

# 金边北海道黄杨再生体系的建立及其快繁初探

马杰<sup>1</sup>, 郭利勇<sup>2</sup>, 崔波<sup>1</sup>, 张仙云<sup>1</sup>

(1. 郑州师范高等专科学校生物技术研究所, 河南郑州 450044; 2. 河南省经济林和林木种苗工作站, 河南郑州 450008)

**摘要** [目的] 探索金边北海道黄杨再生体系建立的方法和条件。[方法] 以 MS 为基本培养基, 配置不同种类和不同浓度激素的培养基, 对金边北海道黄杨幼嫩叶片和腋芽进行不定芽诱导培养、增殖培养和生根培养。[结果] MS 可作为金边北海道黄杨再生体系的基本培养基。6-BA 配合 NAA 有利于叶片、腋芽愈伤组织和不定芽的诱导, 以 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基效果最佳, 腋芽诱导率高达 66.67%。较高浓度的 6-BA 配合较低浓度的 NAA 有利于丛生芽的增殖, 以 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基增殖效果较理想, 增殖率高达 328.57%。MS+IAA 0.5 mg/L+蔗糖 3% 或 1/4MS+IAA 0.5 mg/L+蔗糖 2% 可获得最佳生根效果。[结论] 该体系的建立为金边北海道黄杨种苗快速繁殖提供参考依据。

**关键词** 北海道黄杨; 愈伤组织; 再生体系; 快繁

**中图分类号** Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)06-02245-02

## Primary Report on the Establishment of Regeneration System of *Euonymus japonicus* cv. 'CuZhi' and Its Rapid Propagation

MA Jie et al (Institute of Biotechnology, Zhengzhou Teacher's College, Zhengzhou, Henan 450044)

**Abstract** [Objective] The study aimed to explore the method and condition for establishing the regeneration system of *Euonymus japonicus* cv 'CuZhi'. [Method] With MS as basic medium, the tender leaves and axillary buds of CuZhi as materials, the media added 6-BA and NAA with different concentration proportions and the media added IAA with different concn. were set up to conduct the cultures of inducing adventitious buds, proliferation and rooting. [Result] MS could be as basic medium for the regeneration system of CuZhi. The combination of 6-BA and IAA was in favor of inducing calli and adventitious buds from leaves and axillary buds, the effect of medium MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L was best and the induction rate of axillary buds was up to 66.67%. The combination of 6-BA with higher concentration and NAA with lower concentration was in favor of the proliferation of clustered buds, the proliferation effect of medium MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L was more perfect and the proliferation rate was up to 328.57%. The optimum rooting effect could be obtained from medium MS+IAA 0.5 mg/L+3% sucrose or 1/4MS+IAA 0.5 mg/L+2% sucrose. [Conclusion] The establishment of the system provided reference basis for the rapid propagation of CuZhi seedlings.

**Key words** *Euonymus japonicus* cv. 'CuZhi'; Callus; Regeneration system; Rapid propagation

北海道黄杨(*Euonymus japonicus* cv 'CuZhi')是大叶黄杨(*Euonymus japonicus* L.)的栽培变种,为卫矛科卫矛属常绿阔叶小乔木,具有很好的耐寒、抗旱特性,成树能忍受-23.9℃的低温。其吸收有害气体的能力强,对二氧化硫、氢气、氟化氢等有害气体都有很强的抗性,且有较高的观赏价值。笔者探索了金边北海道黄杨再生体系建立的方法和条件,为其快繁研究奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料 金边北海道黄杨叶片和腋芽。

### 1.2 方法

**1.2.1 诱导培养。**取金边北海道黄杨的幼嫩叶片、腋芽置流水中冲洗 15 min, 无菌操作以 70% 酒精进行表面灭菌 15 s, 用无菌水冲净后, 置 0.1% 升汞溶液中振荡 5 min, 然后以无菌水冲洗 4 遍。叶片用无菌解剖刀将周边切下弃去, 保留部分切成大小约 5 mm<sup>2</sup>, 接种于 1~8 号 8 种培养基中(表 1), 腋芽灭菌后剥离至生长点, 接种于 5~8 号 4 种培养基中(表 2), 统计不定芽数。

**1.2.2 增殖培养。**将诱导形成的不定芽分割成单个芽苗, 每瓶接种数一致, 转入 6、9~13 号 6 种培养基上进行增殖培养(表 3), 分别统计数量。

**1.2.3 生根培养。**将高 2~6 cm 植株分别放入 14~22 号 9 种培养基中(表 4), 每种培养基 5 瓶, 每瓶放 6 株植株, 即每种培养基接种 30 株, 置光照培养箱中培养 15~20 d, 观察不

定根的生长情况。

**1.2.4 培养条件及培养基。**所有培养条件均为: 温度(25±2)℃, 光照度 2 500 lx, 光照时间 12 h/d; 培养基除特别注明均为 MS 培养基, 蔗糖 0.3%, 琼脂 0.8%, pH 值(5.8±0.1)。

## 2 结果与分析

**2.1 金边北海道黄杨叶片、腋芽不定芽的诱导** 由于嫩叶较腋芽更容易取得, 所以激素种类和浓度的初筛选用叶片作材料。叶片在 25~30 d 时, 陆续在其周边出现白色或淡黄色的突起(图 1), 之后在突起处形成 1~2 个不定芽, 50 d 时长成 10~15 mm 无根小苗。在叶片诱导过程中, 常有褐变导致的死亡现象, 且诱导率较低, 最高仅为 4.76%(表 1)。

表 1 叶片在 MS 培养基诱导不定芽的试验结果

Table 1 Results of bud induction from leaves on MS media

编号 No.	激素//mg/L Hormone	接种 数量//个 No. of inoculated	产生不定芽 的外植体数//个 No. of explants producing advent- itious buds	不定芽诱导率//% Induction rate of adventitious buds
1	6-BA 1.0	42	1	2.38
2	NAA 0.1	33	0	0.00
3	KT 1.0	45	1	2.22
4	IBA 0.1	36	0	0.00
5	6-BA 1.0+IBA 0.1	33	1	3.03
6	6-BA 1.0+NAA 0.1	42	2	4.76
7	KT 1.0+IBA 0.1	45	2	4.44
8	KT 1.0+NAA 0.1	36	1	2.78

腋芽在 5~8 号培养基上进行离体培养, 最初表现为腋芽萌动、基部膨大, 长出白色或淡黄色愈伤组织, 然后跟叶片诱导一样形成不定芽(图 2)。在试验过程中, 腋芽诱导成功率较高, 最高达 66.67%(表 2)。

**基金项目** 河南省科技攻关项目(0524050005)。

**作者简介** 马杰(1960-), 女, 河南开封人, 副教授, 从事生物技术的教研工作。

**收稿日期** 2007-10-30



图1 叶片愈伤组织分化成芽

Fig.1 The buds differentiation from leaf callus



图2 腋芽形成的丛生芽

Fig.2 The cluster buds from axillary buds

表2 腋芽在MS培养基诱导不定芽的试验结果

Table 2 Results of bud introduction from axillary buds on MS media

编号 No.	激素//mg/L Hormone	接种数量 No. of inoculated	产生不定芽 的外植体数 No. of explants producing adventitious buds	不定芽诱导率//% Induction rate of adventitious buds
5	6-BA 1.0 + IBA 0.1	5	3	60.00
6	6-BA 1.0 + NAA 0.1	3	2	66.67
7	KT 1.0 + IBA 0.1	4	2	50.00
8	KT 1.0 + NAA 0.1	4	2	50.00

**2.2 不定芽的继代培养** 继代培养是实现快繁的重要环节之一,通过继代培养可得到大量幼苗(图3),供进一步生根试验。继代过程中,在诱导培养的基础上,以6-BA和NAA作为选择因子,经试验选择增殖率相对较高的培养基(表3)。



图3 继代培养得的丛生芽

Fig.3 The cluster buds from subculture

**2.3 不定根的诱导** 一般说来,对再生植株生根的影响是多方面的,要对多个因子进行试验,故笔者采用正交试验法,用不同激素量、蔗糖量和MS培养基中大量元素的量作为选择因子,每个因子选择3个水平(表4)。试验表明,3个因素的极差R分别为A(28.70)、B(2.59)、C(18.51)。

表3 不同激素组合对不定芽在MS培养基增殖的影响

Table 3 Effect of different hormones on bud propagation on MS media

编号 No.	激素//mg/L Hormone	接种数量 No. of inoculated	增殖数 No. of proliferation	增殖率//% Proliferation rate
6	6-BA 1.0 + NAA 0.1	8	20	250.00
9	6-BA 1.0 + NAA 0.2	7	23	328.57
10	6-BA 2.0 + NAA 0.4	9	22	244.44
11	6-BA 2.0 + NAA 0.8	6	13	216.67
12	6-BA 4.0 + NAA 0.8	8	18	225.00
13	6-BA 4.0 + NAA 1.6	9	18	200.00

注:培养天数均为20 d。

Note: Culturing for 20 d.

### 3 结论与讨论

以金边北海道黄杨的叶片作为外植体时,单独使用生长素(NAA和IBA)均没有不定芽生成,而单独使用细胞分裂素(6-BA、KT)都能诱导出愈伤组织,不定芽诱导率很低,但能够诱导出不定芽。两者配合使用可在一定程度上提高不定芽诱导率。结果显示,用金边北海道黄杨的嫩叶为外植体,在MS培养基可诱导出不定芽,1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA时效果最好。腋芽为外植体,其不定芽的诱导率较高,其中以6号培养基效果最佳。在继代培养时,较高含量的细胞分裂素配合较低含量的生长素有利于丛生芽增殖,9号培养基增殖效果较为理想,增殖率最高达328.57%。

表4 生根试验正交表

Table 4 Data of orthogonal experiment

试验号 Test number	编号 No.	A 大量元素//% Macro element	B 蔗糖//% Sucrose	C IAA浓度 mg/L IAA concn- tration	生根率 % Rooting rate	形态 Morphology
I	14	50	1	0.5	55.56	细长,少 Thin and long, little
	15	25	1	0.1	100.00	细长,少 Thin and long, little
	16	100	1	0.3	66.67	细长,少 Thin and long, little
II	17	50	2	0.3	66.67	细短,多 Thin and short, much
	18	25	2	0.5	100.00	短粗,少 Short and thick, little
	19	100	2	0.1	63.33	细长,少 Thin and long, little
III	20	50	3	0.1	58.33	细长,少 Thin and long, little
	21	25	3	0.3	66.67	短粗,少 Short and thick, little
	22	100	3	0.5	100.00	短粗,多 Short and thick, much

注:表中统计数不含污染、褐变数。

Note: No. of contaminated and browned were not count up.

生根试验表明,A因素的极差最大为28.70,表明大量元素百分比对金边北海道黄杨生根的影响最大;其次是C(IAA)的极差为18.51,而B(蔗糖)的极差最小为2.59。据观察,在生根过程中,根部形态有很大不同,或根细长且单株数量少,或细短单株数量少,或短粗单株数量少,或短粗且单株

(下转第2346页)

以发展,如宫殿的柱涂丹色;斗拱、梁架、天花施彩绘;墙壁界以青紫或绘以壁画;官署则用黄色;雕花的地砖和屋顶瓦件等也都因材施色。

**2.4.2 建筑群体的风格。**两汉时期建筑群体已达到空前庞大的规模,未央宫有“殿台四十三”,建章宫号称“千门万户”,权贵第宅也是“并兼列宅”、“隔绝闾里”。其风格有以下几点:首先是开始运用中轴线的手法对宫殿建筑群、礼制建筑群以及院落空间的组合进行布局,这种手法由于可以显示封建帝王至高无上的权势,一直被其后的历代统治者所推崇。其次是重要建筑入口前均设阙,汉代阙广泛运用在宫殿建筑、园林及陵墓建筑中。再次是建筑的形式、结构、形制都更加成熟与完备。最后是礼制建筑明堂辟雍的出现,明堂辟雍是中国古代最高等级的皇家礼制建筑之一。明堂是古代帝王颁布政令,接受朝觐和祭祀天地诸神以及祖先的场所。辟雍即明堂外面环绕的圆形水沟,环水为雍,圆形像辟,象征王道教化圆满不绝。

由此可见,两汉时期的建筑,在布局、结构、形制和装饰上,都基本形成了中国建筑体系的独特风格,为后世建筑艺术的继承和发展打下了坚实的基础。

### 3 汉代园林对中国古典园林的贡献

汉代开我国造园“一池三山”人工山水布局之先河,其分割水面和划分空间的手法为后世所仿效。汉代上林苑开创了“园中园”造园手法,形成了苑中有苑,苑中有宫,苑中有观的格调;大量运用叠山理水的园林工程手法,如挖湖堆山、引天然水系;还首创以雕塑装饰园景的艺术。

汉代叠山的技术和材料上具有一定的创新。梁冀以其国舅的身份,“采土筑山,十里九坂”,创造了土假山的记录,袁广汉则创造了石假山的记录。汉代园林还开创了水戏、温室、动物园、植物园、博物馆、山水苑之先例。以上这些造园技法无一不赋予园林流动的色彩和清新的灵气,奠定了园林

景观的灵魂基础。

从以上分析可知,汉代园林是中国园林史的重要一环,皇家园林的多种类型和造园手法形成于汉代,私家园林也在西汉光景初显。西汉园林是对秦代园林已有形式和方法的进一步完善,同时又有很大发展,典型特征之一是为苑囿及宫宅园林向山水方向转变奠定了基础。东汉后期,皇家苑囿由崇尚建筑逐步转向推崇山水林木,其苑囿建设趋向小型化,受文士影响,园中布景、题名已开始出现诗画意境。文人园林的初见端倪,及其审美观念和造园思想对魏晋文人园林的强大兴盛和隐逸文化的产生形成了很大影响。

### 4 结语

历经 426 年的大汉王朝,园林景观主要表现出以下几个基本特征:苑囿基本上为皇帝王侯富豪所专有,总体规划尚比较粗放,规模出奇的大,建筑宏伟壮观,装饰穷极华丽;祈求长生成仙的意念在宫苑中时有反应,随之出现了众多的天宮楼阁、飞阁浮道等;造园手法上,挖大池、堆大型土石山、建高楼是主要的硬件,广植奇花异木和饲养各种珍禽怪兽成为治园的重点。由此而论,汉代园林形成了居住、临朝、游观等功能比较齐全的园林形式,对后世的造园运动产生了极其深远的影响。

### 参考文献

- [1] 周旭.从张良庙的景观空间格局看秦汉代园林文化[D].西安:西安建筑科技大学,2006:5-63.
- [2] 曹林娣.中国园林文化[M].北京:中国建筑工业出版社,2005:34-41.
- [3] 萧统.文选·卷一;卷三[M].北京:中华书局,1977.
- [4] 班固.汉书[M].北京:中华书局,1962.
- [5] 孙星衍.三辅黄图[M].北京:中华书局,1985.
- [6] 刘歆.西京杂记[M].上海:上海古籍出版社,1991.
- [7] 范晔.后汉书·列传卷 24·梁统传[M].北京:中华书局,1984.
- [8] 周维权.中国古典园林史[M].2版.北京:清华大学出版社,1990:46-77.
- [9] 王毅.中国园林文化史[M].上海:上海人民出版社,2004.
- [10] 张家骥.中国造园艺术史[M].太原:山西人民出版社,2004:53-69.
- [11] 费振刚,胡双宝,宗明华.全汉赋[M].北京:北京大学出版社,1993.

(上接第 2246 页)

生根数较多。其中细长根的植株成活率较低,不利于植株成活。虽然 15 号培养基的生根率为 100%,但根的形态细长且单株生根数较少,而在 18 号培养基的生根率为 100%,根的形态较好,虽然单株生根数量少,但植株成活率很高。结果显示,生根率高且根部形态好的为 22 号培养基:MS + IAA 0.5 mg/L + 蔗糖 3% 或 18 号培养基:1/4 MS + IAA 0.5 mg/L + 蔗糖 2%,这两种培养基均可作为金边北海道黄杨的生根培养基,形成的植株有利于炼苗,成活率高,并取得再生植株。

综上所述,金边北海道黄杨在短时间内可完成从诱导到再生植株形成的整个过程,实现了该植株再生体系的建立,

该体系的建立对金边北海道黄杨种苗快速繁殖和规模化生产具有重要的指导意义。

### 参考文献

- [1] 韦立三.花卉组织培养[M].北京:中国林业出版社,2001:32-47.
- [2] 刘庆昌,吴国良.植物细胞组织培养[M].北京:中国农业大学出版社,2003:35-45.
- [3] H S 乔拉.植物生物技术导论[M].北京:科技出版社,2004:27-56.
- [4] 张延龙,徐炎,李峰,等.秦岭野百合鳞片植株再生体系的建立[J].西北植物学报,2004,24(7):1315-1318.
- [5] 石大兴,辜云杰,王米力,等.山杜英离体培养植株再生的研究[J].园艺学报,2004,31(2):245-248.
- [6] 庄猛,姜卫兵,花国平,等.金边黄杨与大叶黄杨光合特性的比较[J].植物生理学通讯,2004,42(1):39-42.