

# 白木香离体培养及高频率植株的再生

余晓丽<sup>1</sup>, 王正德<sup>1</sup>, 刘慧娟<sup>2</sup>, 杨珂金<sup>1</sup>

(1. 南阳师范学院 生物系, 河南 南阳 473061; 2. 新乡医学院 细胞生物教研室, 河南 新乡 453003)

**摘要:** 以野生白木香 *Rosa banksiae* var. *normalis* 茎段为外植体, 探讨了不同生长调节物质对外植体分化、增殖和生根的影响, 并对栽培基质与移栽技术进行研究。结果表明, 利于白木香分化的诱导培养基为  $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} NAA$ ;  $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} NAA$  作增殖培养基效果最好, 增殖率为 5.5; 利于生根的培养基为  $1/2MS + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} IBA + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} NAA$ ; 移栽基质为蛭石+珍珠岩+腐叶土 (1:1:1) 效果最好, 成活率 98%, 且苗生长健壮。建立了白木香高效再生体系。表 4 参 10

**关键词:** 白木香; 茎段; 离体培养; 植株再生; 树状月季

**中图分类号:** S685. 12; Q945. 3      **文献标识码:** A

生产树状月季关键在砧木的选育。国内的砧木多用粉团蔷薇 *Rosa multiflora* var. *cathayensis* 和白玉棠 *Rosa multiflora* 'Alba' 等, 但早衰问题却考虑得较少; 最近开始引进有长寿、干粗特点的法国狗蔷薇 *Rosa canina*, 但造价高。近些年经河南省南阳市月季 *Rosa chinensis* 基地(国内较大的月季基地)栽培观察, 用野生白木香 *Rosa banksiae* var. *normalis* 下部茎段(距地 1 m 高)作树状月季砧木, 其寿命、粗度和抗逆性优于其他砧木<sup>[1]</sup>。野生白木香为蔷薇属半常绿攀援性灌木, 高可达 6 m, 干皮红褐色片状脱落<sup>[2]</sup>, 生长在山坡、山谷等处。近些年, 由于人们对树状月季的需求, 导致白木香的需求量也逐渐增大, 但目前白木香砧木的取得是从山上直接采伐, 长久会造成资源匮乏, 生态破坏, 同时, 白木香常规繁殖系数低<sup>[3]</sup>。采用植物组织培养方法可以快速繁殖白木香, 既可以保护资源, 又可以满足市场的需要。作者较为系统地研究了白木香茎段的组织培养和植株再生, 在此基础上建立的外植体再生体系可以用于树状月季砧木遗传化研究, 培育出更优良的砧木。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

采用的砧木为野生白木香, 来自河南省南召五朵山。

### 1.2 试验方法

**外植体准备:** 取当年生带腋芽茎段, 用自来水冲洗 120 min, 在工作台上, 先用体积分数为 70% 乙醇处理 5 s 后, 用  $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  升汞溶液浸泡 8~10 min, 然后放入无菌水冲洗 4 次, 以备接种。

**外植体的诱导分化:** 将茎段切成 1.0~1.2 cm 长的小段, 接种于诱导分化的培养基上, 培养基为  $MS + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖 +  $7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  琼脂 +  $0.5 \sim 2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} NAA$ 。培养的条件为光照

收稿日期: 2005-03-24; 修回日期: 2005-05-16

基金项目: 河南省南阳市科技攻关项目(200404016)

作者简介: 余晓丽, 副教授, 从事植物细胞培养等研究。E-mail: yxll268@126.com

时间  $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ , 温度为  $23.5 \sim 24.0^\circ\text{C}$ , 光照度为  $3000 \text{ lx}$ 。30 d 继代 1 次。每瓶接 1 个。每种培养基上接种数目均为 30 个, 每次处理重复 3 次。

**诱导芽的增殖:** 将长约  $1.0 \sim 2.0 \text{ cm}$  的芽转接到增殖培养基上, 培养基为  $\text{MS} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖 +  $7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  琼脂 +  $2.0 \sim 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA。培养条件同上。30 d 继代 1 次。

**再生植株的生根:** 切取  $1.5 \sim 2.0 \text{ cm}$  的单芽接种于生根培养基( $1/2\text{MS} + 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖 +  $4 \sim 6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  琼脂粉 +  $0 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $0 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA)上。培养条件同上。

**试管苗的栽培基质与移栽:** 栽培基质有珍珠岩、草炭土、蛭石、腐叶土和砂。设计了 6 个处理, 每处理各 3 盘, 每盘 50 株苗, 保持相对湿度在  $60\% \sim 70\%$ , 避免直射光。移栽后 20 d 调查幼苗生长情况, 计算成活率。

## 2 结果分析

### 2.1 离体芽的诱导培养<sup>[4,6]</sup>

将无菌外植体接入诱导分化的培养基上, 在 5, 11, 21 d 分别观察芽萌发和丛生苗生长情况。由表 1 可以看出, 不同生长调节物质处理中, 2, 6, 7 号培养基长势较好, 经诱导都能直接长出芽丛, 但相比较 6 号和 7 号培养基长势不如 2 号, 7 号一半发育为愈合组织, 一半发育为丛生芽, 影响增殖倍数, 6 号也伴有愈合组织, 和丛生芽竞争营养, 影响芽的生长。2 号的组合配方最佳。该组合侧芽 5 d 内即开始陆续萌动, 11 d 丛生苗长至  $0.1 \sim 0.5 \text{ cm}$ , 21 d 时长至  $0.5 \sim 1.5 \text{ cm}$ , 且产生的丛生芽平均有 6.5 个, 苗势青绿, 生长壮实, 有利于继代。同时发现, 当 6-BA 为  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 为 0 时, 全为愈合组织, 当 NAA 取其他数值时, 愈合组织少, 并出现一定数量的丛生苗。由此可见, 白木香的外植体诱导分化须在 6-BA 及 NAA 共同作用下, 才能形成丛生苗。因此, 白木香的诱导分化培养基最佳配方:  $\text{MS} + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA。

表 1 不同植物生长调节物质组合对野生白木香不定芽诱导的影响

Table 1 Effect of combination of different plant growth regulators on wild *Rosa banksiae* var. *normalis* of adventitious buds induction

处理	激素/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )		增殖倍数		不定芽生长情况
	6-BA	NAA			
1	2.0	0	0	全为愈合组织	
2	2.0	0.1	4.5	不定芽萌动, 芽丛健壮	
3	2.0	0.5	3.5	不定芽萌动, 伴有愈合组织	
4	2.0	1.0	0.5	愈合组织较致密, 不定芽少	
5	2.5	0.1	2.5	愈合组织过于致密, 丛生芽不多	
6	1.5	0.1	4.3	不定芽萌动, 伴有少量愈合组织	
7	1.0	0.1	2.6	一半不定芽萌动, 芽健壮, 其余为愈合组织	
8	0.5	0.1	0.6	愈合组织较松散, 不定芽少	
9	0.5	0.5	0.3	不产生愈合组织	
10	1.0	0.5	0.3	不定芽萌发率低, 愈合组织较多	

### 2.2 丛生芽的继代增殖培养<sup>[5,7]</sup>

将丛生芽单个切下, 转接到增殖培养基上, 在 5, 11, 21 d 分别观察丛生苗增殖和丛生苗生长势等情况。由表 2 可以看出, 2 号培养基明显优于 6 号和 7 号。在 6-BA 为  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 为 0 时, 丛生苗增殖少且苗势弱, 当加入  $0.05$ ,  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 时, 苗增殖数增多, 生长势强, 其中为  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 时, 丛生苗增殖为  $5 \sim 6$  倍, 最多可达 9 个丛生芽, 生长势最强, 该组合侧芽 5 d 后单个切芽的基部有少量愈合组织并逐步形成芽丛, 21 d 以后产生的丛生芽数目明显优于其他。随 6-BA 质量浓度的增加, 苗生长势减弱。降低 6-BA 和 NAA 的比例, 苗生长势也减弱。

### 2.3 试管苗的生根培养<sup>[8,19]</sup>

切取单芽接种于生根培养基上, 结果在无菌苗根的诱导过程中, 生长素的种类和使用质量浓度起决定性作用。为此, 对不同的生长素 NAA 和 IBA 的诱导效应作对比试验, 分别设置 0, 0, 1, 0.2 和

表2 不同植物生长调节物质组合对野生白木香不定芽增殖的影响

Table 2 Effect of combination of different plant growth regulators on wild *Rosa banksiae* var. *normalis* of adventitious buds multiplication

处理	生长调节物质组合质量浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )		增殖倍数	平均苗高/cm	生长状况
	6-BA	NAA			
1	2.0	0	2.0	0.1~0.5	不定芽黄色, 纤细
2	2.0	0.05	5.5	2.5~3.0	不定芽分化率高, 芽丛健壮, 幼苗健壮, 叶色深绿
3	2.0	0.10	3.0	2.0~2.5	不定芽分化率较高, 叶色淡, 长势较好
4	3.0	0.10	3.5	0.5~0.8	不定芽低矮, 纤细
5	3.0	0.05	2.5	1.5~1.0	不定芽分化率低, 生长慢, 长势弱
6	2.5	0.05	4.5	1.5~2.0	不定芽分化率较高, 叶色黄绿, 长势较好
7	1.5	0.05	4.0	1.5~1.8	不定芽分化率较高, 叶色深绿, 长势较好
8	2.0	1.00	1.5	1.5~1.0	不定芽分化率低, 生长慢, 叶色淡绿

说明: 每处理30瓶, 试验重复3次, 丛生苗数及丛生苗生长势为3次平均值。

0.5 mg·L<sup>-1</sup>等4种质量浓度进行比较。表3表明, 0.2 mg·L<sup>-1</sup>NAA和0.2 mg·L<sup>-1</sup>IBA同时使用, 诱根效果较为理想。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根, 20 d后根可达2 cm以上, 形成完整的植株。就生根的时间和生根率观察来看, 处理4(即4号培养基)明显优于其他, 总的生根率达95%。

表3 不同植物生长调节物质组合对野生白木香不定芽生根的影响

Table 3 Effect of combination of different plant growth regulators on wild *Rosa banksiae* var. *normalis* of adventitious buds rooting

处理	生长调节物质组合		接种苗数/株	分化根数/条	生根率/%	诱导生根情况
	质量浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )					
	NAA	IBA				
1	0.1	0	30	24.0	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
2	0.2	0	30	26.0	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
3	0.2	0.1	30	20.0	66	20 d左右开始生根, 25 d时每株平均生根1.5条, 根细弱
4	0.2	0.2	30	28.5	95	10 d左右开始生根, 15 d后, 逐步长出约4~6条白色的根, 25 d后根褐色, 根粗壮, 呈放射状
5	0	0.5	30	21.0	70	20 d左右开始生根, 25 d时每株生根2~3条, 根较细弱
6	0.5	0	30	26.0	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

## 2.4 试管苗的栽培基质与移栽

把生根的试管苗打开瓶口, 练苗3~5 d后, 小心取出, 洗净根上附着的琼脂, 然后用稀释800倍的多菌灵药液浸泡4~5 min, 栽入经10 g·L<sup>-1</sup>高锰酸钾消毒过的基质中。移栽基质必须排水良好, 透气, 并使栽培基质的pH值为6.0~6.5为宜<sup>[9]</sup>。从表4可以看出, 基质为蛭石+珍珠岩+腐叶土(1:1:1)成活率达98%, 效果最好。用稀薄的营养液喷雾, 温度保持在16~23 °C, 遮荫, 空气相对湿度为60%~70%, 1个月后统计移栽成活率, 可达90%以上。

表4 不同栽培基质对植株生长的影响

Table 4 The effects of the different plant material treatments on growing seedling

基质	练苗总数/株	成活率/%	根系生长情况	植株生长情况
珍珠岩+草炭土(2:1)	150	65	每株生根4~5条, 根长5~8 cm, 根色灰暗	幼苗细弱, 植株低矮
沙+草炭土(1:1)	150	43	每株生根3~5条, 根长4~6 cm, 根比较弱	幼苗低矮, 叶色淡, 长势弱
蛭石+珍珠岩+沙(1:1:1)	150	76	每株生根5~6条, 根长9~11 cm, 根较细	幼苗较健壮, 叶色淡绿, 长势较弱
蛭石+珍珠岩+腐叶土(1:1:1)	150	98	每株生根6~7条, 根长10~14 cm, 根毛多, 健壮	幼苗健壮, 叶色常绿

### 3 结论与讨论

利于白木香分化的诱导培养基为  $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ ;  $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$  作增殖培养基效果最好, 增殖率 5.5; 利用生根的培养基为  $1/2\text{MS} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ ; 移栽基质为蛭石+珍珠岩+腐叶土(1:1:1)效果最好, 成活率 98%。

为了提高工效, 降低成本, 将诱根培养基中琼脂的用量减半, 使培养基呈半液体状态。在半液体状态的生根培养基上可提早生根 3~5 d, 移栽洗根较为容易, 不易伤根, 成活率高(90%以上)。

移栽驯化是工厂化育苗能否成功的关键<sup>[10]</sup>。在试管苗移栽驯化期, 白木香试管苗移栽时能耐一定的寒冷和高温, 需要较强的光照, 空气相对湿度较低, 这与其生活习性密切相关。用组织培养的方法可大大提高白木香的繁殖速率, 且植株根系发达, 生长健壮, 苗木整齐, 是批量繁殖生产白木香商品苗的一种好方法。

### 参考文献:

- [1] 李文鲜. 月季[M]. 北京: 中国林业出版社, 2004. 94—95.
- [2] 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.
- [3] 房伟民, 陈发棣. 园林绿化观赏苗木繁育与栽培[M]. 北京: 金盾出版社, 2003. 188—190.
- [4] Ibrahim R, Debergh P C. Factors controlling high efficiency adventitious bud formation and plant regeneration from in vitro leaf explants of rose [J]. *Sci Hortic*, 2001, **88**(1): 41—57.
- [5] Li X, Krasavans S F. Somatic embryogenesis, secondary somatic embryogenesis and shoot organogenesis in *Rosa* [J]. *Plant Physiol*, 2002, **159**(3): 313—319.
- [6] 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.
- [7] 任桂芳, 王建红, 冯慧, 等. 现代叶片植株再生体系的建立[J]. 园艺学报, 2004, **31**(4): 533—536.
- [8] 李艳, 王青, 王火旭, 等. 微型月季组织培养试管苗移栽试验[J]. 辽宁师范大学学报, 2001, **24**(3): 306—307.
- [9] 傅新生. 明艳芳香的观赏植物[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2003. 37—40.
- [10] 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.

## Plant regeneration in vitro from shoots explants of *Rosa banksiae* var. *normalis*

YU Xiao-li<sup>1</sup>, WANG Zheng-de<sup>1</sup>, LIU Hui-juan<sup>2</sup>, YANG Ke-jin<sup>1</sup>

(1. Biology Department of Nanyang Teacher's College, Nanyang 473061, Henan, China; 2. Teaching Section of Cell Biology, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, Henan, China)

**Abstract:** Using wild *Rosa banksiae* var. *normalis* of explants, the effects of different plant growth regulators on differentiation, multiplication and rooting of explants, and transplant technique and cultivated material were studied. The results showed that the best medium for inducing was  $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ ; that the best medium for the multiplication of medium was  $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ , and the multiplication rate was 5.5; that the rooting and growing was the best on the medium with  $1/2\text{MS} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ . Plant material was the best with the vermiculite + perlite + leaf mold (1:1:1), and the survival rate was 98%. High efficient regeneration system of wild *Rose banksiae* was established by using of wild *Rosa banksiae* var. *normalis* of eggplants. [Ch, 4 tab. 10 ref.]

**Key words:** *Rosa banksiae* var. *normalis*; stem shoots; vitro culture; plant regeneration; tree-rose