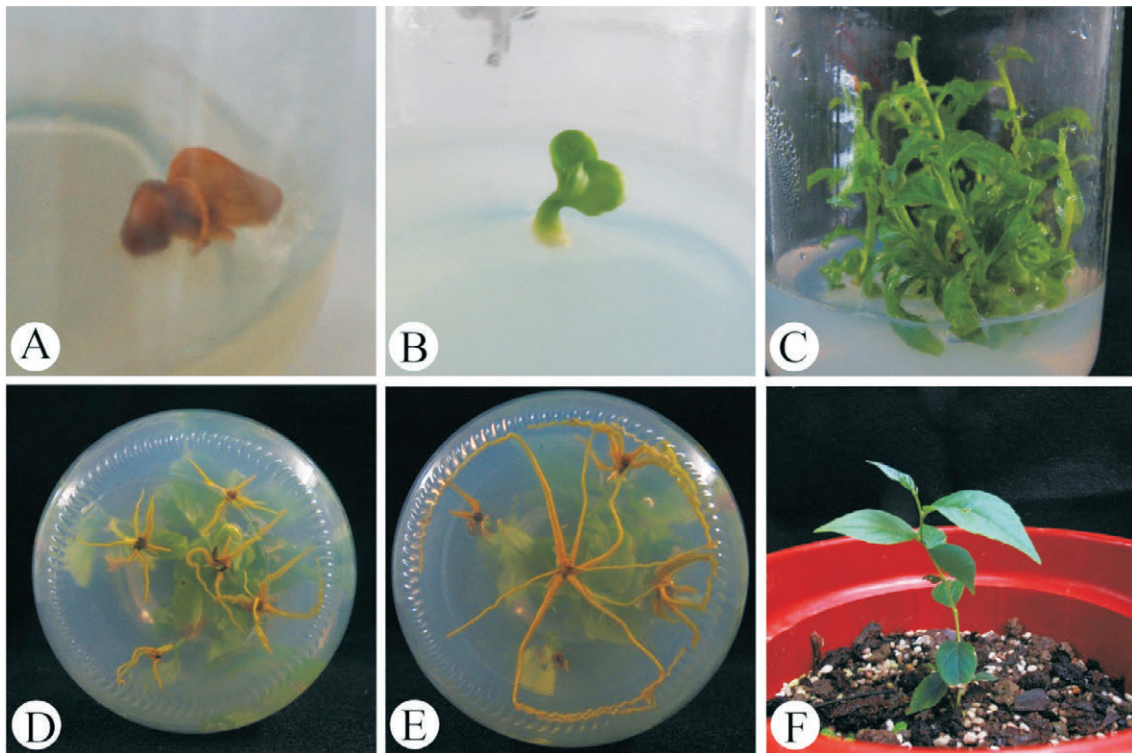


图 1 白花龙的离体快速繁殖过程

Fig.1 *In vitro* rapid propagation procedure of *S. faberi*

A:带胚乳的种子萌发后45 d(MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub>);B:不带胚乳的种子萌发后45 d(MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub>);C:继代45 d(MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA);D:生根45 d (MS+3.0 mg/L IBA) ;E:在高浓度溶液(200.0 mg/L IBA)浸泡15 min 后(1/2MS)固体培养45 d;F:移栽30 d  
 A: Seeds with endosperm 45 d after germination(MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub>); B: Seeds without endosperm 45 d after germination(MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub>); C: Multiplication of subculture for 45 d (MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA); D: Rooting for 45 d (MS+3.0 mg/L IBA) ; E: The stem segments were soaked in high concentration solution(200.0 mg/L IBA) for 15 min and then transferred to(1/2MS) medium for 45 d; F: Transplantation after 30 d

表 3 不同激素浓度组合对白花龙继代增殖的影响

Table 3 Effects of different hormone combinations on multplication for *S. faberi*

处理 Treatment	激素(mg/L) Hormone			增殖系数 Multiplication coefficient	长势 Growth status
	6-BA(A)	NAA(B)	TDZ(C)		
1	0.5	0.01	0	3.3±0.03ef	健壮、无玻璃化,深绿色
2	0.5	0.05	0	5.7±0.06a	健壮、无玻璃化,色深绿
3	0.5	0.10	0.01	3.6±0.09d	较健壮、无玻璃化,绿色
4	1.0	0.01	0	3.1±0.06fg	较健壮、轻微玻璃化,绿色
5	1.0	0.05	0	4.9±0.14b	较健壮、轻微玻璃化,绿色
6	1.0	0.10	0.01	4.0±0.09c	较健壮、轻微玻璃化,绿色
7	2.0	0.01	0	2.9±0.06g	细弱、玻璃化,黄绿色
8	2.0	0.05	0	3.9±0.12c	细弱、玻璃化,黄绿色
9	2.0	0.10	0.01	3.4±0.03de	细弱、玻璃化,黄绿色
K <sub>1</sub>	4.2	3.1	3.7		
K <sub>2</sub>	4.0	4.8	4.1		
K <sub>3</sub>	3.4	3.7	3.8		
R	0.8	1.7	0.4		
主次顺序 Order		B>A>C			
优水平 Premium level	A <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>		

(图1-D);间接生根法能极大缩短生根时间、提高生根率和生根数,根较粗壮。激素处理方面,白花龙幼苗在200.0 mg/L IBA溶液中浸泡15 min后接种于1/2MS空白培养基上培养45 d,生根率为93.3%,生根数为7.1条,且有根毛产生(图1-E)。说明以1/2MS为基本培养基,使用间接生根法更适合进行白花龙

生根培养,且以在200.0 mg/L IBA溶液中浸泡15 min后转接至1/2MS空白培养基上的效果最佳。

## 2.4 炼苗移栽

用泥炭土:珍珠岩:沙(3:1:1)作基质移栽白花龙生根培养后的健壮幼苗,30 d后移栽成活率为85.0%,小苗生长状况良好(图1-F)。

表 4 不同基本培养基、生根方法和IBA浓度对白花龙生根的影响

Table 4 Effects of different basal media, rooting methods and IBA concentrations on rooting of *S. faberi*

基本培养基 Basal medium	IBA(mg/L)		生根率(%) Rooting rate	平均生根数(条) Average root number(root)	生根时间(d) Rooting time	生根情况 Rooting situation
	直接生根 Direct rooting	间接生根 Indirect rooting				
MS	0	-	0k	0k	0f	-
	1.0	-	70.0±0.0hi	2.4±0.2g	13.0±0.2abc	生根慢,无根毛
	2.0	-	75.0±1.2fg	3.0±0.1f	12.0±0.9cd	生长较慢,无根毛
	3.0	-	83.3±1.2bcd	5.2±0.1cd	11.0±0.6cd	生长较慢,无根毛
	4.0	-	80.0±0.0de	1.1±0.1j	15.0±1.2a	生长慢,无根毛
	5.0	-	73.3±1.2gh	1.9±0.1i	15.0±1.7a	生长慢,无根毛
	-	100.0	86.6±0.4b	4.4±0.1e	5.0±0.6e	生长较快,无根毛
	-	200.0	93.3±1.2a	6.3±0.2b	3.0±0.0e	生长快,无根毛
	-	300.0	82.0±1.2cd	5.5±0.2c	4.0±0.6e	生长较快,无根毛
	1/2MS	0	-	0k	0k	0f
1.0		-	85.7±1.7bc	5.2±0.1cd	10.0±0.6d	生长较快,根毛较多
2.0		-	77.1±1.2ef	4.1±0.2e	12.0±0.6cd	生长较慢,根毛少
3.0		-	68.6±1.7i	2.8±0.1f	14.0±1.2ab	生长较慢,根毛少
4.0		-	67.0±1.2i	2.1±0.1gh	15.0±1.2a	生长慢,根毛少
5.0		-	60.0±1.2j	1.9±0.1i	15.0±0.6a	生长慢,根毛少
-		100.0	86.6±1.2b	4.0±0.2e	5.0±0.6e	生长较快,根毛少
-		200.0	93.3±1.7a	7.1±0.2a	3.0±0.6e	生长快,根毛较多
-		300.0	83.30±1.7bcd	4.9±0.1d	4.0±0.6e	生长较快,根毛少

### 3 讨论

安息香科植物种子普遍含有导致种子休眠的抑制物质(国家林业局国有林场和林木种苗工作总站,2001),如垂珠花种子各部位均含有不同浓度的萌发抑制物,抑制活性排序为种胚>胚乳>种皮(丁芳芳,2013);白花树种子的萌发抑制物主要存在于胚乳中,在其离体培养过程中切除胚乳可降低外植体的污染率,缩短发芽时间,提高成活率(张亮亮等,2013)。本研究发现,切除胚乳的白花龙种子萌发速度明显比带胚乳的种子快,说明白花龙种子的萌发抑制物也主要存在于胚乳中。张亮亮等(2013)研究发现,白花树带胚乳的种子可正常萌发并成苗,本研究的白花龙带胚乳种子萌发后约15 d开始褐化,最后整个种子坏死,说明白花龙胚乳中不仅含有萌发抑制物,还含有导致其组培苗褐化的物质。已有研究表明,高浓度ABA是导致白花树种子休眠的主要原因(吴君等,2014),层积沙藏处理(司倩倩等,2017)或GA<sub>3</sub>、NAA和6-BA等处理(许晓岗等,2012)均可打破由ABA引起的休眠。本研究以切除胚乳的白花龙种子为外植体,减少了种子中抑制萌发和导致组培苗褐化物质的含量,可加快种子萌发速度,提高萌发率,但对胚乳中萌发抑制物的具体成分及含量有待进一步探究。

本研究发现,培养基MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA最适于白花龙丛生芽增殖(增殖系数为5.7),其中的6-BA与NAA的浓度比为10:1,而培养基MS+1.0 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA中6-BA与NAA的浓度比同样为10:1,其芽的增殖系数仅为

4.0,说明增殖系数低主要由激素绝对浓度过高引起,低比例、低绝对浓度的6-BA与NAA结合有利于白花龙继代增殖。张亮亮等(2013)、王文君等(2016)、张琦等(2017)采用6-BA(0、0.3、1.0、3.0 mg/L)与NAA(0、0.30、1.00、3.00 mg/L)组合分别对同属植物白花树、野茉莉和赛山梅进行丛生芽增殖,结果表明,当6-BA浓度一定时,随着NAA浓度的增大,增殖系数呈递减趋势;当NAA浓度一定时,随着6-BA浓度的增大,增殖系数也呈递减趋势;当培养基为MS+0.3 mg/L 6-B+0 mg/L NAA时,即6-BA与NAA的浓度比为30:0时,芽的增殖系数最高,表明低比例、低绝对浓度的6-BA与NAA有利于白花树、野茉莉和赛山梅芽增殖。本研究结果与其一致。

蒋泽平等(2005)研究发现,秤锤树的幼苗在含有高浓度(2.0 mg/L)6-BA的培养基中增殖时,幼苗出现烂心、玻璃苗现象。雷颖等(2015)研究发现,6-BA浓度越高,松潘乌头(*Aconitum sungpanense* Hand.-Mazz.)丛生芽增殖苗的玻璃化率越高。本研究结果与上述研究结果相似,白花龙丛生芽增殖的幼苗在含有相对高浓度(1.0~2.0 mg/L)6-BA的培养基中长势不佳,也出现玻璃化现象。

以木本植物进行组织培养普遍较难生根,如马来沉香(*Aquilaria malaccensis*)生根培养的最高生根率仅56.7%(张卫华等,2014),但进行一定浓度的IBA处理可促进生根(Rathore and Phulwaria, 2015; 王婷婷等,2017; 姚志红等,2017)。本研究在1/2MS基本培养基中添加1.0 mg/L IBA进行白花龙组培苗直接生根培养的生根效果最好,随着IBA浓度的增加,

生根率和生根数均呈下降趋势,说明含有高浓度IBA的培养基会抑制白花龙植株根系生长,利用IBA促进木本植物生根需控制IBA的使用浓度。张亮亮(2013)采用间接生根法进行白花树生根培养的生根率比直接生根法有所提高,但仅为60.0%,生根数也仅有2.4条。本研究结果与其相似,用直接生根方式进行白花龙生根培养的生根效果也不佳,采用间接生根方法时,生根时间缩短(仅需3 d),生根率提高至93.3%,平均生根数增至7.1条,说明高浓度IBA能促进木本植物根原基形成,低浓度IBA能促使根原基伸长。

已有研究表明,矿物元素浓度较低时有利于组培苗生根(Baskaran and Jayabalan, 2005)。本研究结果支持其观点,以MS为基本培养基时,诱导的白花龙根较细弱且无根毛,以矿质元素含量较低的1/2MS为基本培养基时,诱导得到根较粗壮、有根毛、能较长时间保持较强生长势的白花龙幼苗。

## 4 结论

本研究发现,白花龙种子胚乳中含有抑制种子萌发和导致幼苗褐化死亡的物质;切除胚乳的白花龙种子在MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub>培养基中萌发率最高,其萌发的茎段在MS+0.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA培养基中增殖系数最大;采用间接生根法可获得生根效率较高、适应规模化生产的白花龙组培苗。

### 参考文献:

陈少卿,张桂才,李泽贤,王学文,陈德昭,林有润. 1982. 广东药用植物手册[K]. 广州:中国科学院华南植物研究所. [Chen S Q, Zhang G C, Li Z X, Wang X W, Chen D Z, Lin Y R. 1982. Medicinal Plants Handbook of Guangdong [K]. Guangzhou: South China Institute of Botany Academia Sinica.]

陈甜甜,马铭,王锋祥,郑福山. 2017. 玉玲花高效快繁技术研究[J]. 时代农机, 44(6): 109-110. [Chen T T, Ma M, Wang F X, Zheng F S. 2017. Study on high efficiency and rapid propagation technology of Yuling flowers[J]. Times Agriculture Machinery, 44(6): 109-110.]

程家寿,周林涛,潘健,张健伟. 2011. 外源激素对白花龙插条生根的影响[J]. 资源开发与市场, 27(6): 496-497. [Cheng J S, Zhou L T, Pan J, Zhang J W. 2011. Effect of exogenous hormones on rooting of *Styrax faberi* Perk. cutting [J]. Resource Development & Market, 27(6): 496-497.]

丁芳芳. 2013. 垂珠花繁殖技术及其自然居群遗传多样性分析[D]. 南京:南京林业大学. [Ding F F. 2013. Propagation technology and nature population genetic diversity analysis of *Styrax dasyanthus* Perk [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University.]

段元杰,刘海刚,孟富宣,杨玉皎,周军. 2016. 枣树花药组织

培养研究进展[J]. 江西农业学报, 28(11): 47-50. [Duan Y J, Liu H G, Meng F X, Yang Y J, Zhou J. 2016. Research progress in tissue culture of Chinese jujube anther [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 28(11): 47-50.]

国家林业局国有林场和林木种苗工作总站. 2001. 中国木本植物种子[M]. 北京:中国林业出版社. [National Service for State-Owned Forest Farm and Woody Plant Seedling Affairs. 2001. Seeds of Woody Plants in China [M]. Beijing: China Forestry Publishing House.]

蒋泽平,梁珍海,刘根林,吴纲. 2005. 秤锤树离体培养和植株再生[J]. 园艺学报, 32(3): 537-540. [Jiang Z P, Liang Z H, Liu G L, Wu G. 2005. *In vitro* culture and plant regeneration of *Sinojackia xylocarpa* Hu [J]. Acta Horticulturae Sinica, 32(3): 537-540.]

金建红,叶圣绿,金家国,叶朝军. 2009. 温州道路边坡自然恢复植物资源调查[J]. 江西农业学报, 21(5): 50-53. [Jin J H, Ye S L, Jin J G, Ye C J. 2009. Investigation of spontaneous recovery plant resources in side slope of Wenzhou [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 21(5): 50-53.]

雷颖,任一杰,沈晓燕. 2015. 松潘乌头嫩茎高效再生体系的建立[J]. 园艺学报, 42(7): 1393-1399. [Lei Y, Ren Y J, Shen X Y. 2015. The establishment of the efficient regeneration system of the tender stems of *Aconitum sungpanense* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 42(7): 1393-1399.]

林茂,杨舒婷,唐庆,李进华,龙定建,王华新. 2017. 金花茶离体培养体系的建立[J]. 南方农业学报, 48(3): 475-480. [Lin M, Yang S T, Tang Q, Li J H, Long D J, Wang H X. 2017. Establishing *in vitro* culture system of *Camellia nitidissima* [J]. Journal of Southern Agriculture, 48(3): 475-480.]

刘晓,李卓,唐丽丹,王献. 2017. 紫薇茎段离体培养体系的优化[J]. 河南农业科学, 46(3): 112-117. [Liu X, Li Z, Tang L D, Wang X. 2017. *In vitro* culture system optimization of *Lagerstroemia indica* stems [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 46(3): 112-117.]

刘志强,肖水清,邹元熹,肖才发. 2001. 3种阔叶树育苗技术及苗木生长规律研究初报[J]. 江西林业科技, 5(3): 14-15. [Liu Z Q, Xiao S Q, Zou Y X, Xiao C F. 2001. Seeding raising techniques of three broadleaves trees and their growing regularity [J]. Jiangxi Forestry Science and Technology, 5(3): 14-15.]

陆荣生,韩美丽,梁志强,覃建林. 2016. 邓恩桉下胚轴不定芽再生体系建立的影响因素[J]. 江西农业学报, 28(6): 31-35. [Lu R S, Han M L, Liang Z Q, Qin J L. 2016. Factors affecting system establishment of adventitious bud regeneration from hypocotyls of *Eucalyptus dunnii* [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 28(6): 31-35.]

司倩倩,臧德奎,刘丹,褚泽龙. 2017. 玉铃花种子休眠原因及其内源激素含量变化[J]. 北方园艺, (6): 91-95. [Si Q Q, Zang D K, Liu D, Chu Z L. 2017. Causes of dormancy and change of endogenous hormone content in *Styrax obassia* seeds [J]. Northern Horticulture, (6): 91-95.]

田奥磊,高俊杰,李丹丹,杨晓芳,刘建福,黄寿生,张斌. 2017. 茶树离体培养类型及其应用研究进展[J]. 河南农

- 业科学,46(3):1-7. [Tian A L, Gao J J, Li D D, Yang X F, Liu J F, Huang S S, Zhang B. 2017. Research progresses on culture types *in vitro* and applications of tea plant[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 46(3): 1-7.]
- 王奎玲,刘庆超,李俊卿,刘庆华,刘明健,姜荣荣. 2010. 玉铃花的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,46(9): 959-960. [Wang K L, Liu Q C, Li J Q, Liu Q H, Liu M J, Jiang R R. 2010. Tissue culture and rapid propagation of *Styrax obassia* Sieb. et Zucc.[J]. Plant Physiology Communications, 46(9): 959-960.]
- 王林,刘冬云,李佳琦. 2016. 野罂粟和秃疮花花粉生活力的测定[J]. 贵州农业科学,44(7): 18-21. [Wang L, Liu D Y, Li J Q. 2016. Determination on pollen viability of *Papaver nudicarule* and *Dicranostigma leptopodum*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 44(7): 18-21.]
- 王婷婷,胡春宏,常苹,季翔. 2017. 苹果接穗SVM-O15的组织培养[J]. 贵州农业科学,45(11):98-101. [Wang T T, Hu C H, Chang P, Ji X. 2017. Tissue culture of SVM-O15, an apple scion variety[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 45(11): 98-101.]
- 王文君,刘庆华,王奎玲,张翠萍. 2016. 野茉莉(*Styrax japonicus*)组培快繁技术研究[C]//中国观赏园艺研究进展. 北京:中国林业出版社. [Wang W J, Liu Q H, Wang K L, Zhang C P. 2016. Study on embryo culture of *Styrax japonicas*[C]//Advances in Ornamental Horticulture of China. Beijing: China Forestry Publishing House.]
- 吴雪娟,杨利平,陈敏. 2016. 条叶百合的离体多倍体诱导[J]. 贵州农业科学,44(8): 84-86. [Wu X J, Yang L P, Chen M. 2016. *In vitro* polyploid induction of *Lilium callosum*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 44(8): 84-86.]
- 吴君,李因刚,罗修宝,柳新红,石从广,何云核. 2014. 白花树种子生物学特性[J]. 浙江农林大学学报,31(1): 9-13. [Wu J, Li Y G, Luo X B, Liu X H, Shi C G, He Y H. 2014. Seed biological characteristics of *Styrax tonkinensis* [J]. Journal of Zhejiang A & F University, 31(1): 9-13.]
- 许晓岗,丁芳芳,李翔,汤庚国. 2012. 东京野茉莉种子休眠机制及其破除方法初探[J]. 西北植物学报,32(11): 2270-2278. [Xu X G, Ding F F, Li X, Tang G G. 2012. Preliminary study on seed dormancy and germination of *Styrax tonkinensis*(Peirre) Craib ex Hartw[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 32(11): 2270-2278.]
- 闫海霞,蒋月喜,何荆洲,邓杰玲,黄昌艳,王晓国,卜朝阳. 2016. 重瓣大岩桐离体培养的两种途径[J]. 江西农业学报,28(11): 30-34. [Yan H X, Jiang Y X, He J Z, Deng J L, Huang C Y, Wang X G, Bu Z Y. 2016. Two pathways for isolated culture of *Sinningia speciosa*[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 28(11): 30-34.]
- 姚志红,李俊男,黄寿臣,姜传英,李亚楠,李淑珍,张荣沐. 2017. 山新杨叶片不定芽再生系统优化[J]. 贵州农业科学,45(7): 38-42. [Yao Z H, Li J N, Huang S C, Jiang C Y, Li Y N, Li S Z, Zhang R S. 2017. Adventitious bud regeneration system optimization of *Populus davidiana*×*P. alba* var. *Pyramidalis*[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 45(7): 38-42.]
- 张亮亮. 2013. 白花树无性快繁研究[D]. 杭州:浙江农林大学. [Zhang L L. 2013. Study of asexual propagation techniques of *Styrax tonkinensis*[D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University.]
- 张亮亮,柳新红,林新春,李因刚,石从广,刘伊里,何云核. 2013. 白花树组织培养技术研究[J]. 浙江林业科技,33(3): 16-19. [Zhang L L, Liu X H, Lin X C, Li Y G, Shi C G, Liu Y L, He Y H. 2013. Experiment on tissue culture of *Styrax tonkinensis*[J]. Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology, 33(3): 16-19.]
- 张琦,臧巧路,林新春. 2017. 赛山梅组培快繁技术初探[J]. 浙江林业科技,37(1): 51-54. [Zhang Q, Zang Q L, Lin X C. 2017. Experiment on micropropagation of *Styrax confuses*[J]. Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology, 37(1): 51-54.]
- 张卫华,许丽萍,龚峥,潘文,朱报著. 2014. 马来沉香组织培养技术研究[J]. 广西植物,34(3): 381-386. [Zhang W H, Xu L P, Gong Z, Pan W, Zhu B Z. 2014. Tissue culture propagation technology of *Aquilaria malaccensis*[J]. Guizhou, 34(3): 381-386.]
- 中国科学院华南植物研究所. 1987. 广东植物志(第一卷)[M]. 广州:广东科技出版社. [South China Institute of Botany Academia Sinica. 1987. Flora of Guangdong (Volume I) [M]. Guangzhou: Guangdong Science & Technology Press.]
- 中国油脂植物编写委员会. 1987. 中国油脂植物[M]. 北京:科学出版社. [Chinese Grease Plant Compiled Committee. 1987. Chinese Grease Plant[M]. Beijing: Science Press.]
- Baskaran P, Jayabalan N. 2005. An efficient micropropagation system for *Eclipta alba*: A valuable medicinal herb[J]. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 41: 532-539.
- Rathore J S, Phulwaria M. 2015. Use of liquid culture medium and *ex vitro* rooting for micropropagation of *Acacia nilotica*(L.) Del. ssp. *cupressiformis*[J]. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20(2): 172-176.
- Solle H R L, Semiarti E. 2016. Micropropagation of Sandalwood(*Santalum album* L.) endemic plant from East Nusa Tenggara, Indonesia[C]//AIP Conference Proceedings. New York: AIP Publishing.

(责任编辑 思利华)