

文章编号: 1000-5692(2006)06-0701-04

花叶络石的组织培养

高燕会¹, 童再康¹, 黄华宏¹, 郭福起², 郁重彦¹

(1. 浙江林学院 林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300; 2. 浙江永康市木材检查站, 浙江 永康 321300)

摘要: 通过对植物生长调节物质种类、质量浓度及配比对花叶络石 *Trachelospermum jasminoides* 'Variegatum' 茎段和腋芽诱导、增殖、腋芽增殖、最佳继代时间和生根的影响进行探讨, 旨在建立花叶络石组织培养的再生体系, 为其产业化生产提供技术平台。结果表明: 花叶络石较理想的腋芽诱导培养基为 $MS + BA 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其诱导率为 88%; 最佳的腋芽增殖培养基为 $MS + BA 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 增殖系数为 6, 继代周期以 25 d 为佳, 最佳的生根培养基为 $1/2MS$ 或 $1/2 MS + BA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 生根率均达到 90% 以上。表 4 参 6

关键词: 植物学; 花叶络石; 组织培养; 快速繁殖; 生根**中图分类号:** Q943.1; S722.3 **文献标识码:** A

随着我国经济水平的迅速提高, 城镇化建设的快速发展, 高层建筑、立交道路和山体断面的绿化已成为人们关注的焦点, 攀援、垂吊式植物越来越受人们的青睐^[1-4]。花叶络石 *Trachelospermum jasminoides* 'Variegatum', 属于夹竹桃科 Apocynaceae 络石属 *Trachelospermum*, 是近年从日本引进的优良色叶植物。花叶络石为常绿木质藤本, 叶椭圆形至卵椭圆形, 整个植株叶片由粉色叶、白色叶、白底绿斑叶、绿底白斑叶和绿色叶组成, 叶色丰富, 色彩斑斓, 酷似花, 非常漂亮, 且观赏期长, 是攀援、垂直等立体绿化的好材料。花叶络石常用扦插及压条方式繁育种苗, 但繁殖系数低, 繁苗速度慢, 满足不了生产的需求, 而且多代扦插容易造成性状退化, 采用组织培养技术则可以有效地克服这些缺点^[5]。因此, 开展花叶络石组培快繁技术研究, 对优良种质资源保存及对实现优良品种工厂化生产具有十分重要的意义。

1 材料和方法

1.1 材料

花叶络石 1 年生枝上的茎尖、茎段。

1.2 方法

选取生长健壮、无病害的花叶络石 1 年生枝的茎段和顶芽为外植体。外植体先用自来水冲洗干净, 切除叶片, 在洗洁精溶液中浸泡 0.5 h, 用软毛刷轻轻刷洗。注意不要损伤腋芽, 冲洗干净后在流动的清水中浸泡 0.5 h, 用滤纸吸干外植体表面的水分, 然后在无菌条件下, 用体积分数为 75% 的

收稿日期: 2006-05-12; 修回日期: 2006-07-22

基金项目: 国家科学技术部“948”项目(2003-39)

作者简介: 高燕会, 讲师, 从事植物生物技术等研究。E-mail: gaoyanhui408@126.com

乙醇灭菌 30 s, 再用 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的升汞溶液浸泡 8 min, 其间要不断摇动, 灭菌后用无菌水冲洗 4~5 次, 然后将茎段切成带 1 个节的小段, 接种到各种不同的培养基上, 于培养室内进行培养。当腋芽长至 2~3 cm 时, 将其切割下来进行继代培养。

1.3 培养基

基本培养基为 MS 或 1/2MS, 附加 2 种植物生长调节物质, 即 6-苄基氨基嘌呤(BA)和 α -萘乙酸(NAA)。选择多种不同质量浓度的组合, 进行花叶络石腋芽诱导、增殖和生根对比试验。

1.4 培养条件

培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 每天光照时间 16 h, 光照强度为 2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 腋芽的诱导

由表 1 可知, 在不添加任何植物生长调节物质的 MS 基本培养基上腋芽不能启动。因此, 附加一定种类和质量浓度的植物生长调节物质对花叶络石腋芽的诱导具有非常重要的作用。在这项实验中, 当 NAA 质量浓度始终保持在 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, BA 质量浓度为 $0.1 \sim 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 随着 BA 质量浓度增加, 腋芽诱导率明显提高, MS + BA $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为花叶络石茎段腋芽诱导率最高的培养基。但芽愈合化明显, 并随培养时间的增长, 愈合化程度增强, 以至于整个芽体的愈合化, 不利于诱导芽后期的生长。因此, MS + BA $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为茎段腋芽诱导的最适培养基。

表 1 植物生长调节物质种类、质量浓度及对比对花叶络石腋芽诱导的影响

Table 1 Effect of types, concentrations and combination of plant growth regulators on induction of axillary buds in *Trachelospermum jasminoides* 'Variegatum'

培养基	接种数/个	腋芽诱导率/%	芽生长状态
MS	50	0	—
MS + BA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	26	生长极缓慢
MS + BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	60	生长极缓慢
MS + BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	66	生长较快
MS + BA $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	88	生长快
MS + BA $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	90	生长较快, 芽基愈合化明显

2.2 继代培养的时间对花叶络石腋芽增殖的影响

在继代培养过程中, 对接种于同一培养基上的茎段在不同的时间段内丛生芽增殖情况进行观察和统计, 统计结果见表 2。由表 2 可知, 从芽增殖数看, 前 17 d 芽增殖数高于 17~25 d 芽增殖数, 25~33 d 芽数没有增加; 从芽茎的伸长速度看, 以 17~25 d 期间芽茎伸长明显, 且芽节数多, 25~33 d 芽茎停止伸长。因此, 继代周期以 25 d 为佳。

表 2 培养时间对花叶络石腋芽增殖的影响

Table 2 The effect of culture time on proliferation of axillary buds in *Trachelospermum jasminoides* 'Variegatum'

培养时间/d	接种数/个	芽增殖数/个	芽平均增殖数/个	芽生长状况
17	20	100	5.0	芽较幼嫩, 芽长为 0.5~1.5 cm, 1 个芽节或无芽节
25	20	120	6.0	芽伸长明显, 长 1.5~3.0 cm, 且具 2~3 芽节
33	20	120	6.0	与 25 d 时比芽长、芽节数几乎没变, 但叶子增大明显

说明: 培养基为 MS + BA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 不同质量浓度的 NAA 和 BA 对花叶络石腋芽增殖的影响

由表 3 可知, 生长素质量浓度对花叶络石腋芽的增殖有明显的影。在这项实验中, 当 BA 的质量浓度始终保持在 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NAA 质量浓度为 $0 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 当 NAA 质量浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,

腋芽分化数最多, 为 3.25 倍, 且芽伸长的速度最快。同时, 也可以看出花叶络石对 NAA 的适应范围比较窄。当 NAA 质量浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, BA 质量浓度为 $1.0 \sim 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 随着 BA 质量浓度的增加, 芽增殖数提高, 当 BA 质量浓度为 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 芽时, 增殖系数最高, 即为 6.5, 但在此培养基上培养芽基愈化明显, 不利于芽的生长, 甚至芽体解体。BA 质量浓度为 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时芽增殖系数为 6.0, 且芽生长健壮。因此, 花叶络石芽增殖的最佳培养基为 $\text{MS} + \text{BA } 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 3 NAA 和 BA 对花叶络石腋芽增殖的影响

Table 3 The effect of NAA and BA on proliferation of axillary buds in *Trachelospermum jasminoides* 'Variegatum'

培养基及配比	接种数/个	芽增殖数/个	芽平均增殖数/个	芽生长状况
$\text{MS} + \text{BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	20	18	0.9	芽生长较缓慢
$\text{MS} + \text{BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	20	65	3.3	芽生长快且健壮
$\text{MS} + \text{BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	20	56	2.8	芽生长较快, 茎基愈化明显
$\text{MS} + \text{BA } 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	20	120	6.0	芽生长快且健壮
$\text{MS} + \text{BA } 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	20	130	6.5	芽生长健壮, 但芽基愈化明显

说明: 继代培养 25 d 观察的结果。

2.4 生根培养

当芽长到 $2.0 \sim 3.0 \text{ cm}$ 时, 切取芽枝进行生根培养。由表 4 可知, $1/2 \text{ MS} + \text{BA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基为诱导生根较为合适的培养基, 生根率为 90%。单独使用植物生长调节物质有利于愈伤组织的形成, 但不利于根分化。

表 4 植物生长调节物质对花叶络石生根的影响

Table 4 The effects of the plant growth regulators on rooting of *Trachelospermum jasminoides* 'Variegatum'

培养基及配比	生根率/%	生根数/条
$1/2 \text{ MS}$	60	1~2
$1/2 \text{ MS} + \text{BA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	90	2~3
$1/2 \text{ MS} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0	芽枝基部均长满愈伤组织

说明: 培养 30 d 时观察的结果。

3 讨论

在组织培养中, 植物生长调节物质对培养物的影响很大, 只有配备合适的培养基才能诱导细胞分裂的启动, 愈伤组织的生长、分化以及根芽器官的发生。在一定的范围内, 不同的植物生长调节物质组合对愈伤组织分化的影响不同^[5]。这项实验的研究结果表明, 在组织培养的过程中, 花叶络石对 NAA 的反应比较敏感, 适应范围比较窄, 为 $0 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。但在含有 $\text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上连续多代的继代培养, 会导致培养物的严重愈化, 这可能与培养物自身体内生长素的积累有关, 因此在组织培养的过程中要适时调整 NAA 的质量浓度; 但对 BA 的适应范围相对比较宽, 为 $0 \sim 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 并随 BA 质量浓度的增加芽增殖系数有所提高, 但在 $\text{BA } 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上培养, 若不时转入降低 BA 质量浓度的培养基中培养, 会导致整个芽茎的完全愈化, 使整个芽茎解体。因此, 在采用高质量浓度细胞分裂素进行腋芽诱导时, 要特别注意芽体的变化, 适时转化培养基, 才能达到培养的目标。

花叶络石叶色丰富。由于在组织培养过程中, 容易产生不同程度的体细胞变异, 所以, 在离体器官直接形成不定芽的方法应用于一个具有遗传嵌合性的品种上时, 会导致嵌合体裂解, 从而出现纯型植株的风险^[6]。这项实验的结果也有这样的表现。因此, 在繁殖方式上选用增强腋芽生枝能力方法较为安全。

