野生黄木香的离体培养及其再生体系研究*

余晓丽[1], 杜敏华[1], 朱红梅[2], 杨柯金[1]
(1. 南阳师范学院 生物系, 河南 南阳 473061;
2. 河南大学 校园管理处, 河南 开封 475001)

[摘 要] 以野生黄木香茎段为外植体, 探讨了不同生长调节物质对其不定芽诱导、增殖和生根的影响, 并建立了野生黄木香的高效再生体系。结果表明, 利于野生黄木香分化的诱导培养基为 MS+ $AgNO_3$ 3.0 mg/L + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L + 琼脂 6.5 g/L + 蔗糖 30 g/L; 以 MS+ $AgNO_3$ 3.0 mg/L + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.05 mg/L + 琼脂 6.5 g/L + 蔗糖 30 g/L 为增殖培养基时的增殖效果最好, 增殖倍数为 5.5; 黄木香高效的再生体系为 1/2 MS+ $AgNO_3$ 4.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L + 质量分数 0.2% 活性炭+ 琼脂 4.0 g/L + 蔗糖 20 g/L, 其生根率可达 95%。

[关键词] 野生黄木香; 不定芽; 快速繁殖; 植物生长调节剂
[中图分类号] S604+.3; Q949.751.8 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2005)09-0113-04

野生黄木香(*Rosa banksiae* f. *lutescecs* Vots.)属蔷薇科(Rosaceae)蔷薇属(*Rosa chinensis* Jacq.)半常绿攀援性灌木[1], 高可达 6 m。其根系和茎粗壮, 直立性强, 生长于高山林缘草甸地带, 有较强的抗寒性及抗病性。经考察、栽培后发现, 其非常适于用作树月季的砧木。在国内花卉市场上, 树月季因其稀少和形态的美丽, 市场前景十分看好。近些年来, 随着人们对树月季需求量的逐渐增加, 从而导致其理想砧木野生黄木香的用量也随之增大。目前, 人们大都直接从山上采伐黄木香砧木, 而野生黄木香常规繁殖系数又非常低[2], 长此以往必将导致其资源匮乏、生态破坏。而采用植物组织培养方法快速繁殖野生木香, 既可以保护自然资源, 又可以满足市场的需要。但截止目前, 尚未见野生黄木香组织培养的研究报道。为此, 本试验对生产树月季中应用较多的野生黄木香茎段进行了离体培养研究, 以期为黄木香的快速繁殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

野生黄木香采自河南内乡宝天曼自然保护区。

1.2 试验方法

1.2.1 野生黄木香无菌苗的获得 取当年生带腋芽的野生黄木香茎段, 流水冲洗 60 min 后, 用体积分数 75% 的酒精处理 5 s, 再用体积分数 0.1% 升汞溶液表面灭菌 6~10 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 接种于诱导培养基上。

1.2.2 不定芽诱导分化培养基的筛选 剪去无菌苗两端已褪色的组织, 将茎段切成 1~1.5 cm 长的小段, 接种于诱导分化的培养基上, 基本培养基为 MS+ $AgNO_3$ 3.0 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6.5 g/L, 添加的植物生长调节剂分别为 6-BA 0.5~2.0 mg/L + NAA 0.1~0.5 mg/L, pH 5.8, 每瓶接种 1 个茎段, 每个处理共接 30 瓶, 重复 3 次。培养室温度为(24±2) ℃, 光强约 2 500 lx, 每天光照 12 h。30 d 继代 1 次。在培养的 5, 11, 21 d 分别观察记录芽的萌发及丛生芽的生长情况。

1.2.3 不定芽增殖培养基的筛选 取无菌苗茎尖接种到增殖培养基上进行继代培养。基本培养基为 MS+ $AgNO_3$ 3.0 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6.5 g/L, 添加的植物生长调节剂分别为 6-BA 1.0~2.0 mg/L + NAA 0.05~1.0 mg/L, pH 5.8。培养条件同上, 30 d 继代 1 次。在增殖培养的 5, 11, 21 d 分别观察丛生苗的增繁、生长等情况。

1.2.4 生根培养基的筛选及移栽成苗 切取 1.5~2 cm 的不定芽接种于生根改良培养基(1/2 MS+ $AgNO_3$ 4.5 mg/L + 蔗糖 20 g/L + 琼脂 4.0 g/L + 质量分数 0.2% 活性碳)上, pH 5.8, 培养条件同

* [收稿日期] 2005-04-18
[基金项目] 河南省南阳市 2004 年科技攻关项目(200404016); 南阳师范学院 2003 年应用与科技开发项目(NYTC200318)
[作者简介] 余晓丽(1963-), 女, 河南南阳人, 副教授, 主要从事细胞生物学研究。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

上。生根苗炼苗后,移到栽培基质(蛭石+珍珠岩+沙,其体积比为 1∶1∶1)上继续生长。

2 结果与分析

2.1 野生黄木香不定芽诱导分化培养基的筛选

根据本中心实验室的前期研究成果,确定最佳的 $AgNO_3$ 浓度为 3.0 mg/L,将无菌外植体接种于 1~7 号分化诱导培养基上,培养结果见表 1。由表 1 可以看出,在不同植物生长调节物质处理中,1,2,3 和 4 号培养基长势较好,经诱导都能直接长出芽丛,但 2,3,4 号培养基的芽丛长势不如 1 号。在 4 号 30 瓶培养基中,有 15 瓶发育为丛生芽,另 15 瓶发育为愈伤组织,从而影响丛生芽的增殖倍数。在 3 号培养基中,发育的丛生芽基部伴有愈伤组织,且和丛生芽竞争营养,从而影响了丛生芽的生长。1 号培养基的侧芽 5 d 内即开始陆续萌动,11 d 时丛生芽长至 0.1~0.5 cm,21 d 时长至 0.5~1.5 cm,且每个茎段产生的丛生芽平均有 4.5 个,苗势青绿,生长健壮,且有利于继代,所以 1 号培养基对不定芽的诱导效果最佳。因此,野生黄木香外植体的诱导分化应在 6-BA 及 NAA 共同作用下,才能形成丛生苗。野生黄木香诱导分化培养基的最佳配方为 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L。

表 1 不同生长调节物质组合对野生黄木香不定芽诱导的影响

Table 1 Effect of combination of different PGR (plant growth regulator) on the induction of wild *Rosa banksiae* f. *lutescecs* Vots's adventitious buds

培养基编号 No.	6-BA/(mg·L⁻¹)	NAA/(mg·L⁻¹)	增殖倍数 Multiplication multiple	不定芽生长情况 Growth status of adventitious buds
1	1.5	0.5	4.5	不定芽再生,芽丛健壮 Adventitious buds regeneration and strong
2	2.0	0.5	3.5	不定芽萌动,伴有愈伤组织 Adventitious buds bourgeoning accompanied with some callus
3	1.5	0.1	4.3	不定芽萌动,伴有少量愈伤组织 Adventitious buds regeneration accompanied with few callus
4	1.0	0.1	2.6	一半不定芽萌动,芽健壮,其余为愈伤组织 Half adventitious buds regeneration, strong buds, the left half is callus
5	0.5	0.1	0.6	愈伤组织较松散,不定芽少 Callus is crumbly texture, few adventitious buds
6	0.5	0.5	0.3	不产生愈伤组织 No callus
7	1.0	0.5	0.3	不定芽萌发率低,愈伤组织较多 Low regeneration rate of adventitious buds, much callus

2.2 野生黄木香不定芽增殖培养基的筛选

将不定芽接种于 1~7 号增殖培养基上,培养结果如表 2 所示。

表 2 不同生长调节物质组合对野生黄木香不定芽增殖的影响

Table 2 Effect of combination of different PGR (plant growth regulator) on the multiplication of wild *Rosa banksiae* f. *lutescecs* Vots's adventitious buds

培养基编号 No.	6-BA/(mg·L⁻¹)	NAA/(mg·L⁻¹)	增殖倍数 Multiplication multiple	平均苗高/cm Average height	生长状况 Growth status
1	1.5	0	2.0	0.1~0.5	不定芽黄色、纤细 Yellow adventitious buds, slender
2	1.5	0.05	5.5	2.5~3.0	不定芽分化率高,芽丛、幼苗健壮,叶色深绿 High differentiation rate of adventitious buds, strong buds and young, thick green leaf
3	2.0	0.1	3.0	2.0~2.5	不定芽分化率较高,叶色淡,长势较好 High differentiation rate of adventitious buds, light leaf, grow vigour is strong
4	1.0	0.05	2.5	1.0~1.5	不定芽分化率低,生长慢,长势弱 Low differentiation rate of adventitious buds, grow slowly, grow vigour is weak
5	2.5	0.05	4.5	1.0~2.0	不定芽分化率较高,叶色黄绿,长势较好 High differentiation rate of adventitious buds, yellow-green leaf, grow vigour is strong
6	2.0	0.05	4.0	1.5~1.8	不定芽分化率较高,叶色深绿,长势较好 High differentiation rate of adventitious buds, thick green leaf, grow vigour is strong
7	2.0	1.0	1.5	1.0~1.5	不定芽分化率低,生长慢,叶色淡绿 Low differentiation rate of adventitious buds, grow slowly, light green leaf

由表 2 可以看出,2 号培养基明显优于其他培养基,其增殖倍数最高,为 5.5。在 6-BA 为 1.5 mg/L,NAA 为 0 时,丛生苗增殖少且苗势弱,当加入 0.05 mg/L NAA 时,丛生苗增殖倍数为 5.5(单瓶最多可达 9 个丛生芽),生长势最强,该组合侧芽生长 5 d 后,单个切芽的基部有少量愈伤组织并逐

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

步形成芽丛, 21 d 后产生的丛生芽数目明显优于其他培养基。随着 6-BA 浓度的不断增加, 丛生苗生长势减弱。若降低 6-BA 和 NAA 浓度, 丛生苗生长势也同样减弱。

2.3　黄木香生根培养基的筛选及移栽成苗

根据本中心实验室前期研究成果, 确定最佳的 $AgNO_3$ 浓度为 4.5 mg/L, 活性炭的质量分数为 0.2%, 将单芽接种于 1～5 号生根培养基上(附加的植物生长调节剂分别为 IBA 0～0.5 mg/L + NAA 0～0.5 mg/L), 观察结果(表 3) 表明, 当 NAA 质量浓度为 0, 而 IBA 质量浓度为 0.2 mg/L 时, 其诱导生根效果最为理想。小苗接种到上述培养基中培养 10 d 后, 个别芽基部产生白色突起, 分化出根点; 15 d 后, 逐步长出平均约 4～6 条白色的根, 个别可达到 13 条根; 20 d 后根长可达 2 cm 以上, 可以形成完整的植株。

将诱根培养基中的琼脂用量减少将近一半, 使其呈半液体状态, 则移栽洗根时不易伤根。30 d 后, 以 3 号生根培养基的生根率最高, 生根率可达 95%。

小苗生长 30 d 后形成了完整的根系, 将其移植到过渡基质上, 30 d 后小苗成活。

表 3　不同生长调节物质组合对野生黄木香不定芽生根的影响

Table 3　Effect of combination of different plant grown regulator on the rooting of wild *Rosa banksiae* f. *lutescecs* Vots 's adventitious buds

培养基编号 No.	NAA/(mg·L^{-1})	IBA/(mg·L^{-1})	接种苗数/株 No. of shoots inoculation	分化根数/条 No. of differentiated roots	生根率/% Rate of rooting	诱导生根情况 Inducement status of rooting
1	0.1	0	30	24	80	15 d 左右开始生根, 20 d 时每株生根 2～3 条, 根的粗细一般 Start rooting at 15 d, average rooting No is 2-3 at 20 d, like the thickness of roots
2	0.2	0	30	26	86	13 d 左右开始生根, 20 d 时每株生根 3 条。根粗壮, 呈放射状 Start rooting at 13 d, average rooting No is 3 at 20 d, strong and radiate roots
3	0	0.2	30	28.5	95	10 d 左右开始生根, 15 d 后逐步长出 4～6 条白色的根, 25 d 后根变成褐色。根粗壮, 呈放射状 Start rooting at 10 d, average rooting No is 4-6 at 15 d, white, roots turn brown at 25 d, strong and radiate roots
4	0	0.5	30	21	70	20 d 左右开始生根, 25 d 时每株生根 2～3 条, 较细弱 Start rooting at 20 d, average rooting No is 2-3 at 25 d, slender roots
5	0.5	0	30	26	86	13 d 左右开始生根, 20 d 时每株生根 3 条, 根粗壮, 呈放射状 Start rooting at 13 d, average rooting No is 3 at 20 d, strong and radiate roots

3　结论与讨论

有关植物生长调节剂对植物组织培养特性的研究已有大量报道[3～6]。本研究表明, 不同的植物生长调节剂配比及其他诱导因子对野生黄木香的组培有很大影响, 野生黄木香分化的适宜诱导培养基为 MS+ 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; 以 MS+ 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.05 mg/L 作增殖培养基效果最好, 增殖倍数为 5.5; 利于生根的培养基为 1/2 MS+ IBA 0.2 mg/L, 生根率达 90%。

在野生木香的组培中发现, 不定芽有不同程度的黄化现象, 根据资料[6～8]分析及预试验, 在不定芽诱导及增殖阶段使用 3.0 mg/L $AgNO_3$, 在生根阶段使用 4.5 mg/L $AgNO_3$, 对黄化现象有一定的控制作用。$AgNO_3$ 的使用浓度一般为 1～10 mg/L, 浓度过高, 会产生毒害作用, 反而不利于不定芽的再生[8]。

在野生木香的生根阶段, 部分外植体出现褐变现象, 活性炭可抑制褐变的发生, 同时有促进生长的作用[7,9]。在生根阶段加入质量分数 0.2% 的活性碳, 对根的形成有一定的促进作用。

[参考文献]

[1]　王明荣. 中国北方园林树木[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003. 147.

[2]　潭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991.

[3]　Ibrahim R, Debergh P C. Factors controlling high efficiency adventitious bud formation and plant regeneration from *in vitro* leaf explants of rose[J]. Scientia Horticulturae, 2001, 88(1): 41-57.

[4]　Li X, Krasayansk S F. Somatic embryogenesis, secondary somatic embryogensis, and shoot organogenesis in *Rosa*[J]. Journal of Plant

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Physiology, 2002, 159 (3): 313- 319.
[5] 叶贻勋, 黄青峰, 黄瑞方, 等. 月季的离体快速繁殖技术[J]. 福建农业大学学报, 2000, 29(2): 172- 175.
[6] 崔德才, 徐培文. 植物组织培养与工厂化育苗[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003. 29- 28.
[7] 程家胜. 植物组织培养与工厂化育苗技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2003. 68- 71.
[8] Debasis C, Azad M A K, Datta S K. *In vitro* propagation of rose cultivars[J]. Indian Journal of Plant Physiology, 2002, 5(2): 189- 192.
[9] 姚洪军, 罗晓芳, 田砚亭. 植物组织培养外植体褐变的研究进展[J]. 北京林业大学学报, 1999, 21(3): 78- 84.

Culturing of wild *Rosa banksiae* f. *lutescecs* Vots. *in vitro* and plant regeneration system

YU Xiao-li[1], DU Min-hua[1], ZHU Hong-mei[2], YANG Ke-jin[1]

(1. Biology Department of Nanyang Normal University, Nanyang, Henan 473061, China;
2. Department of Managing Campus Environment of Henan University, Kaifeng, Henan 475001, China)

Abstract: By taking wild *Rosa banksiae* f. *lutescecs* Vots. as explants, the influence of different growth regulating substances on adventitious buds's induction, multiplication and rooting was studied, and the regeneration system of high efficiency on *Rosa banksiae* f. *lutescecs* Vots. was established. The results suggested that the best medium for induction was MS+ $AgNO_3$ 3.0 mg/L + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L + agar 6.5 g/L + sucrose 30 g/L; the best medium for the multiplication was MS+ $AgNO_3$ 3.0 mg/L + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.05 mg/L + agar 6.5 g/L + sucrose 30 g/L, and the multiplication multiple was 5.5; the regeneration system of high efficiency on *Rosa banksiae* f. *lutescecs* Vots. was 1/2 MS+ $AgNO_3$ 4.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L + 0.2% activated carbon+ agar 4.0 g/L + sucrose 20 g/L, and the rooting rate was 95%.

Key words: wild *Rosa banksiae* f. *lutescecs* Vots.; adventitious buds; rapid propagation; plant growth regulator

《干旱地区农业研究》2006 年征订启事

《干旱地区农业研究》由教育部主管, 西北农林科技大学主办, 是全面反映我国干旱、半干旱及湿润易旱区农业科学技术研究新成果、新理论、新技术及国外有关最新研究进展的学术性期刊。

《干旱地区农业研究》主要刊登有关干旱、半干旱及半湿润易旱地区的旱农耕作与栽培、土壤营养与植物水分、农业节水、资源开发利用、旱区生态建设、植物抗逆生理、干旱类型与对策及国外旱农动态等内容。以旱作农业为重点, 重视水资源合理利用和灌溉农业的发展; 应用科学研究与应用基础科学研究并重是本刊的主要特色。适合广大从事旱农研究的专家、学者、科技人员、生产管理工作者和农林及有关院校师生阅读参考。

《干旱地区农业研究》为农业科学中文核心期刊, 中国科技核心期刊, 首届全国优秀科技期刊和"中国期刊方阵"期刊。被中国科学引文数据库、中国学术期刊综合评价数据库、中国学术期刊(光盘版)、中国期刊网、中国科技期刊精品数据库及俄罗斯《文摘杂志》等国内外多家检索系统收录, 连续多年进入"影响因子、被引频次最高的中国科技期刊 300 名排行表"。

《干旱地区农业研究》国内外公开发行, 刊号。双月刊, 逢单月 10 日出版。国际大 16 开本, 230 页, 每期定价 10 元, 全年 60 元。欢迎新老读者及时到当地邮局(所)订阅。邮发代号: 52-97。漏订者可直接汇款至编辑部补订。

编辑部地址: 陕西 杨凌 西北农林科技大学南校区甲 17 号信箱, 邮编: 712100;

电话 (传真): (029) 87082121; E-mail: yangy@nwsuaf.edu.cn

网址: http://GHDQ.chinajournal.net.cn; http://ghdqnyyj@periodicals.net.cn

欢迎投稿, 欢迎订阅, 欢迎刊登广告。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net