

# 外源激素对杜衡叶柄愈伤组织诱导与分化的影响

郭忠仁, 李乃伟, 束晓春, 孙银凤, 陆小清, 汤诗杰<sup>①</sup>

[江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014]

**摘要:** 以杜衡 (*Asarum forbesii* Maxim.) 叶柄为外植体, 采用 L9(3<sup>4</sup>) 正交实验设计分别研究了培养基中外源激素的种类及质量浓度对杜衡叶柄愈伤组织诱导和分化的影响, 并据此筛选出适宜的诱导及分化培养基。结果表明: 在杜衡叶柄愈伤组织的诱导过程中, 培养基中细胞分裂素的种类 (1.00 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA, 1.00 mg · L<sup>-1</sup> KT 和 1.00 mg · L<sup>-1</sup> ZT) 和 NAA 质量浓度 (0.00, 0.10 和 0.30 mg · L<sup>-1</sup>) 的影响效应均不显著, 而 2,4-D 质量浓度 (0.10, 0.50 和 1.00 mg · L<sup>-1</sup>) 则有显著影响 ( $P < 0.05$ ); 在愈伤组织的分化培养过程中, NAA (0.10, 0.30 和 0.50 mg · L<sup>-1</sup>) 的影响效应大于 6-BA (1.00, 3.00 和 5.00 mg · L<sup>-1</sup>) 和 IBA (0.01, 0.05 和 0.10 mg · L<sup>-1</sup>)。综合比较结果显示, 适宜于杜衡叶柄愈伤组织诱导的培养基为添加 1.00 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA, 0.30 mg · L<sup>-1</sup> NAA 和 1.00 mg · L<sup>-1</sup> 2,4-D 的 MS 培养基 (含 6.5 g · L<sup>-1</sup> 琼脂和 30 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖, pH 5.8 ~ pH 6.0), 在此培养基上愈伤组织诱导率达到 83.33%, 且愈伤组织生长速度快、颗粒紧密; 适宜于杜衡愈伤组织分化和不定芽增殖的培养基为添加 3.00 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA, 0.10 mg · L<sup>-1</sup> IBA 和 0.30 mg · L<sup>-1</sup> NAA 的 MS 培养基 (含 6.5 g · L<sup>-1</sup> 琼脂和 30 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖, pH 5.8 ~ pH 6.0), 在此培养基上愈伤组织的分化率最高 (达到 53.33%), 增殖系数也最高 (3.13)。

**关键词:** 杜衡; 叶柄; 愈伤组织; 诱导; 分化; 外源激素

中图分类号: Q943.1; S567.23<sup>+</sup>9.043 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2010)01-0038-05

**Effects of exo-phytohormones on induction and differentiation of callus from *Asarum forbesii* petiole** GUO Zhong-ren, LI Nai-wei, SHU Xiao-chun, SUN Yin-feng, LU Xiao-qing, TANG Shi-jie<sup>①</sup> (Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2010, 19(1): 38-42

**Abstract:** Using petiole of *Asarum forbesii* Maxim. as an explant, effects of type and concentration of exo-phytohormones in culture media on induction and differentiation of callus were researched by L9(3<sup>4</sup>) orthogonal experiment, and the suitable induction and differentiation media were also selected on the basis of the research results. The results show that in induction process of callus from *A. forbesii* petiole, cytokinin type (1.00 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA, 1.00 mg · L<sup>-1</sup> KT and 1.00 mg · L<sup>-1</sup> ZT) and NAA concentration (0.00, 0.10 and 0.30 mg · L<sup>-1</sup>) in media have no obvious effects, but 2,4-D concentration (0.10, 0.50 and 1.00 mg · L<sup>-1</sup>) has a significant effect ( $P < 0.05$ ). In differentiation process of callus, effect of NAA (0.10, 0.30 and 0.50 mg · L<sup>-1</sup>) is stronger than those of 6-BA (1.00, 3.00 and 5.00 mg · L<sup>-1</sup>) and IBA (0.01, 0.05 and 0.10 mg · L<sup>-1</sup>). The comprehensive analysis results show that the optimal medium suitable for callus induction from *A. forbesii* petiole is MS medium added 1.00 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA, 0.30 mg · L<sup>-1</sup> NAA and 1.00 mg · L<sup>-1</sup> 2,4-D (containing 6.5 g · L<sup>-1</sup> agar and 30 g · L<sup>-1</sup> sucrose, pH 5.8-pH 6.0). And in this medium, induction rate of callus reaches 83.33% and callus grows fast and forms compact cell masses. The optimal medium suitable for callus differentiation and propagation of adventitious bud of *A. forbesii* is MS medium added 3.00 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA, 0.10 mg · L<sup>-1</sup> IBA and 0.30 mg · L<sup>-1</sup> NAA (containing 6.5 g · L<sup>-1</sup> agar and 30 g · L<sup>-1</sup> sucrose, pH 5.8-pH 6.0). And the differentiation rate of callus is the highest with a percentage of 53.33%, and the multiplication

收稿日期: 2009-09-27

基金项目: 江苏省科技基础设施建设计划项目 (BM2006104)

作者简介: 郭忠仁 (1960—), 男, 江苏南京人, 硕士, 研究员, 主要从事果树育种和观赏园林植物资源研究。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: eucommia2003@yahoo.com.cn

coefficient is also the highest with a value of 3.13 in the optimal differentiation medium.

**Key words:** *Asarum forbesii* Maxim.; petiole; callus; induction; differentiation; exo-phytohormone

杜衡(*Asarum forbesii* Maxim.) 又称南细辛,为马兜铃科(Aristolochiaceae) 细辛属(*Asarum* L.) 多年生草本植物,是珍贵的中药材之一<sup>[1]</sup>。杜衡全草均可入药,具有散寒止咳、祛风止痛的功效,主要药物成分是黄樟醚(safrole)和少量的丁香油酚(eugenol)。杜衡不仅是一种重要的药用植物,还是国家二级保护动物——中华虎凤蝶(*Luehdorfia chinensis* Leech.) 喜食的植物,在江苏南京的紫金山区域,中华虎凤蝶的寄主即为杜衡<sup>[2]</sup>。由于具有很高的药用价值,近年来野生杜衡资源遭到过度采挖,植株数量越来越少,严重威胁了中华虎凤蝶的生存,使中华虎凤蝶的种群数量显著减少。因此,扩大杜衡的种群数量、解决杜衡人工繁殖及种植问题,不但能有效保护杜衡药用资源,而且也可以为中华虎凤蝶提供充足的寄主及食源,为保护中华虎凤蝶提供基础有效的措施。在此过程中,杜衡快速繁育是亟待解决的难题之一,研究杜衡的组织培养技术对解决这一难题具有非常重要的实际意义。

有关杜衡及其同属植物组织培养方面的报道尚不多见。李洪林等<sup>[3]</sup>以嫩芽为外植体对杜衡的组织培养过程进行了研究,获得了杜衡芽增殖、壮苗和生根的培养基配方;王金平等<sup>[4]</sup>则以叶柄为外植体对杜衡的组织培养技术进行了研究;周建中<sup>[5]</sup>则以茎尖为外植体进行了杜衡离体繁殖技术的研究。虽然通过这些研究均获得了杜衡的增殖培养基和生根培养基的配方,但对培养基中最佳的外源激素配比尚未作系统的分析和比较。

作者以杜衡叶柄为外植体,采用L9(3<sup>4</sup>)正交实验设计研究了不同外源激素种类及质量浓度对杜衡愈伤组织诱导和分化的影响,以获得最适宜于杜衡愈伤组织诱导和分化的外源激素配比,为杜衡的快速繁育提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试的杜衡母株于2009年4月取自江苏镇江宝华山,将其在江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园)的日光温室内存栽2个月后,取当年生

叶柄作为外植体进行实验。

### 1.2 方法

1.2.1 外植体的前处理及表面消毒 将杜衡叶柄用清水冲洗干净后,用毛刷蘸少许洗衣粉将其表面刷洗干净,再用自来水漂洗3~5次,然后在摇床上用稀释50倍的84消毒液振荡消毒15~20 min;流水冲洗20~30 min后,将外植体置于无菌操作台上,用体积分数75%乙醇消毒50~60 s,然后立即用质量体积分数0.1% HgCl<sub>2</sub>消毒12 min,最后用无菌水洗涤4次,每次振荡3~5 min。用灭菌镊子将消毒好的叶柄放在无菌表面皿中,再用灭菌刀片将叶柄切成长度为0.5~1.0 cm的小段,供接种。

1.2.2 愈伤组织的诱导培养 通过L9(3<sup>4</sup>)4因素3水平正交实验设计9个杜衡叶柄愈伤组织诱导培养基激素组合。4个因素分别为细胞分裂素种类、NAA质量浓度、2,4-D质量浓度和空列。其中,细胞分裂素种类的3个水平为6-BA、KT和ZT,质量浓度均为1.00 mg·L<sup>-1</sup>; NAA质量浓度的3个水平为0.00、0.10和0.30 mg·L<sup>-1</sup>; 2,4-D质量浓度的3个水平为0.10、0.50和1.00 mg·L<sup>-1</sup>。以MS培养基为基本培养基,除上述激素组合外,培养基中还含6.5 g·L<sup>-1</sup>琼脂和30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖,pH 5.8~pH 6.0。

将已灭菌的叶柄外植体接种到9种诱导培养基上,黑暗培养24 h后进行正常的光照培养,光照时间16 h·d<sup>-1</sup>,光照度2 000 lx,培养温度23℃~26℃。每瓶2个外植体,每种培养基接种15瓶,并设3次重复。每天观察愈伤组织的诱导情况,培养20 d后统计愈伤组织的诱导率。

1.2.3 愈伤组织的分化培养 通过L9(3<sup>4</sup>)4因素3水平正交实验设计9个杜衡愈伤组织分化培养基激素组合。4个因素分别为6-BA质量浓度、NAA质量浓度、IBA质量浓度和空列。其中,6-BA质量浓度的3个水平为1.00、3.00和5.00 mg·L<sup>-1</sup>; NAA质量浓度的3个水平为0.10、0.30和0.50 mg·L<sup>-1</sup>; IBA质量浓度的3个水平为0.01、0.05和0.10 mg·L<sup>-1</sup>。以MS培养基为基本培养基,除上述激素组合外,培养基中还添加了6.5 g·L<sup>-1</sup>琼脂和30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖,pH 5.8~pH 6.0。

将诱导出的杜衡叶柄愈伤组织切成面积约为

0.5 cm<sup>2</sup>的方块,接种到9种分化培养基上,置于温度23℃~26℃、光照时间16 h·d<sup>-1</sup>、光照度2 000 lx的条件下培养。每瓶接种2块愈伤组织,每种培养基接种15瓶,并设3次重复。每天观察愈伤组织的分化情况,培养15 d后统计愈伤组织的分化率。

### 1.3 数据分析

通过正交设计助手II v3.1对实验数据进行统计和分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 诱导培养基中的外源激素种类和质量浓度对杜衡叶柄愈伤组织诱导的影响

在愈伤组织诱导培养基上培养7 d后,杜衡叶柄外植体开始弯曲;培养10 d后,有些外植体的两端开始长出颗粒状愈伤组织。诱导培养基中外源激素种类和质量浓度对杜衡叶柄愈伤组织诱导影响的正交实验结果及方差分析结果见表1和表2。结果显示,在添加了不同激素组合的诱导培养基中杜衡愈伤组织的诱导率和生长情况有明显差异。极差R值分析结果表明,诱导培养基中细胞分裂素种类、NAA质量浓度和2,4-D质量浓度对杜衡叶柄愈伤组织诱导均有一定的影响(R值>空列R值),其中以2,4-D质量浓度的影响最为明显。

实验选用的3个细胞分裂素(6-BA、KT和ZT)

均为植物组织培养研究中常用的细胞分裂素<sup>[6-7]</sup>。根据表1中不同细胞分裂素种类间的K值及表2中的F值均可发现,在诱导培养基中添加1.00 mg·L<sup>-1</sup>6-BA、1.00 mg·L<sup>-1</sup>KT或1.00 mg·L<sup>-1</sup>ZT,对杜衡叶柄愈伤组织诱导的影响效应均不明显。

NAA是重要的植物生长素之一,在植物离体培养过程中的主要作用是诱导愈伤组织的形成和促进根的发育<sup>[8]</sup>。由表1中不同质量浓度NAA的K值以及表2中的F值均可看出,质量浓度在0.00~0.30 mg·L<sup>-1</sup>范围内,NAA对杜衡叶柄愈伤组织诱导率的影响不显著,但NAA与一定质量浓度(0.50~1.00 mg·L<sup>-1</sup>)的2,4-D组合则对杜衡叶柄愈伤组织诱导的促进作用更明显。在未添加NAA的诱导培养基(Y7)中,杜衡叶柄愈伤组织诱导率最高(97.78%),但愈伤组织的生长状况较差;而在添加NAA的Y3(0.30 mg·L<sup>-1</sup>NAA)、Y5(0.10 mg·L<sup>-1</sup>NAA)和Y9(0.30 mg·L<sup>-1</sup>NAA)培养基中,杜衡叶柄愈伤组织的诱导率也较高,均在66%以上,但在Y5培养基中愈伤组织的生长状况较差,只有在Y3和Y9培养基中愈伤组织颗粒比较致密,这种愈伤组织易于分化。

2,4-D是植物组织培养中常用的生长激素之一,一定浓度的2,4-D能促进植物愈伤组织的诱导,且诱导效果较好<sup>[9-11]</sup>。由表1和表2可见,在添加了0.10 mg·L<sup>-1</sup>2,4-D的诱导培养基(Y1、Y6和Y8)中,杜衡愈伤组织的诱导率较低,均在23%以下,

表1 杜衡叶柄愈伤组织诱导培养基中外源激素种类及质量浓度的正交实验结果

Table 1 The result of orthogonal experiment on type and concentration of exo-phytohormones in induction medium of callus from *Asarum forbesii* Maxim. petiole

编号 No.	因素和水平 <sup>1)</sup> Factor and level <sup>1)</sup>				诱导率/% Induction rate	愈伤组织生长状况 Growth status of callus
	A	B	C	D		
Y1	6-BA	0.00	0.10		16.67	生长慢,未玻璃化 Grow slowly, no vitrification
Y2	6-BA	0.10	0.50		50.00	生长慢,未玻璃化 Grow slowly, no vitrification
Y3	6-BA	0.30	1.00		83.33	生长快,颗粒致密 Grow fast, cell mass compact
Y4	KT	0.00	0.50		58.89	生长慢,未玻璃化 Grow slowly, no vitrification
Y5	KT	0.10	1.00		75.56	生长较快,颗粒疏松 Grow fast, cell mass loose
Y6	KT	0.30	0.10		18.89	生长快,颗粒致密 Grow fast, cell mass compact
Y7	ZT	0.00	1.00		97.78	生长快,玻璃化严重 Grow fast, vitrification serious
Y8	ZT	0.10	0.10		22.22	生长慢,颗粒疏松 Grow slowly, cell mass loose
Y9	ZT	0.30	0.50		66.67	生长快,颗粒致密 Grow fast, cell mass compact
K1	0.500	0.578	0.193	0.530		
K2	0.511	0.493	0.585	0.556		
K3	0.622	0.563	0.856	0.548		
R	0.122	0.085	0.663	0.026		

<sup>1)</sup> A: 细胞分裂素种类(质量浓度为1.00 mg·L<sup>-1</sup>) Cytokinin type (concentration 1.00 mg·L<sup>-1</sup>); B: NAA质量浓度 Concentration of NAA (mg·L<sup>-1</sup>); C: 2,4-D质量浓度 Concentration of 2,4-D (mg·L<sup>-1</sup>); D: 空列 Blank.

表 2 杜衡叶柄愈伤组织诱导培养基中外源激素种类及质量浓度正交实验结果的方差分析

Table 2 Variance analysis of orthogonal experiment result on type and concentration of exo-phytohormones in induction medium of callus from *Asarum forbesii* Maxim. petiole

因素 <sup>1)</sup> Factor <sup>1)</sup>	SS	DF	F <sup>2)</sup>
A	0.027	2	0.153
B	0.012	2	0.068
C	0.667	2	3.774 *
误差 Error	0.710	8	

<sup>1)</sup> A: 细胞分裂素种类(质量浓度为 1.00 mg · L<sup>-1</sup>) Cytokinin type (concentration 1.00 mg · L<sup>-1</sup>); B: NAA 浓度 Concentration of NAA (mg · L<sup>-1</sup>); C: 2,4-D 浓度 Concentration of 2,4-D (mg · L<sup>-1</sup>).

<sup>2)</sup> \*: P<0.05.

K 值和 F 值也最小;而在添加了 1.00 mg · L<sup>-1</sup>2,4-D 的诱导培养基(Y3、Y5 和 Y7)中,杜衡叶柄愈伤组织的诱导率较高,均在 75% 以上,K 值和 F 值也最大,且达到显著水平(P<0.05)。结果显示,在诱导培养基中添加较高质量浓度的 2,4-D 有利于杜衡叶柄愈伤组织的诱导。

从愈伤组织的诱导率和生长情况两方面来看,比较理想的杜衡叶柄愈伤组织诱导培养基为 Y3 培养基,即添加 1.00 mg · L<sup>-1</sup>6-BA、0.30 mg · L<sup>-1</sup>NAA 和 1.00 mg · L<sup>-1</sup>2,4-D 的 MS 培养基(含 6.5 g · L<sup>-1</sup>琼脂和 30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖,pH 5.8 ~ pH 6.0)。在该培养基中,杜衡叶柄愈伤组织诱导率可达到 83.33%,且诱导出的愈伤组织生长较快、颗粒致密。

## 2.2 分化培养基中外源激素种类和质量浓度对杜衡叶柄愈伤组织分化的影响

杜衡叶柄愈伤组织转入分化培养基培养 15 d 后,有部分愈伤组织的周围或上部开始分化出不定芽。分化培养基中外源激素种类及质量浓度对杜衡叶柄愈伤组织分化及不定芽增殖影响的正交实验结果见表 3。由表 3 可以看出,在激素配比不同的 9 种分化培养基上,杜衡叶柄愈伤组织的分化率不同,且增殖系数有较大差异。

正交实验结果(表 3)显示,在 NAA 质量浓度均为 0.30 mg · L<sup>-1</sup>的 3 组分化培养基(F2、F5 和 F8)中,杜衡叶柄愈伤组织的分化率较高,均在 45% 以上;而在 6-BA 质量浓度均为 3.00 mg · L<sup>-1</sup>的 3 组分化培养基(F4、F5 和 F6)中,杜衡叶柄愈伤组织不定芽的增殖系数较高。其中,以添加了 0.10 mg · L<sup>-1</sup>IBA 的分化培养基(F5)的分化效果最好(分化率达到 53.33%)、增殖系数最高(达到 3.13,即平均每块愈

伤组织可分化出 3.13 个不定芽),且在此培养基中分化培养 20 d 后即可形成具有完整茎叶的健康小植株。把这些基部带有愈伤组织块的植株切割分离,接种到新的配方相同的分化培养基上,则会从植株基部的愈伤组织上不断分化出不定芽,继而长成新的小植株,因此,可以把该培养基作为杜衡叶柄愈伤组织分化及增殖的培养基。

直观分析结果表明,NAA 对杜衡叶柄愈伤组织分化的影响大于 6-BA 和 IBA。虽然 IBA 对杜衡叶柄愈伤组织分化的贡献不大,但有报道显示<sup>[12-13]</sup>,IBA 在其他植物的组织培养过程中起到促进植物生根的作用,有利于植物的壮苗。因此,IBA 与 NAA 组合使用,可使杜衡叶柄愈伤组织分化产生的试管苗的生长状况更好。6-BA 为细胞分裂素,能促进细胞分裂,有利于愈伤组织的形态建成<sup>[14]</sup>,所以对愈伤组织不定芽的增殖有一定的促进作用。

对愈伤组织分化率和不定芽增殖系数 2 个指标进行综合分析,结果表明,添加 3.00 mg · L<sup>-1</sup>6-BA、0.30 mg · L<sup>-1</sup>NAA 和 0.10 mg · L<sup>-1</sup>IBA 的 MS 培养基(含有 6.5 g · L<sup>-1</sup>琼脂和 30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖,pH 5.8 ~ pH 6.0)为杜衡叶柄愈伤组织分化及不定芽增殖的最佳培养基。在该分化培养基上,杜衡叶柄愈伤组织的分化率和不定芽的增殖系数均量高。

表 3 杜衡叶柄愈伤组织分化培养基中外源激素种类和质量浓度的正交实验结果

Table 3 The result of orthogonal experiment on type and concentration of exo-phytohormones in differentiation medium of callus from *Asarum forbesii* Maxim. petiole

编号 No.	因素和水平 <sup>1)</sup> Factor and level <sup>1)</sup>				分化率/% Differentiation rate	增殖系数 Multipli- cation coefficient
	A	B	C	D		
F1	1.00	0.10	0.01		16.67	1.40
F2	1.00	0.30	0.05		50.00	1.47
F3	1.00	0.50	0.10		23.33	1.57
F4	3.00	0.10	0.05		20.00	2.33
F5	3.00	0.30	0.10		53.33	3.13
F6	3.00	0.50	0.01		26.67	2.75
F7	5.00	0.10	0.10		20.00	2.00
F8	5.00	0.30	0.01		45.56	2.00
F9	5.00	0.50	0.05		25.56	2.25
K1	0.300	0.189	0.296	0.319		
K2	0.333	0.496	0.319	0.322		
K3	0.304	0.252	0.322	0.296		
R	0.033	0.307	0.026	0.026		

<sup>1)</sup> A: 6-BA 质量浓度 Concentration of 6-BA (mg · L<sup>-1</sup>); B: NAA 质量浓度 Concentration of NAA (mg · L<sup>-1</sup>); C: IBA 质量浓度 Concentration of IBA (mg · L<sup>-1</sup>); D: 空列 Blank.

### 3 讨论和结论

大多数情况下,在植物组织培养过程中只用生长素 2,4-D 就可成功地诱导植物外植体产生愈伤组织,通常采用的质量浓度范围为  $0.001 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。但在只含 2,4-D 的培养基上诱导出的植物愈伤组织比较松软,多呈玻璃化状态,一般不易分化,且再生频率很低。将 2,4-D 与 NAA 组合使用,不仅能使愈伤组织变得比较致密、质地较硬、颗粒状结构增多,且易于愈伤组织的分化,提高了植株的再生频率<sup>[15]</sup>。据此,作者通过  $L9(3^4)$  正交实验筛选出适宜于杜衡叶柄愈伤组织诱导的培养基为添加  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA、 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 和  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D 的 MS 培养基(包含  $6.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂和  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖, pH 5.8 ~ pH 6.0)。

通过  $L9(3^4)$  正交实验筛选出适宜于杜衡叶柄愈伤组织分化和不定芽增殖的培养基为添加  $3.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA、 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA 和  $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 的 MS 培养基(含  $6.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂和  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖, pH 5.8 ~ pH 6.0)。NAA 可以促进愈伤组织的分化,使分化率提高;6-BA 是愈伤组织分化过程中常用的植物激素,可以使愈伤组织分化出较多的不定芽,且芽密、呈丛状,但不定芽细高且瘦弱;而 IBA 可以弥补 6-BA 的这一缺点,起到壮苗的作用,且能促进试管苗的生根。因此,在愈伤组织分化培养基中同时添加适量的 6-BA、NAA 和 IBA 这 3 种外源植物激素,对杜衡叶柄愈伤组织分化以及不定芽增殖均具有良好的促进效应。

本研究结果为产业化生产杜衡提供了理论指导,不仅对杜衡药用功能的进一步开发利用具有重要价

值,也对珍稀动物——中华虎凤蝶的保护工作具有实际意义。

#### 参考文献:

- [1] 江苏省植物研究所. 江苏植物志: 下册[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1982: 90-91.
- [2] 吴晶, 居峰, 万志洲, 等. 紫金山中华虎凤蝶生态环境及起源探讨[J]. 林业科技开发, 2007, 21(6): 53-56.
- [3] 李洪林, 龙云铭, 杨波. 杜衡的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(4): 454.
- [4] 王金平, 袁正仿, 赵兴兵. 杜衡的组织培养研究[J]. 信阳师范学院学报: 自然科学版, 2000, 13(3): 310-312.
- [5] 周建中. 杜衡离体繁殖的研究[J]. 生物学杂志, 2002, 19(4): 16-18.
- [6] 姜燕琴, 於虹, 邓桂秀, 等. ZT 和 2iP 对 3 个南方高丛蓝浆果优选系丛生枝增殖及生长的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2009, 18(4): 23-27.
- [7] 宿静, 汤庚国, 万劲, 等. 香果树茎段和叶片的组织培养[J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(1): 71-74.
- [8] 高新一. 植物无性繁殖实用技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2003: 391-392.
- [9] 谷佳南, 司龙亭, 高兴, 等. 黄瓜花药培养愈伤组织诱导及再生的研究[J]. 江苏农业科学, 2009(3): 37-39, 46.
- [10] 邱璐, 子桂才, 范树国, 等. 正交试验法优选贯叶连翘组织培养条件[J]. 江苏农业科学, 2009(3): 40-42.
- [11] 李志辉, 黄振, 杨模华, 等. 马尾松幼苗茎段愈伤组织诱导的研究[J]. 中南林业科技大学学报: 自然科学版, 2009, 29(2): 30-33.
- [12] 李代丽, 康向阳. 植物愈伤组织培养中外源激素效应的研究现状与展望[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(3): 546-548.
- [13] 戴云新, 张健, 李敏, 等. NAA 和 IBA 对非洲菊组培苗生根的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(19): 8845-8847.
- [14] 杜春芳, 吴霞, 李燕娥. IBA 对棉花组培苗生根的影响[J]. 中国棉花, 2006, 33(11): 15-16.
- [15] 田文忠. 提高籼稻愈伤组织再生频率的研究[J]. 遗传学报, 1994, 21(3): 215-221.