

美国流苏离体胚的组织培养与快速繁殖

吴秀燕, 张鸽香*

南京林业大学风景园林学院, 南京210037

摘要: 以美国流苏成熟种胚为材料, 探讨不同培养基及植物生长调节剂对其萌发和植株再生的影响, 并对无菌苗茎段和叶片进行诱导增殖和生根研究。结果表明: 胚萌发适宜培养基为WPM+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA, 萌发率达96.3%, 成苗率73.9%, 平均苗高6.51 cm。茎段诱导不定芽适宜培养基为WPM+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA, 诱导率达到86.8%, 繁殖系数为5.77。叶片愈伤组织诱导适宜培养基为WPM+3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ 2,4-D, 诱导率达到45.0%。适宜的生根培养基为1/2MS+1.0 mg·L⁻¹ IBA+0.5 mg·L⁻¹ NAA, 生根率达到89.8%, 平均主根长为3.03 cm。移栽率成活率为87%。

关键词: 美国流苏; 离体胚; 组织培养; 快速繁殖

美国流苏(*Chionanthus virginicus*)是木犀科(Oleaceae)流苏树属(*Chionanthus*)的落叶乔木, 原产美国东南部, 具有很高的观赏价值、经济价值和药用价值。树形典雅(图1-A), 花枝美丽, 花期初夏, 花量十分繁茂, 花冠白色, 4瓣, 深裂成丝条状, 花形纤细, 丝丝缕缕恰如“流苏”一般, 秀丽可爱(图1-B), 秋色叶有时呈亮黄色或金黄色, 可将其配置于水边, 也可用于城市园林景观布置和建筑物周围绿化, 在北美地区广泛应用于庭院、公园和道路绿化(钱又宇和薛隽2009)。同时, 作为食品与化妆品的天然原料, 其经济价值极高(Gülçin等2006)。此外, 美国流苏树的树皮、根皮中含有抗氧化剂总裂环烯醚萜苷, 被作为顺势疗法药物可治疗黄疸和肝炎, 具有很高的药用价值(Boyer等2011)。

近年来, 我国在流苏树的组培快繁、栽培与开发利用等方面取得了一定成就。以流苏树种胚为试材, 研究了不同种类及浓度的植物生长调节剂对其无菌体系建立, 侧芽茎段伸长以及生根的影响(王鑫和孔祥生2014)。用半木质化枝条为扦插材料, 研究植物生长调节剂种类和浓度、处理时间、留叶量对流苏树嫩枝扦插生根的影响, 生根过程中插穗韧皮部、叶片可溶性糖和淀粉含量的变化表明, 采用植物生长调节剂可促进插穗营养物质的积累、缩短生根周期(巍巍和张鸽香2015)。国内对美国流苏种子的休眠特性进行了研究(孟玲玲和张鸽香2015), 发现美国流苏种子在经酸蚀处理后可以有效提高种子萌发率(张鸽香和孟玲玲2015)。美国流苏通常采用种子或扦插等传统的繁殖方法, 在国内繁殖材料稀缺, 也难以解决大规模绿化应用的需要, 组培快繁无疑是推进美国流苏种苗产业化进程的重要途径。本研究对美国

流苏进行组织培养研究, 期望以此加快美国流苏引种和人工栽培的步伐, 培育出高质量的美国流苏种苗。

材料与方法

1 试验材料

试验所用美国流苏(*Chionanthus virginicus* Linn.)种子于2015年11月从美国密苏里州进口。

2 试验方法

2.1 外植体消毒

选取美国流苏成熟种子去掉坚硬种壳, 将去壳后的种子用洗洁精溶液浸泡20 min→流水冲洗30 min→2%的84消毒液中浸泡24 h→75%乙醇消毒3 min→0.1% HgCl₂消毒5、10、15、20、30和40 min, 无菌水冲洗4~5遍后用无菌滤纸吸去水分置于无菌瓶中备用, 每个处理接种60个胚。比较不同消毒时间的灭菌效果, 统计污染率和成活率。

2.2 离体胚的萌发与成苗

2.2.1 基本培养基的筛选

取上述消毒后洗净的种子在超净工作台上剥取离体胚, 以离体胚为外植体, 采用以下三种培养基进行萌发诱导: (1) MS; (2) WPM; (3) B₅。每个处理重复3次, 每个重复接种20瓶, 每瓶接种3个胚。萌发的标准是指子叶膨大变绿, 幼根超过该胚长度, 15 d后统计萌发率, 筛选出最适萌发启动培养基。

收稿 2016-11-22 修定 2017-01-04

资助 国家林业局“948”项目(2014-4-17)和江苏省高校学科建设工程资助项目(PAPD)。

* 通讯作者(E-mail: nld_zhang@njfu.com.cn)。

2.2.2 植物生长调节剂筛选

将剥取的种胚分别接入以下6种含不同浓度及组合植物生长调节剂的WPM培养基中: (1) $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA; (2) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA; (3) $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA; (4) $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (5) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (6) $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA。每个处理重复3次, 每个重复接种20瓶, 每瓶接种3个胚。15 d后统计萌发率和成苗率。

2.3 无菌苗茎段不定芽诱导

以培养60 d的美国流苏无菌苗茎段为材料, 切成1.5~2.0 cm长度的茎段, 依次接入以下9种含有植物生长调节剂的WPM培养基中: (1) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT; (2) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ; (3) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA; (4) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT+ $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (5) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ+ $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (6) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (7) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT+ $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA; (8) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ+ $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA; (9) $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ 0.2

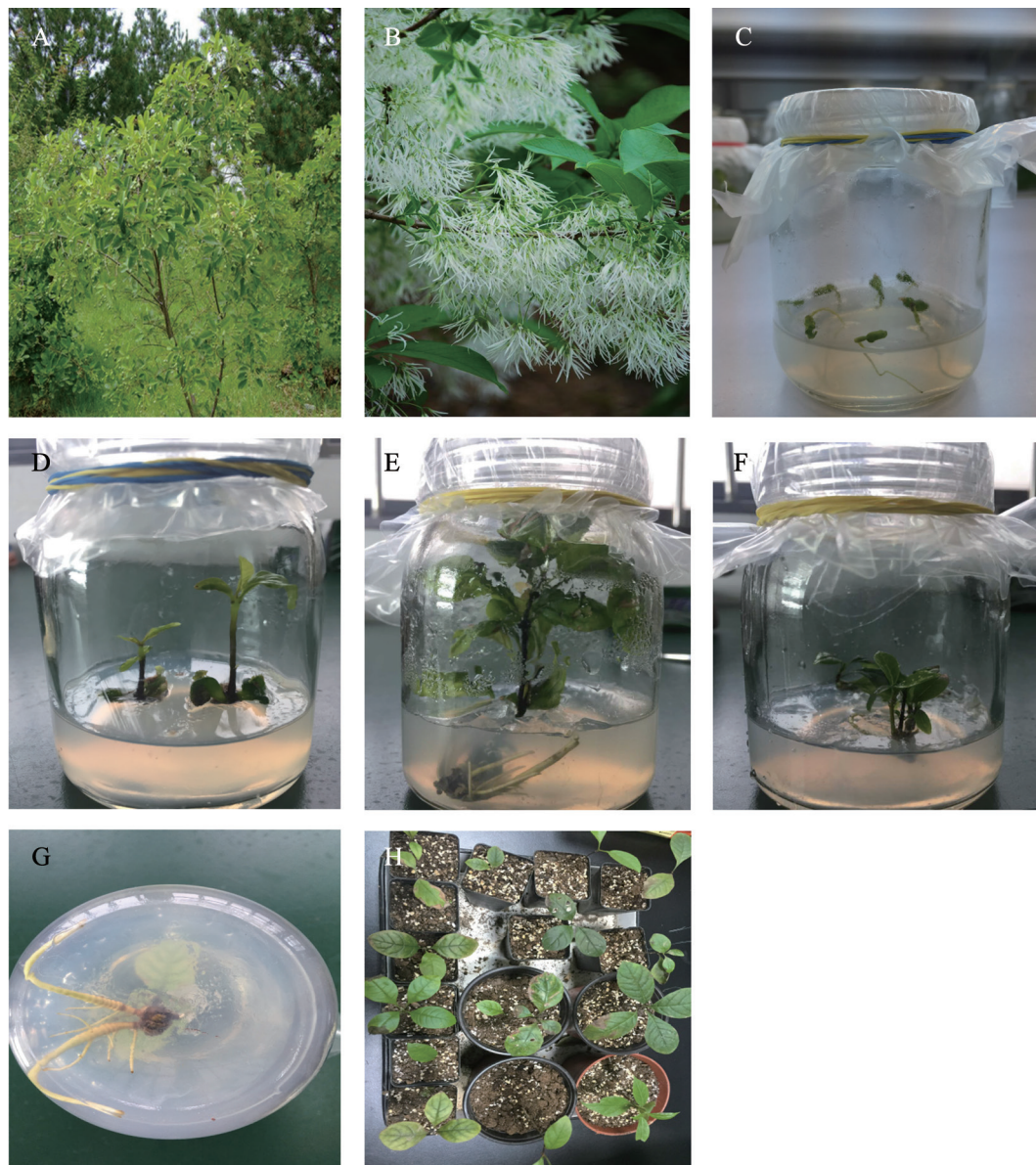


图1 美国流苏的组织培养与植株再生

Fig.1 Tissue culture and plant regeneration of *C. virginicus*

A: 美国流苏树形; B: 美国流苏花型; C: 离体胚培养; D: 胚萌发的幼苗; E: 形成完整无菌苗; F: 茎段诱导不定芽苗; G: 生根苗根系; H: 炼苗移栽。

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA。每个处理重复3次, 每个重复接种20个外植体。30 d后观察结果, 记录不定芽诱导率, 繁殖系数, 以及不定芽生长状况。

2.4 无菌苗叶片愈伤组织诱导

以培养60 d的美国流苏无菌苗叶片为材料, 切割成 $0.5\text{ cm}\times 0.5\text{ cm}$ 左右大小, 剪去边缘, 避开叶脉, 分别接种于以下11种含不同浓度及组合的植物生长调节剂WPM培养基中: (1) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA; (2) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ; (3) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT; (4) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (5) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ+ $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (6) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT+ $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (7) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D; (8) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ+ $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D; (9) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT+ $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D; (10) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D; (11) $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ+ $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D。每个处理重复3次, 每个重复接种20个叶块。30 d后观察结果, 记录愈伤组织诱导率及愈伤生长状况。

2.5 生根培养

选择继代培养中生长健壮而无根苗, 接种到以下6种诱导生根培养基中: (1) $1/2\text{MS}+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA; (2) $1/2\text{MS}+2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA; (3) $1/2\text{MS}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (4) $1/2\text{MS}+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (5) $1/2\text{MS}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA+ $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (6) $1/2\text{MS}+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA+ $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA。每个处理接种20瓶, 30 d后统计生根率。

2.6 炼苗移栽

将培养60 d的无菌苗进行移栽, 将小苗从培养基中取出, 用流水洗净苗根的培养基, 栽植到珍珠岩、蛭石、营养土体积比为1:1:1的基质中, 用保鲜膜罩起来, 保证温湿度及光照条件。

2.7 培养条件

培养基均附加蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、琼脂 $7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、pH 5.8。培养温度 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$; 光照强度 $30\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光照时间为 $12\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

2.8 数据处理与分析

外植体污染率=污染个数/接种个数 $\times 100\%$; 成活率=成活个数/(接种个数-污染个数) $\times 100\%$; 萌发率=未污染萌发胚数/未污染总胚数 $\times 100\%$; 成苗率=未污染正常苗数/未污染总胚数 $\times 100\%$; 不定芽诱导率=诱导出不定芽的茎段个数/接种茎段总数; 繁殖系数=诱导后不定芽总数/原接种茎段总数; 愈伤组织诱导率=诱导出了愈伤的外植体数/外植体

总数; 生根率=生根苗数/接种苗数 $\times 100\%$ 。

试验数据采用SPSS 19.0和Excel 2007软件进行统计分析。

实验结果

1 消毒时间对外植体灭菌效果的影响

由图2可以看出, 0.1% HgCl_2 灭菌30 min效果最好, 成活率达89.0%, 污染率为7.8%, 随着时间的延长, 成活率逐渐下降, 污染率接近于0。当灭菌时间为40 min时, 外植体失去活力。

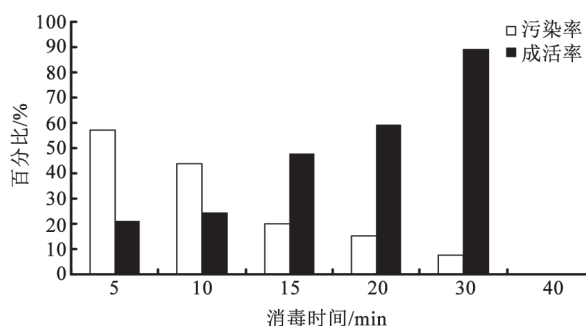


图2 消毒时间对外植体灭菌效果的影响

Fig.2 Effects of sterilizing time on explants sterilization

2 离体胚的萌发与成苗

2.1 基本培养基筛选

美国流苏离体胚在MS和WPM培养基上都能完成启动培养, 但在 B_5 培养基上难以萌发, 在MS、WPM、 B_5 三种培养基上的萌发率分别为53%、76%、3%。离体胚接种在WPM培养基3~5 d后, 胚根尖开始膨大, 下胚轴在8~10 d后开始转绿变弯, 子叶在15 d后伸展变绿, 下胚轴有明显伸长, 伸入培养基中(图1-C)。离体胚在培养25 d后开始长真叶, 伴随着明显的茎伸长(图1-D), 60 d后形成完整的植株(图1-E)。因此筛选出最适离体胚萌发启动培养的基本培养基为WPM培养基。

2.2 植物生长调节剂筛选

从表1可以看出, 植物生长调节剂的添加影响了离体胚的萌发与诱导, 6-BA浓度过高或过低时都不利于离体胚的萌发及成苗, $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA最利于离体胚的萌发及成苗, 萌发率和成苗率分别为96.3%和73.9%。有的离体胚虽然能萌发但子叶不能生长变绿, 形成不正常的小苗。并且6-BA和NAA协同作用时, 会形成紧密型愈伤组织, 反而抑

表1 不同植物生长调节剂对美国流苏离体胚萌发诱导

Table 1 Effects of different plant growth regulators on embryo germination induction *in vitro* of *C. virginicus*

植物生长调节剂浓度/mg·L ⁻¹		萌发率/%	成苗率/%	胚萌发平均苗高/cm	苗生长状况
6-BA	NAA				
1.0	0	96.30±0.85 ^a	73.9±0.87 ^a	6.51±0.09 ^a	小苗生长较快, 长势较好
2.0	0	72.07±3.75 ^b	59.3±1.21 ^b	5.30±0.23 ^b	小苗茎伸长不明显
3.0	0	53.70±1.67 ^c	47.2±0.98 ^c	2.69±0.24 ^c	小苗长势弱, 展叶慢
1.0	0.1	76.10±3.23 ^b	45.4±1.73 ^c	5.32±0.31 ^b	少量愈伤, 小苗生长缓慢
2.0	0.1	60.01±1.15 ^c	23.9±2.31 ^d	2.36±0.64 ^c	有紧密愈伤形成, 长势弱
3.0	0.1	35.82±4.10 ^d	13.1±1.27 ^e	2.15±0.24 ^c	大量紧密愈伤, 难以成苗

表中数据为3个重复的平均值±标准误, 同列数据标有不同字母表示有显著差异($P<0.05$)。下表同此。

制了离体胚的成苗生长。

3 无菌苗茎段不定芽诱导

由表2可以看出, 在培养基中单独使用KT、TDZ和6-BA时, 茎段都能诱导出不定芽, 其中诱导率最高的是6-BA, 诱导率达到73%, 繁殖系数为

4.13。当这些细胞分裂素和生长素NAA、IBA配合使用时, 诱导率和繁殖系数提高, 其中以2.0 mg·L⁻¹ 6-BA配合使用0.2 mg·L⁻¹ NAA的效果最好, 诱导率达到86.8%, 繁殖系数为5.77, 芽苗生长状况良好(图1-F)。

表2 不同植物生长调节剂对美国流苏茎段诱导不定芽发生

Table 2 Effects of different plant growth regulators on stem segments inducing adventitious buds of *C. virginicus*

植物生长调节剂浓度/mg·L ⁻¹	不定芽诱导率/%	繁殖系数	芽苗生长状况
KT 2.0	37.70±2.65 ^{de}	2.33±0.62 ^{cd}	生长状况良好
KT 2.0+NAA 0.2	51.13±3.35 ^c	2.93±0.50 ^{bcd}	叶片、茎干透明, 部分玻璃化
KT 2.0+IBA 0.2	40.90±2.62 ^{de}	2.20±0.87 ^d	叶片、茎干透明, 苗玻璃化
TDZ 2.0	29.20±1.68 ^f	1.60±0.53 ^d	基部愈伤化, 芽长势较差
TDZ 2.0+NAA 0.2	42.77±1.29 ^d	1.63±0.55 ^d	长势不佳, 有愈伤化
TDZ 2.0+IBA 0.2	34.77±1.93 ^{ef}	1.80±0.78 ^d	芽苗深绿色、纤细, 生长良好
6-BA 2.0	72.97±0.73 ^b	4.13±0.23 ^{abc}	生长状况良好
6-BA 2.0+NAA 0.2	86.83±1.71 ^a	5.77±0.26 ^a	芽苗深绿色、健壮, 生长良好
6-BA 2.0+IBA 0.2	71.83±1.86 ^b	4.67±0.74 ^{ab}	芽苗瘦弱, 生长状况不佳

4 无菌苗叶片愈伤组织诱导

由表3可知, 只添加细胞分裂素时, 叶片愈伤诱导率较低, 诱导效果6-BA>TDZ>ZT。叶片在WPM基本培养基条件下, 结合使用6-BA与2,4-D培养15 d, 叶片表面形成部分凸起; 培养30 d, 叶片形成浅绿色的愈伤组织, 较疏松; 将2,4-D浓度升高到0.5 mg·L⁻¹时, 诱导率最高达45.07%。当6-BA、TDZ、ZT与NAA结合使用, 叶片愈伤组织的诱导率都较低, 诱导得到的愈伤组织质量较差, 无法进一步分化。

5 生根移栽

从表4中可以看出, 在生根培养中, 选取1/2MS作为基本培养基, 其中不添加任何植物生长调节剂和只添加IBA和NAA的基本不生根。添加1.0

表3 不同植物生长调节剂对美国流苏叶片诱导愈伤组织的影响

Table 3 Effect of different plant growth regulators on induction of callus from leaf explants of *C. virginicus*

植物生长调节剂浓度/mg·L ⁻¹	愈伤组织诱导率/%	愈伤生长状况
6-BA 3.0	6.73±0.75 ^{ab}	褐色, 较硬
6-BA 3.0+NAA 0.2	20.47±2.77 ^c	深绿色, 较硬
6-BA 3.0+2,4-D 0.2	38.80±1.29 ^b	绿色, 疏松
6-BA 3.0+2,4-D 0.5	45.07±1.86 ^a	浅绿色, 疏松
TDZ 3.0	5.13±0.75 ^b	绿色, 较硬
TDZ 3.0+NAA 0.2	19.33±2.00 ^c	绿色, 较硬
TDZ 3.0+2,4-D 0.2	28.77±0.78 ^d	绿色, 疏松
TDZ 3.0+2,4-D 0.5	33.90±1.71 ^c	浅绿色, 疏松
ZT 3.0	0 ⁱ	无
ZT 3.0+NAA 0.2	12.03±1.94 ^f	深绿色, 坚硬
ZT 3.0+2,4-D 0.2	11.00±2.05 ^{ab}	绿色, 较紧密

表4 不同植物生长调节剂对美国流苏生根诱导的影响
Table 4 Effects of different plant growth regulators on root induction of *C. virginicus*

植物生长调节剂浓度/mg·L ⁻¹		生根率/%	平均主根长/cm	根系生长情况
IBA	NAA			
0	0.5	3.47±0.97 ^c	1.13±0.47 ^{bc}	主根少, 生长慢, 细; 无根毛; 无须根
0	1.0	6.43±0.99 ^c	0.87±0.35 ^c	主根少, 生长慢, 细; 无根毛; 无须根
0.5	0.5	55.86±5.16 ^b	1.77±0.31 ^b	主根较多, 生长慢, 细; 根毛较少; 须根少
1.0	0	7.46±1.92 ^c	1.07±0.32 ^{bc}	主根少, 生长较慢, 细; 无根毛; 无须根
1.0	0.5	89.83±3.22 ^a	3.06±0.37 ^a	主根多, 生长快, 粗壮; 根毛多; 须根多
2.0	0	3.93±1.23 ^c	0.73±0.49 ^c	主根少, 生长慢, 细; 无根毛; 无须根

mg·L⁻¹ IBA、0.5 mg·L⁻¹ NAA的培养基中, 在整个培养过程中无愈伤组织形成, 培养10 d左右时根原基开始形成, 培养30 d时平均主根长达3.06 cm (图1-G), 须根多, 生根率达89.8%。将培养60 d小苗从培养基中取出, 用流水洗净黏附在小苗根上的培养基, 移栽到珍珠岩、蛭石、营养土体积比为1:1:1的基质中, 保证温湿度及光照条件, 结果发现, 幼苗成活率达87% (图1-H)。

讨 论

木本植物组织培养首先是要确保所用材料无菌状态, 常见外植体消毒剂有次氯酸钠、乙醇、过氧乙酸、苯酚、升汞等(王利民等2002)。本研究用0.1% HgCl₂溶液对美国流苏去掉种壳的种子消毒30 min时, 灭菌效果最好; 而王鑫和孔祥生(2014)用0.1% HgCl₂溶液对流苏树种胚消毒2 min时, 灭菌效果最好。种胚相比较种子而言较为幼嫩, 容易受消毒剂侵染, 消毒时间较短。因此对外植体进行消毒处理以及消毒时间设计是必不可少的。不同植物材料适宜的诱导分化基本培养基也有所差异, 外源激素的种类、质量浓度和配比是最主要的因素之一(李霞等2005)。温瑀(2006)研究裂叶朝鲜丁香表明: 叶片愈伤组织培养的最适培养基为MS, 继代培养诱导不定芽的培养基为MS, 生根的最适培养基为1/2MS。本试验对美国流苏的离体胚进行了研究, 试验表明: 离体胚在WPM培养基上萌发率高。与MS、B₅培养基相比, WPM培养基含有无机盐浓度较低的特点, 更适于美国流苏离体胚, 以及后续的离体茎段及离体叶片的生长。这与王鑫和孔祥生(2014)对流苏树种胚萌发所用的WPM培养基相一致, 这可能与这两种植物同科同属亲缘关系近有关。

在植物离体快繁中, 植物生长调节剂是培养基中的关键物质, 其种类、用量及组合对培养物的诱导分化起重要作用。本试验发现WPM+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA最利于美国流苏离体胚的萌发及成苗, 在同科其它属的植物组织培养研究中也有类似的发现, WPM+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA有利于小叶丁香幼嫩不定芽的生长, 出芽率为90%以上(王贞和刘燕2006)。6-BA对于木本植物的再生是最有效的, 极低浓度的6-BA就能去除顶端优势诱导器官发生, 从而使得不定芽或侧芽直接在外植体上形成, 且具有与其他细胞分裂素相同的作用(Hueettman和Preece 1993)。本试验发现, 细胞分裂素和生长素共同使用对茎段不定芽诱导效果较好, 诱导率高达86.8%。用茎段建立快繁体系则具有发生过程简单、诱导时间短等优点, 在遗传母本材料特性的前提下, 能够较好地保持母本的生物学性状和经济性状。同时, 叶片愈伤诱导试验中, 2,4-D有利于美国流苏叶片愈伤组织的诱导, 2,4-D也运用于其他植物外植体叶片的愈伤诱导, 黄花倒水莲叶片在2.0 mg·L⁻¹ 2,4-D的MS培养基上培养分化成不定芽, 其他的均不能形成不定芽(杨国等2016)。诱导叶片愈伤组织在施用2,4-D的基础上, 另外添加了6-BA等, 对美国流苏叶片愈伤组织的质量和胚性作用很明显, 并可获得了较高的诱导率, 而单独使用6-BA、ZT等生长调节剂、对叶片愈伤组织的诱导作用不大, 可见叶片对不同生长调节剂的敏感性不同, 对其组合以及浓度的探讨对于叶片愈伤组织的诱导至关重要。本试验使用1/2MS来诱导生根培养, 这与王鑫和孔祥生(2014)所用的WPM有所不同, 这可能与地理隔离使两种植物遗传基因产生变异有关。单独使用NAA和IBA时, 生根诱导率都不是很高。IBA与NAA组合使用更有利于美国

流苏无菌苗的生根诱导,这与蚂蚱腿子试管苗生根诱导研究结果一致(王欢等2015)。在试验中遇到的材料污染、玻璃化等问题以及香蕉、马铃薯等添加物对离体胚培养结果的影响有待进一步研究。

本研究初步探讨了植物生长调节剂对离体胚和试管苗再生植株等方面的影响,为建立美国流苏组织培快繁体系奠定了理论和实践基础,因此积极引进美国流苏成熟种子和优良无性系,通过组织培养达到快速繁殖的目的,以扩大美国流苏的种植范围,对于提高地区的绿化景观和生物多样性具有重要意义。

参考文献

- Boyer L, Baghdikian B, Bun SS, Taoubi K, Diaz-Lanza A, Elias R, Ollivier E (2011). *Chionanthus virginica* L.: phytochemical analysis and quality control of herbal drug and herbal preparations. *Nat Prod Commun*, 6 (6): 753–800
- Gülçin İ, Elias R, Gepdiremen A, Boyer L (2006). Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginica* L.). *Eur Food Res Technol*, 223 (6): 759–767
- Huetteman CA, Preece JE (1993). Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant cell tissue culture. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 3 (3): 105–119
- Li X, Chen T, Zhou YL (2005). The comparison in tissue culture ability from mature embryo in indica and japonica rice cultivars. *J Nanjing Normal Univ (Nat Sci Ed)*, 28 (4): 103–108 (in Chinese with English abstract) [李霞, 陈婷, 周月兰(2005). 籼粳稻成熟胚愈伤组织培养力比较. *南京师范大学学报: 自然科学版*, 28 (4): 103–108]
- Meng LL, Zhang GX (2015). Causes of dormancy of *Chionanthus virginica* seed. *Guangdong Agric Sci*, (06): 35–39 (in Chinese with English abstract) [孟玲玲, 张鹤香(2015). 美国流苏种子休眠原因探析. *广东农业科学*, (06): 35–39]
- Qian YY, Xue J (2009). The world famous ornamental tree—*Chionanthus virginicus* and *Cladrastis kentukea*. *Garden*, (7): 66 (in Chinese) [钱又宇, 薛隽(2009). 美国流苏树、美国香槐. *园林*, (7): 66]
- Wang H, Liu Y, Yuan Y, Li X, Du FG (2015). Rapid propagation *in vitro* of *Myrica dioica*. *Plant Physiol J*, 51 (12): 2275–2279 (in Chinese with English abstract) [王欢, 刘洋, 苑禹, 李旭, 杜凤国(2015). 蚂蚱腿子离体快繁技术研究. *植物生理学报*, 51 (12): 2275–2279]
- Wang LM, Zhou Y, Chen LY, Zhang YB (2002). A study on the use of disinfectants in plant tissue culture. *J Guizhou Norm Univ (Nat Sci)*, (01): 15–17 (in Chinese with English abstract) [王利民, 周毅, 陈龙友, 张宇斌(2002). 植物组织培养中消毒剂的运用. *贵州师范大学学报(自然科学版)*, (01): 15–17]
- Wang X, Kong XS (2014). Tissue culture and rapid propagation of *Chionanthus retusus*. *Plant Physiol J*, 50 (10): 1510–1514 (in Chinese with English abstract) [王鑫, 孔祥生(2014). 流苏树的组织培养和快速繁殖. *植物生理学报*, 50 (10): 1510–1514]
- Wang Z, Liu Y (2006). Tissue culture and plantlet regeneration of *Syringa microphylla* Diels. *Plant Physiol Commun*, 42 (3): 487 (in Chinese with English abstract) [王贞, 刘燕(2006). 小叶丁香的组织培养及植株再生. *植物生理学通讯*, 42 (3): 487]
- Wei W, Zhang GX (2015). Study on softwood cutting of *Chionanthus retusus* and change of nutrient content during rooting period. *J Henan Agric Sci*, (10): 127–131 (in Chinese with English abstract) [魏巍, 张鹤香(2015). 流苏树嫩枝扦插及生根营养物质的动态变化. *河南农业科学*, (10): 127–131]
- Wen Y (2006). Establishment of regeneration system cultured *in vitro* of *Syringa dilatata* Nakai. ‘Lacera’ [Master’s thesis]. Harbin: Northeast Forestry University (in Chinese with English abstract) [温瑀(2006). 裂叶朝鲜丁香(*Syringa dilatata* Nakai. ‘Lacera’)组织培养体系的建立[硕士论文]. 哈尔滨: 东北林业大学]
- Yang G, Luo J, Mo YW, Chen HF (2016). Tissue culture and rapid propagation *in vitro* of *Polygala fallax*. *Plant Physiol J*, 52 (03): 349–355 (in Chinese with English abstract) [杨国, 罗洁, 莫亿伟, 陈红锋(2016). 黄花倒水莲的组织培养和快速繁殖. *植物生理学报*, 52 (03): 349–355]
- Zhang GX, Meng LL (2015). The changes of seed structure in *Chionanthus virginicus* seed after acid treatment. *Jiangsu Agric Sci*, 43 (10): 245–247 (in Chinese) [张鹤香, 孟玲玲(2015). 美国流苏种子酸蚀处理后种子结构的变化. *江苏农业科学*, 43 (10): 245–247]

Study on embryo culture and rapid propagation *in vitro* of *Chionanthus virginicus*

WU Xiu-Yan, ZHANG Ge-Xiang*

College of Landscape Architecture, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

Abstract: Using the embryo of *Chionanthus virginicus* as the material, the effects of different concentrations and combinations of plant growth regulators on the germination and plantlet regeneration, stem segments and leaves induction of proliferation and rooting were discussed. The results showed that the suitable embryo rooting medium was WPM+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA, the germination rate was 96.3%, the seedling rate was 73.9%, embryo germination average height was 6.51 cm. the suitable medium for stem segments inducing adventitious buds was WPM+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA, The induction rate was 86.8%, the propagation coefficient was 5.77. The suitable medium for induction of callus from leaf explants was WPM+3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ 2,4-D, the induction rate was 45.0%, and the suitable rooting medium was 1/2MS+1.0 mg·L⁻¹ IBA+0.5 mg·L⁻¹ NAA, the rooting rate was 89.8%, and the average root length was 3.03 cm. And the survival rate was 87%.

Key words: *Chionanthus virginicus*; embryo; tissue culture; rapid propagation

Received 2016-11-22 Accepted 2017-01-04

This work was supported by “948” Project of the State Forestry Administration (Grant No. 2014-4-17) and Jiangsu Province College Discipline Construction Project (PAPD).

*Corresponding author (E-mail: nld_zhang@njfu.com.cn).