维普资讯 http://www.cqvip.com

大花栀子非组培微体快繁研究

田春雨[1],刘艳芬[2],张丽丽[3]

(1.河北工程大学建筑学院,河北邯郸 056038;2 河北工程大学农学院,河北邯郸 056038;3 河北工程大学学工部,河北邯郸 056038)

摘要 [目的]研究大花栀子非组培微体快繁时基质与激素浓度对外殖体生根的影响,以及生根后外殖体叶片生物学反应。[方法]选择带一叶一芽的1年生大花栀子短枝作外殖体,采用珍珠岩与蛭石2种不同基质,用NAA 5种浓度(0、300、500、800、1 000 mg/L)处理外植体,在外植体展叶后测定叶片光合速率、蒸腾速率及气孔导度。[结果]基质类型对大花栀子外植体生根无显著影响;NAA的5种浓度中,500、800和1 000 mg/L 3种浓度对外植体生根都有一定的影响,但以800 mg/L对外植体生根影响显著。展叶后20 d叶片的蒸腾速率和气孔导度与初展叶片差别不大,但光合速率明显高于初展叶片。[结论]大花栀子外植体生根率与培养基质种类关系不大,但与激素浓度密切相关。

关键词 非组培微体快繁;基质;激素;光合速率

中图分类号 S685.99 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)17-07205-01

Study on the Non-tissue Culture Micro-propagation of *Gardenia jasminoides* Ellis

TIAN Chun-yu et al (College of Architecture, Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056038)

Abstract [Objective] The research aimed to study the effects of substrate and hormone concn. on the rooting of explants and leaf biological reaction of explants after rooting in non-tissue culture micro-propagation of *Gardenia jasminoides* Ellis. [Method] Selecting short branches of 1-year-old *G. jasminoides* with 1 leaf and 1 bud as explants, using 2 kinds of different substrate including perlite and vermiculite, NAA at 5 kinds of concn. (0, 300, 500, 800, 1 000 mg/L) was used to treat explants. And the leaf photosynthetic rate, transpiration rate and stomatal conductance were determined after the leaf expansion of explants. [Result] The substrate types had no significant effect on the rooting of explants in *G. jasminoides*. Among 5 concn., NAA at 500, 800 and 1 000 mg/L all had certain effects on the rooting of explants and the effect of NAA at 800 mg/L was significant. The transpiration rate and stomatal conductance of the leaves after leaf was expanded for 20 d had little difference with that of firstly expanded leaves, but its photosynthetic rate was obviously higher than that of firstly expanded leaves. [Conclusion] The rooting rate of explants in *G. jasminoides* was not related with the types of culture substrate, but it was related with hormone concn.

Key words Non-tissue culture micro-propagation; Substrate; Hormone; Photosynthetic rate

植物非组织培养快繁技术是在人工创造的适宜环境下,发挥植物自身的光合作用进行植物自养,进而发育成完整植株的过程。外植体大小介于扦插与组织培养之间[1],多带有具光合能力的叶片。发达国家研究应用较多,称光自养微繁殖技术,我国的应用刚刚起步。笔者以大花栀子为试材,探讨了蛭石、珍珠岩两种不同基质中,不同激素浓度对外植体生根和生理活性的影响,为大花栀子非组培微体快繁与田间生产相结合提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 选择生长健壮、充分木质化、无病虫害的1年生枝条,剪取0.3~1.0 cm长,带一叶一芽的短枝作外殖体,激素选用NAA。

1.2 方法

1.2.1 苗床制备。苗床底部均匀铺设电热线,分别选用珍珠岩、蛭石两种基质制备。苗床温度控制在25 ℃。

1.2.2 试验设计。试验设蛭石、珍珠岩2种基质水平,激素NAA 5种浓度水平(0、300、500、800和1 000 mg/L),共10个处理,每个处理取20个外植体;200个外殖体为一区组,3次重复。将基质材料于2006年4月初放置于预先准备好的苗床内,苗床选在光照充足的地方,并用塑料拱棚覆盖以保持空气湿度。拱棚内架设雾化喷头进行空气加湿及基质加湿。外植体进行激素速蘸处理后均匀分布在苗床上,只露出叶柄及叶片。日照时间内每隔6 h喷雾1次,从4月初至10月进行试验处理测定。

1.2.3 检测。利用CIRA-Ⅱ光合速率测定仪(英国PP-Systems)测定外植体生根后生物学反应。

2 结果与分析

2.1 不同基质和NAA浓度对大花栀子外植体生根率的影响 差异显著性分析表明(表1),两种不同基质珍珠岩、蛭石对大花栀子外植体生根率的影响无显著差异;NAA 5种浓度中,以A_4生根率最高,A_1生根率最低。A_4与A_2、A_3、A_5差异显著,表明不同浓度NAA对大花栀子外植体的生根有一定的影响,尤其以800 mg/L影响显著,而不同的基质类型对大花栀子外植体生根率无显著影响。

表1 不同基质和NAA浓度对大花栀子外植体生根率的影响

Table 1 Effects of substrate and NAA concentration on the rooting rate of cape jasmine explants %

NAA浓度 NAA concentration//mg/L	基质类型 Substrate type		平均生根率 Average rooting rate
	珍珠岩 Perlite	蛭石 Vermiculite	
A_1 0	7.2	5.1	6.1 dD
A_2 300	27.0	36.3	31.6 cC
A_3 500	54.4	51.2	52.8 bB
A_4 800	93.1	88.7	90.9 aA
A_5 1 000	45.6	40.3	43.0 bBC

注:同列不同大、小写字母分别表示在0.01和0.05水平差异显著。

Note: Different capital letters and lowercases mean significant differences at 0.01 and 0.05 levels.

2.2 生根后的生物学反应

2.2.1 生根后的大花栀子外植体叶片初展期的光响应曲线。由图1可知,叶片展开初期光合速率在高光照强度下变化不是很明显,只在300 μmol/(m²·s)时有一微小高峰,光照强度800~1 400 μmol/(m²·s)范围内,光合速率没有明显变化。

2.2.2 生根后的大花栀子外植体新、老叶片光合速率对比。由表2可知,光照强度为1 000 μmol/(m²·s)时,新老叶片的蒸腾速率与气孔导度相差甚微,但光合速率相差明显。这是

(下转第7230页)

基金项目 河北工程大学院青年基金。

作者简介 田春雨(1976-),男,河北承德人,讲师,从事园林植物研究。

收稿日期 2008-04-14

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.3 化合物Ⅲ 白色粉末;IRν_{max}^{KBr} (cm^{-1}):3 600,3 400,3 075,2 930,2 840,1 690,1 640,1 595,1 465,1 380,1 270,890;EIMS m/z(%):316[M^+],287,257,241,167,149,121,81;^{1}H-NMR(400 MHz,$CDCl_3$)δ:0.67,1.24,4.51(s),6.32(m);^{13}C-NMR(125 MHz,$CDCl_3$)δ:39.00(C-1),19.86(C-2),37.89(C-3),44.15(C-4),56.33(C-5),26.02(C-6),38.70(C-7),147.95(C-8),55.78(C-9),40.37(C-10),22.23(C-11),28.95(C-12),30.80(C-13),146.99(C-14),139.02(C-15),115.48(C-16),113.13(C-17),106.41(C-18),29.29(C-19),184.23(C-20),12.75(C-21)。该化合物的 NMR 数据与化合物Ⅰ非常相似,仅在 30.80 ppm 处多了 1 个亚甲基的信号;它们的红外光谱和质谱数据是一致的;根据以上分析,该化合物被鉴定为 20-羧基-8(18)-14(17)-15-赖伯当三烯。

2.4 化合物Ⅳ 白色粉末;IRν_{max}^{KBr} (cm^{-1}):3 380,3 070,2 960,2 920,2 840,1 640,1 460,1 440,1 380,1 360,890;EIMS m/z(%):290[M^+],272(20),257(45),203(34),149(55),95(100),81(88);^{1}H-NMR(400 MHz,C_5D_5N)δ:0.68,0.80,0.87,1.25,1.67,4.15,4.48,4.82,5.38(t);^{13}C-NMR(125 MHz,C_5D_5N)δ:40.02(C-1),19.82(C-2),42.48(C-3),33.80(C-4),56.67(C-5),24.86(C-6),38.97(C-7),149.02(C-8),55.65(C-9),40.02(C-10),22.42(C-11),38.71(C-12),137.60(C-13),126.15(C-14),59.14(C-15),16.60(C-16),106.81(C-17),33.80(C-18),22.03(C-19),14.85(C-20)。该化合物的波谱数据与化合物Ⅱ非常相似,区别是在 64.39 ppm 处少了 1 个羟甲基碳的信号,而在 33.80 ppm 处多了 1 个甲基碳的信号;IR 给出了偕二甲基的信号(1380,1360 cm^{-1}),羟基的吸收峰弱于化合物Ⅱ。由 NMR 和 IR 数据鉴定化合物Ⅳ为 15-羟基-8(17)-13(E)-赖伯当二烯。

2.5 化合物Ⅴ 白色针晶;mp:245~247 ℃;其碳谱与氢谱的数据与文献[4]报道的柳杉酚一致。

2.6 化合物Ⅵ 白色粉末固体;EIMS m/z(%):298[M^+],157(35),97(65),83(100);IRν_{max}^{KBr} (cm^{-1}):3 300,3 210,2 950,2 910,2 840,1 470,1 378,720;^{1}H-NMR(400 MHz,$CDCl_3$)δ:3.56(1H),1.22~1.4(m),0.85(3H,t);^{13}C-NMR(125 MHz,$CDCl_3$)δ:72.01(d),37.48(t),31.90(t),39.68(t),29.33(t),25.64(t),22.66(t),14.07(q);由此鉴定为 10-羟基-二十烷。

2.7 化合物Ⅶ 白色片状固体;mp:138~139 ℃;其薄层层析与标准品 β-谷甾醇在同一张硅胶板上的 R_f 值相同,均为 0.62(氯仿),它们的混合熔点不降低,该化合物确定为 β-谷甾醇。

2.8 化合物Ⅷ 淡黄色粉末固体;EIMS m/z(%):422[M^+],281(3),279(3),211(10),99(25),85(85),71(99),57(100),43(10);^{1}H-NMR(400 MHz,$CDCl_3$)δ:1.56,1.4-1.1(m),0.86(t);^{13}C-NMR(125 MHz,$CDCl_3$)δ:31.93(d),29.69(t),29.35(t),22.67(t),14.04(q);由此鉴定为 10-壬基-二十一烷。

2.9 化合物Ⅸ 黄色针晶,^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 等光谱数据与文献[5]报道的槲皮素一致。

参考文献

[1] XIE J L,DAI Z Q,YU D X,et al.The chemical constituents of essential oil from leaves of *Juniperus formosana* Hayata [J].J Yunnan Univ,1994,16(2):44-48.

[2] CHEN H F.Dictionary of a ctive constituents from plant [M].Vo l II.Beijing:China Medico -Pharmaceutical Science and Technology Publishing House,2001.

[3] CHEN H Y,LIN N Y,XIE J L,et al.Two new oxygenated diterpenoids from *Juniperus formosana* [J].Chin Tradit Herb Drugs,2004,35(4):368-370.

[4] GONG Y H.^{13}C-NMR chemical shift of natural organic compounds [M].Kunming:Yunnan Science and Technology Publishing House,1986.

[5] KIM H J,WOO E R,PARK H .A novel lignan and flavonoids from *Polygonum aviculare*[J].J Nat Prod,1994,57(5):581-586.

(上接第 7205 页)

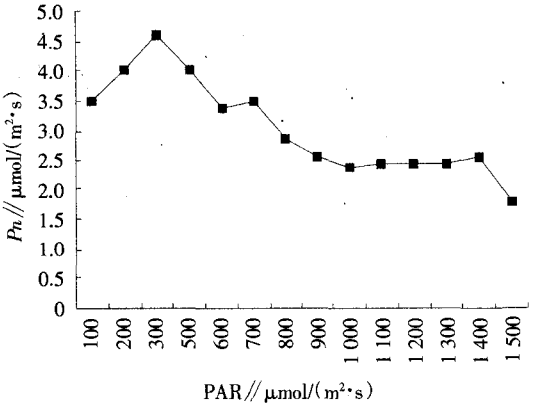

图 1 大花栀子外植体叶片初展期的光响应曲线

Fig. 1 Light-light curve at leaf primary expansion stage of cape jasmine explants

由于展叶初期叶片幼嫩,光合机能较弱,随着叶片的逐步成熟,光合机能逐步得到完善。

3 小结

培养基质种类对大花栀子非组培微体快繁外殖体生根率无显著影响,而与激素浓度密切相关[2-4]。不同激素浓度对外植体生根影响显著,试验表明,最适生根激素浓度在 800 mg/L 左右。外植体生根后初展叶期叶片光合速率稍弱,约 20 d 内逐渐增强,此后基本稳定。

表 2 生根后大花栀子外植体新、老叶片光合速率对比

Table 2 Comparison of photosynthetic rates of new and old leaves of cape jasmine explants after rooting

日期 Date	光照强度 Light intensity μmol/(m²·s)	蒸腾速率 Transpiration rate mmol/(m²·s)	气孔导度 Stomatal conductance mol/(m²·s)	光合速率 Photosynthetic rate μmol/(m²·s)
初展叶期 Leaf primary expansion stage	1 000	1.0	48.33	3.9
展叶 20 d Leaf expansion for 20 d	1 000	1.1	48.67	7.6

参考文献

[1] 留秀林.植物非试管快繁技术与传统扦插技术的异同[J].农业新技术,2005(3):20.

[2] 李福秀,包世勇,王世民.不同基质与激素对北美红杉嫩枝扦插生根的影响[J].西南林学院学报,2003,23(3):13-16.

[3] 齐慧霞.不同基质条件对草莓生长和结果的影响[J].北方园艺,2002(6):58-59.

[4] 文璨,傅华龙,卿人韦,等.不同温度和激素浓度对春兰部分生理活动的影响[J].四川大学学报:自然科学版,2005,42(1):171-174.