

文章编号:1000-2340(2006)01-0027-04

结香树的组织培养及植株再生技术研究

翟晓巧^{1,2}, 史俊华¹, 范国强¹

(1. 河南农业大学, 河南 郑州 450002;

2. 河南省林业科学研究院, 河南 郑州 450008)

摘要:以结香树幼嫩茎段为外植体研究其组织培养和植株再生技术. 结果表明:结香树茎段组织培养的基本培养基为 WPM, 幼嫩茎段诱导芽的适宜培养基为 WPM + IBA 0.2 mg·L⁻¹ + 6-BA 3 mg·L⁻¹, 幼芽形成根的适宜培养基为 1/2 MS + IBA 0.5 mg·L⁻¹, 该研究结果为结香树的快速繁殖及工厂化生产奠定了基础.

关键词:结香树; 组织培养; 培养基; 植株再生

中图分类号:Q 949.96; S 723.132

文献标识码:A

A Study on in Vitro Plantlet Regeneration of *Edgeworthia chrysantha*

ZHAI Xiao-qiao^{1,2}, SHI Jun-hua¹, FAN Guo-qiang¹

(1. Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Henan Academy of Forestry, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: This paper deals with in vitro plantlet regeneration of *Edgeworthia chrysantha* L. with young stem segments as an explant. Results show that the basal medium of the shoot induction was WPM, and that the appropriate media for the shoot induction from young stem segments and the rooting from shooting were WPM + IBA 0.2 mg·L⁻¹ + 6-BA 3 mg·L⁻¹ and 1/2 MS + IBA 0.5 mg·L⁻¹ respectively. The research results provide references to the quick propagation and factory production of *E. chrysantha*.

Key words: *Edgeworthia chrysantha* L.; tissue culture; medium; plantlet regeneration

结香树(*Edgeworthia Chrysantha* L.),系瑞香科(Thymelacaceae)结香树属(*Edgeworthia*)落叶灌木,花期3~4月.结香树含有约46.45%的纤维^[1-3],其干皮是制造纸币、蜡纸、书画纸等高级用纸的主要原料,还大量用于制造绝缘纸、人造棉、人造丝、纤维素以及活性炭等.结香树的花蕾、茎和根皮均可入药,它不仅是重要的经济树种^[4],而且是名优花卉,可供观花或观叶栽培,具有很高的经济价值和开发前景.目前,国内外对结香树的研究主要集中在造纸业、药用价值以及化学成分等方面,而尚未见对其组织培养的研究报道.本研究旨在找出适合结香树组织培养的基本培养基和植物生长调节

剂种类、水平及适用比例,为其利用生物技术进行新品种培育、无性繁殖及工厂化生产奠定基础.

1 材料与方法

1.1 材料

以2004年春季采集于武汉市5年生结香树当年生幼嫩枝条为试验材料.

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒方法及培养条件 用自来水将结香树的幼嫩枝条冲洗干净,先在体积分数为70%的酒精中消毒30s,再用质量分数为0.1%的

收稿日期:2005-10-16

基金项目:河南省杰出科研人才创新工程项目(20002KYCX003)

作者简介:翟晓巧(1971-),女,河南宜阳人,高级工程师,从事林木生物技术研究;通讯作者:范国强.

HgCl₂ 消毒 8 min, 然后用无菌水清洗 4~5 次, 切成 2~3 cm 的茎段放入培养基中. 培养基中蔗糖质量浓度为 25 g·L⁻¹, 琼脂 6 g·L⁻¹, 培养条件为培养温度(25±2)℃, 光照强度 2 000 lx 左右. 结香树芽和根的诱导培养条件与此相同.

1.2.2 培养基选择

1.2.2.1 基本培养基 将结香树的幼嫩茎段放入 WPM, 1/2 MS 等 6 种培养基中(表 1)进行芽诱导. 每处理接种 10 瓶, 每瓶 1 个外植体, 30 d 后统计芽诱导结果, 芽以肉眼清晰可见为准. 根据芽诱导情况选择适宜的培养基.

表 1 不同处理组合的基本培养基
Table 1 Different medium treatments

处理编号 Serial number	基本培养基 Basal medium	生长调节物质/(mg·L ⁻¹) Plant growth regulators	
		IBA	6-BA
a	WPM	0.2	2
b	WPM	0.2	4
c	WPM	0.2	6
d	1/2 MS	0.2	2
e	1/2 MS	0.2	4
f	1/2 MS	0.2	6

1.2.2.2 芽诱导培养基 从 1.2.2.1 选出的芽诱导率最高的为基本培养基, 附加生长素 IBA 和细胞分裂素 6-BA 组成 15 种处理组合(表 2). 将结香树的幼嫩茎段接种在 15 种培养基上. 每处理接种 10 瓶, 每瓶 1 个外植体, 30 d 后统计芽诱导结果.

表 2 不同处理组合的芽诱导培养基
Table 2 Different media of the shoot induction

处理编号 Serial number	生长调节物质/(mg·L ⁻¹) Plant growth regulators	
	IBA	6-BA
1	0.1	0
2	0.1	1
3	0.1	3
4	0.1	5
5	0.2	0.5
6	0.2	1
7	0.2	3
8	0.2	5
9	0.3	1
10	0.3	3
11	0.3	5
12	0.3	7
13	0.4	1
14	0.4	3
15	0.4	5

1.2.2.3 根诱导培养基 当培养瓶中的诱导芽长

到 3~5 cm 长时, 从茎的基部切下放入 1/2 MS(MS 大量元素减半)和 MS 的培养基中, 附加生长素 IBA, 分别用 4 种质量浓度处理(表 3). 每处理接种 10 瓶, 每瓶 1 个外植体, 分别在培养 20 d 和 30 d 后统计根诱导率. 25 d 时统计根长.

表 3 不同处理组合的根诱导培养基

Table 3 Different media of root induction

处理编号 Serial number	培养基 Medium	生长调节物质 IBA/(mg·L ⁻¹) Plant growth regulators
I	1/2 MS	0
II	1/2 MS	0.3
III	1/2 MS	0.5
IV	1/2 MS	0.6
V	MS	0
VI	MS	0.3
VII	MS	0.5
VIII	MS	0.6

2 结果与分析

2.1 基本培养基的选择

结香树的茎段在两种培养基上都能形成芽, 但是芽的诱导率差别比较大(表 4). 由表 4 可以看出, 在 WPM 培养基上芽诱导率最高为 80%. MS 培养基上仅 50%. 在生长调节物质质量浓度相同的条件下, 在 WPM 培养基上的芽诱导率均高于 MS 培养基. 表明 WPM 培养基更适合结香树茎段芽的诱导. 因此选择 WPM 作为结香树茎段芽诱导的基本培养基.

表 4 不同培养基对结香树茎段芽诱导的影响

Table 4 The effect of different media on shoot induction ratio of stem segments of *E. chrysantha*

处理组合 Treatments	芽诱导块数 Explants of induced shoots	芽诱导率/% Induction rates
a	6	60
b	8	80
c	4	40
d	5	50
e	3	30
f	2	20

2.2 不同生长调节物质质量浓度组合对结香树茎段芽诱导率的影响

不同植物生长调节物质质量浓度组合对结香树芽诱导率的影响见表 5. 由表 5 可以看出, 当 6-BA 浓度为 0 mg·L⁻¹ 时芽诱导率为 0, 可见适量的 6-BA 对不定芽的形成是必需的. 当 IBA 浓度为 0.2 mg·L⁻¹ 时, 随 6-BA 浓度的升高芽诱导率先升高后下降, 说明过高浓度的 6-BA 对诱导芽形成芽具有抑制作用. 但当 IBA 浓度为 0.1, 0.3 和 0.4 mg·L⁻¹

时,芽诱导率随 6-BA 浓度的升高,呈现升高的趋势.这表明 6-BA 促进或抑制芽诱导与 IBA 浓度有关,而且与 6-BA 和 IBA 浓度比值有关.同时由表 5 可以看出,附加适量浓度 IBA 的培养基中芽诱导率高于附加多($0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)或过少 IBA($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的培养基中芽诱导率.以 IBA 浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的效果为最佳.说明适量的 IBA 对促进芽分化有协同作用.由试验结果可知, WPM + IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 6-BA $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基最有利于芽的诱导.因此选择其为结香树芽诱导的最适培养基.结香树 30 d 在 WPM + IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 6-BA $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 芽的诱导见图 1.

表 5 不同生长调节物质质量浓度组合对结香树茎段芽诱导率的影响

Table 5 Effect of different plant growth regulators on shoot induction from stem segments of *E. chrysantha*

处理组合 Treatments	诱导芽块数/个 Explants induced shoots	芽诱导率/% Induction rates
1	0	0
2	1	10
3	3	30
4	6	60
5	5	50
6	6	60
7	9	90
8	7	70
9	4	40
10	5	50
11	6	60
12	7	70
13	1	10
14	3	30
15	4	40

2.3 不同培养基组合对结香树幼芽生根率的影响

不同培养基组合对结香树生根率的影响见表

6.由表 6 可以看出,培养基中生长调节物质的变化对结香树生根有很大的影响.在未附加 IBA 的培养基中幼苗没有生根,而在附加适量 IBA 的培养基中生根现象明显,可见适量的 IBA 能促进根分化.同时由表 6 可以看出,IBA 浓度为 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的生根率较 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时低,即生长素浓度过高根的生长会受到抑制,低浓度的生长素也不利于根的形成和生长.本试验表明 IBA 浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最佳,生根率达到 100%,且根粗壮发根时间短,0, 0.3 和 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 均不利于结香树根的形成.在附加适量植物生长调节物质的 MS 培养基上幼嫩茎段也有一定的生根率,但普遍较 1/2 MS 培养基上的生根率低. MS + IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上的生根率最高只达到 60%,因此选择 1/2 MS 作为结香树幼芽形成根的基本培养基.由试验结果可知, 1/2 MS + IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基最有利于结香树根的形成,因此,选其作为结香树生根的最佳培养基.结香树 30 d 在 1/2 MS + IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的生根情况见图 2.

表 6 不同培养基组合对结香树幼芽生根的影响

Table 6 Effects of different media on rooting from the shootings

处理组合 Treatments	不同时间幼芽的生根率/% Rooting rate at different time		25 d 根长度/cm Root length at 25 d
	20	30	
I	10	50	2.4
II	50	70	3.5
III	90	100	6.2
IV	70	100	4.8
V	5	30	1.6
VI	10	50	1.8
VII	40	60	4.0
VIII	50	70	2.8



图 1 结香树芽诱导

Fig 1. Shoot induction of *E. chrysantha*



图 2 结香树根诱导

Fig 2. Root induction of *E. chrysantha*

3 小结与讨论

结香树茎段组织培养的适宜培养基为 WPM, 幼嫩茎段诱导芽的适宜培养基为 WPM + IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 6-BA $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 幼芽形成根的最佳培养基为 $1/2 \text{ MS} + \text{IBA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 本研究找出了适合结香树组织培养的基本培养基和植物生长调节剂种类、水平及适用比例, 为其无性繁殖及工厂化生产奠定了基础.

本试验中当 IBA 浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随 6-BA 浓度的升高芽的诱导率下降, 其结果与茜草^[5]、百合^[6]、泡桐^[7-9]、金丝楸^[10]和悬铃木^[11]等植物为材料的研究结果一致. 但是当 IBA 浓度为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 6-BA 浓度在 $1 \sim 7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 IBA 浓度为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 6-BA 浓度在 $1 \sim 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内时, 芽诱导率随着细胞分裂素 6-BA 质量浓度的升高而升高. 原因可能是 6-BA 促进或抑制芽形成是在一定的浓度范围内及具有适当的外部条件下才能起作用.

参考文献:

- [1] 李祖光, 李新华, 刘文涵, 等. 结香树鲜花香气化学成分的研究[J]. 林产化学与工业, 2004, 24(1): 83 - 86.
- [2] 颜继忠, 童胜强, 褚建军, 等. 结香树化学成分的研究进展[J]. 浙江化工, 2003, 34(3): 1 - 2.
- [3] 张海军, 赵玉英, 洪少良, 等. 结香树化学成分的研究[J]. 中草药, 1998, 29(3): 156 - 158.
- [4] 华文礼. 优良经济植物结香树的栽培和效益分析[J]. 经济林研究, 2000, 18(3): 45 - 46.
- [5] 胡人伦, 田玉梅. 植物激素对药用植物茜草愈伤组织诱导、生长及侧芽萌发的影响[A]. 北方植物学研究[C]. 天津: 南开大学出版社, 1993. 100 - 106.
- [6] 刘明志, 林雪艳. 激素对百合再生植株的影响[J]. 广西植物, 2002, 22(2): 167 - 170.
- [7] 范国强, 翟晓巧, 秦河锦, 等. 泡桐丛枝病株体外植株再生系统研究[J]. 河南农业大学学报, 2005, 39(3): 254 - 258.
- [8] 范国强, 翟晓巧, 蒋建平, 等. 不同种泡桐叶片愈伤组织诱导及植株再生[J]. 林业科学, 2002, 38(1): 357 - 360.
- [9] 王安亭, 杨晓娟, 翟晓巧, 等. 毛泡桐体细胞胚胎发生及植株再生研究[J]. 河南农业大学学报, 2005, 39(1): 46 - 50.
- [10] 翟晓巧, 贺窑青, 范国强, 等. 金丝楸茎段的组织培养及植株再生技术研究[J]. 河南农业大学学报, 2002, 36(4): 319 - 362.
- [11] 范国强, 赵振利, 曹艳春. 抗生素对悬铃木体外植株再生影响的研究[J]. 河南农业大学学报, 2004, 38(3): 279 - 284.