

## 松潘乌头块根愈伤组织诱导及再生体系的建立

雷颖\*

甘肃林业职业技术学院园林工程系, 甘肃天水741020

**摘要:** 以野生松潘乌头块根为材料, 进行愈伤组织诱导与植株再生培养。由于松潘乌头离体培养时, 组织褐变严重, 因此在愈伤组织诱导前须进行除褐培养, 培养基以MS+6-BA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>+VC 300 mg·L<sup>-1</sup>+PVP 200 mg·L<sup>-1</sup>效果较好, 连续转移3次后褐变率显著降低到10%。适宜的愈伤组织诱导培养基为MS+2,4-D 3.0 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+LH 500 mg·L<sup>-1</sup>, 诱导率100%; 不定芽分化培养基为MS+ZT 1.0 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>, 分化率93%; 不定芽增殖培养基为MS+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.3 mg·L<sup>-1</sup>, 平均增殖倍数为6.0左右; 生根培养基为1/2MS+IAA 0.3 mg·L<sup>-1</sup>+VC 100 mg·L<sup>-1</sup> (或PVP 300 mg·L<sup>-1</sup>), 平均生根数10条左右, 生根率为96%以上。将瓶苗移栽于森林土和蛭石以1:1 (V/V)混合的基质中, 生长良好, 成活率达90%以上。

**关键词:** 松潘乌头; 块根; 愈伤组织诱导; 植株再生

## Callus Induction and Establishment of Regeneration System of *Aconitum sunpanense* Hand.-Mazz. Root

LEI Ying\*

Department of Landscape Engineering, Gansu Forestry Technological College, Tianshui, Gansu 741020, China

**Abstract:** *Aconitum sunpanense* root was taken as the experimental material to make a study of callus induction and plant regeneration. The results showed that during *in vitro* culture of *A. sunpanense*, the tissues suffered from severe browning, and so it was indispensable to make the control of browning before callus induction. The medium of MS+6-BA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>+VC 300 mg·L<sup>-1</sup>+PVP 200 mg·L<sup>-1</sup> was beneficial to browning controlling, which was shown by the fact that the browning rate significantly reduced to 10% after three continuous transfer. The medium of MS+2,4-D 3.0 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+LH 500 mg·L<sup>-1</sup> was the best choice for callus induction and the induction rate rose by 100%. The medium of MS+ZT 1.0 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> was suitable for adventitious shoot differentiation, with a rate of 93%. The medium of MS+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.3 mg·L<sup>-1</sup> was optimum for adventitious shoot proliferation and the average proliferation rate amounted to 6.0. The medium of 1/2MS+IAA 0.3 mg·L<sup>-1</sup>+VC 100 mg·L<sup>-1</sup> (or PVP 300 mg·L<sup>-1</sup>) was effective in rooting, which was indicated by the number of roots per shoot (about 10) and by the higher rooting rate (over 96%). The plantlets were transplanted to the growth matrix composed of forest soil and vermiculite (1:1, V/V) and grew perfectly, with a survival rate of 90%.

**Key words:** *Aconitum sunpanense*; root; callus induction; plant regeneration

松潘乌头是毛茛科乌头属多年生缠绕藤本(中国科学院植物研究所1972), 长达2.5 m。总状花序, 花淡蓝色, 长约4 cm, 上部萼片高帽形, 侧面萼片倒卵圆形, 下部萼片狭椭圆形。花期8~9月。种子或分根繁殖。产于甘肃、陕西、宁夏、山西、青海、四川, 生于海拔1 200~3 200 m山坡灌丛中或林缘。药用植物, 全草剧毒, 具有较强的镇痛作用, 其药理作用有祛风止痛、散瘀消肿之功效, 民间用于跌打损伤、风湿性、类风湿性关节炎引起的疼痛和红肿等症(佟姝丽等2007)。可观花, 用于垂直绿化中栽植攀援篱笆或墙垣, 亦可作切花(姚德生等2001)。

松潘乌头在药用和观赏方面的价值已引起人们的广泛关注, 甘肃神龙戎发药业股份有限公司将其作为创新镇痛天然藏药, 对有效部位及滴丸制剂做了临床前研究。但松潘乌头自然资源种群数量少, 自然更新能力差, 分根繁殖, 繁殖系数很小, 远远不能满足生产的需要。本研究通过块根诱导, 对野生松潘乌头进行组织培养, 建立快速繁殖体系, 旨在解决松潘乌头野生资源匮乏、药源

收稿 2014-10-08 修定 2014-10-27

资助 兰州市科技计划项目(2011-1-140)。

\* 通讯作者(E-mail: leiyinggl@163.com; Tel: 0938-2111090)。

短缺、自然繁殖能力差的问题,以满足生产需要。目前,对松潘乌头块根诱导再生体系的研究国内外尚未见报道。

## 材料与amp;方法

### 1 外植体来源及处理

野生松潘乌头(*Aconitum sungpanense* Hand.-Mazz.)采自甘肃小陇山林区。11月初林下温度0℃左右时,材料表面微生物浸染较轻,采挖松潘乌头的块根(严棋栋2013),用清水冲去泥土后,置于营养液中,隔天换液一次,1周后使用。

将水培后顶部鲜白的松潘乌头幼嫩块根在加有洗洁精的清水中用毛刷轻轻刷洗,流水冲洗干净后,在超净工作台上,放入70%的酒精中浸30 s,无菌水冲洗3遍,转入饱和漂白粉上清液中(加入3滴吐温-80),灭菌20 min后,无菌水冲洗3遍,再在0.1%的升汞溶液中消毒5 min,无菌水冲洗5~8次,放在铺有滤纸的接种盘中。将灭过菌的幼嫩块根在距顶端0.5~1.0 cm处横切,去掉尾部,将上切块四分法纵切后接种到除褐培养基中进行培养。

### 2 培养条件

各阶段培养基中均加入3%的蔗糖(生根培养为2%)和6 g·L<sup>-1</sup>琼脂, pH 5.6 (邬秀宏等2012)。培养温度为(18±2)℃ (杨亚萍和郑新强2013),光周期12 h/12 h (光/暗),光照强度约30 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> (王苑和谢凝子2007)。

### 3 除褐培养

除褐培养以MS+6-BA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>为基本培养基,添加不同浓度的维生素C (VC)和聚乙烯吡咯烷酮(PVP) (张俊琦和罗晓芳2006),共7个处理,每个处理10瓶,每瓶接种1个外植体,重复3次。每隔24 h转瓶一次(刘敏2002),连续转移3次。继续培养10 d后观察并统计褐变率=[褐化(死亡的)外植体数/接种外植体数]×100%。

### 4 愈伤组织培养

将除褐培养所得的材料转接到愈伤组织诱导培养基中,遮光培养,愈伤组织诱导以MS+水解乳蛋白(LH) 500 mg·L<sup>-1</sup>为基本培养基,采用6-BA与2,4-D的两因素三水平随机设计,共9个处理,每个处理10瓶,每瓶接种1个外植体,重复3次。暗培养10 d后转入正常光照下,40 d后观察并统计愈伤组

织诱导率=(形成细胞团的外植体数/接种外植体数)×100%。

### 5 不定芽分化

将外植体培养50 d后产生的优质愈伤组织块转接到不定芽分化培养基上。分化培养以MS+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>为基本培养基,加入不同浓度的ZT与6-BA,共7个处理,每个处理10瓶,每瓶接种1块愈伤组织,重复3次。培养40 d后观察并统计分化率和平均芽数,不定芽分化率=(萌芽的愈伤组织块/接种的愈伤组织块)×100%;平均芽数=萌芽总数/接种块数。

### 6 嫩茎的增殖培养

将分化培养所得的簇生芽切下,较长嫩茎切成0.5~1.0 cm的小段,转入增殖培养基上培养。增殖培养以MS为基本培养基,添加不同浓度的6-BA与NAA,共9个处理,每个处理10瓶,每瓶接种3块幼茎,重复3次。培养40 d后观察并统计增殖倍数与平均苗高,增殖倍数=培养增长节位数(或芽苗数)/接种时节位数(或芽苗数);平均苗高=苗高总和/总苗数。

### 7 试管苗生根

当不定芽长到2~3 cm时,切下芽苗转接到生根培养基上培养。生根培养以1/2MS为基本培养基,添加不同浓度的IAA和IBA,共6个处理,每个处理10瓶,每瓶接种3块幼苗,重复3次。培养30 d后观察并统计生根率与平均根数,生根率=(生根茎段数/接种茎段数)×100%;平均根数=每处理生根总数/诱导生根的总苗数。

当幼根长到1 cm左右时,根尖出现褐变现象,采用生根培养的最佳组合(1/2MS+IAA 0.3 mg·L<sup>-1</sup>)为基本培养基,添加不同浓度的VC和PVP,共7个处理,每个处理10瓶,每瓶接种1个幼苗,重复3次。30 d后观察并统计褐变率=(根尖褐变幼苗数/供试幼苗总数)×100%。

### 8 移栽

将生根的瓶苗不打开盖在炼苗室放置2~3 d,然后打开盖再放置2~3 d,取出苗,洗净根部培养基,移栽到由森林土和蛭石以1:1 (V/V)混合的基质上,保持环境温度在20℃左右,相对湿度90%~100%,适当遮荫,后期逐渐通风,增加光照。计算移栽成活率=(移栽成活数/总移栽数)×100%。

## 9 数据的统计分析

采用Excel统计数据,并结合计算器对试验观察数据资料进行处理和统计分析,在 $F_{0.05}$ 水平上进行差异显著性检验后,用新复极差法(SSR)法进行多重比较。

## 实验结果

### 1 VC和PVP对外植体抗褐变的影响

将松潘乌头块根外植体接种到添加不同浓度VC和PVP的MS+6-BA  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基上,结果表明,VC和PVP对外植体抗褐变的影响显著,其中,添加 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  VC和 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  PVP培养基上的褐变程度显著低于其他处理,且VC的抗褐变作用大于PVP(表1)。因此,MS+6-BA  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +VC  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +PVP  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 是较理想的除褐培养基,10 d后褐变率可降低到10%左右(图1-A)。

表1 VC和PVP对初代培养中褐变的影响

Table 1 Effects of VC and PVP on browning in primary culture

| 处理编号 | 处理浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ |     | 褐变率/%                    |
|------|-------------------------------------|-----|--------------------------|
|      | VC                                  | PVP |                          |
| 对照   | 0                                   | 0   | 100.00±0 <sup>c</sup>    |
| 1    | 200                                 | 0   | 61.26±1.45 <sup>b</sup>  |
| 2    | 0                                   | 200 | 74.58±2.95 <sup>c</sup>  |
| 3    | 300                                 | 0   | 40.48±2.36 <sup>b</sup>  |
| 4    | 0                                   | 300 | 64.86±1.07 <sup>b</sup>  |
| 5    | 200                                 | 300 | 50.46±1.50 <sup>b</sup>  |
| 6    | 300                                 | 200 | 10.10±1.57 <sup>a</sup>  |
| 7    | 300                                 | 300 | 31.90±1.67 <sup>ab</sup> |

数据为平均值±标准差,同列数字旁不同小写字母表示有显著差异( $P<0.05$ );表2~6同此。

### 2 不同植物生长调节剂组合对愈伤组织诱导的影响

将经除褐培养的外植体转入愈伤组织诱导培养基中,1周后外植体开始膨大,2周后可见明显的愈伤组织,且表面有小疣突(图1-B)。6-BA和2,4-D对愈伤组织诱导的效果显著,诱导率随6-BA和2,4-D浓度的升高而增大,但当两者浓度分别大于 $2.0$ 和 $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,诱导率下降,愈伤组织松散透明,失去了不定芽分化的能力(表2)。综合分析表明,MS+2,4-D  $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA  $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +LH  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 是较为理想的愈伤组织诱导培养基,诱导率为100%,愈伤组织块致密,表面有小疣突,有较好的不定芽分化能力。

### 3 不同植物生长调节剂组合对不定芽分化的影响

将愈伤组织转接于分化培养基上,20 d后有少量不定芽产生,40 d长出密集的深绿色不定芽(图1-C)。由表3可见,6-BA、ZT、NAA对芽苗分化有显著影响,在不同植物生长调节剂组合中,以添加6-BA  $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、ZT  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、NAA  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的MS培养基较适合不定芽的分化,分化率为93%,平均芽数6.5个,芽苗生长健壮。

### 4 不同植物生长调节剂组合对丛生芽增殖的影响

表4显示,6-BA与NAA对芽苗增殖的影响显著,增殖倍数随其浓度的升高而增加,但当6-BA和NAA浓度分别大于 $2.0$ 和 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,增殖倍数下降,且产生一定数目的玻璃苗,基部有较多愈伤组织。因此,综合考虑以上试验结果,松潘乌头芽苗增殖培养较适宜的培养基为MS+6-BA  $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA  $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,芽苗生长健壮,叶色深绿,增殖倍数为6.0左右,平均苗高4.2 cm左右(图1-D和E)。

### 5 不同浓度IAA与IBA对嫩茎生根的影响

丛生芽苗增殖培养几代后,转入生根培养基中培养,30 d后的培养结果显示:IAA和IBA对芽苗生根都有影响,IAA的影响大于IBA,其中,在添加 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA的1/2MS培养基上,生根率为96%,平均生根数11.4条左右,均明显高于其他处理(表5)。另外,由于松潘乌头幼根生长到1 cm左右时,根尖会逐渐出现褐变现象,因此,在培养基中加入VC和PVP以抗褐化。结果显示,在添加 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  VC或 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  VC+ $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  PVP的培养基上,褐化率为0,但植株生长受抑制;而添加 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  VC或 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  PVP时,虽少量根尖有轻度褐化,但幼苗生长健壮且旺盛(表6)。因此,较适合生根培养的培养基为:1/2MS+IAA  $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +VC  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (或PVP  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),根的生长良好,褐变率低(图1-F和G)。将生根的试管苗移栽,20 d后成活率达90%,30 d后移栽苗在常规条件下生长良好(图1-H)。

## 讨 论

松潘乌头块根内酚类物质含量较高,切割外植体时,切口附近细胞受到伤害,酚类化合物外溢氧化成褐色的醌类物质和水,醌类物质会在酶的作用下与外植体组织蛋白聚合,从而导致组织代

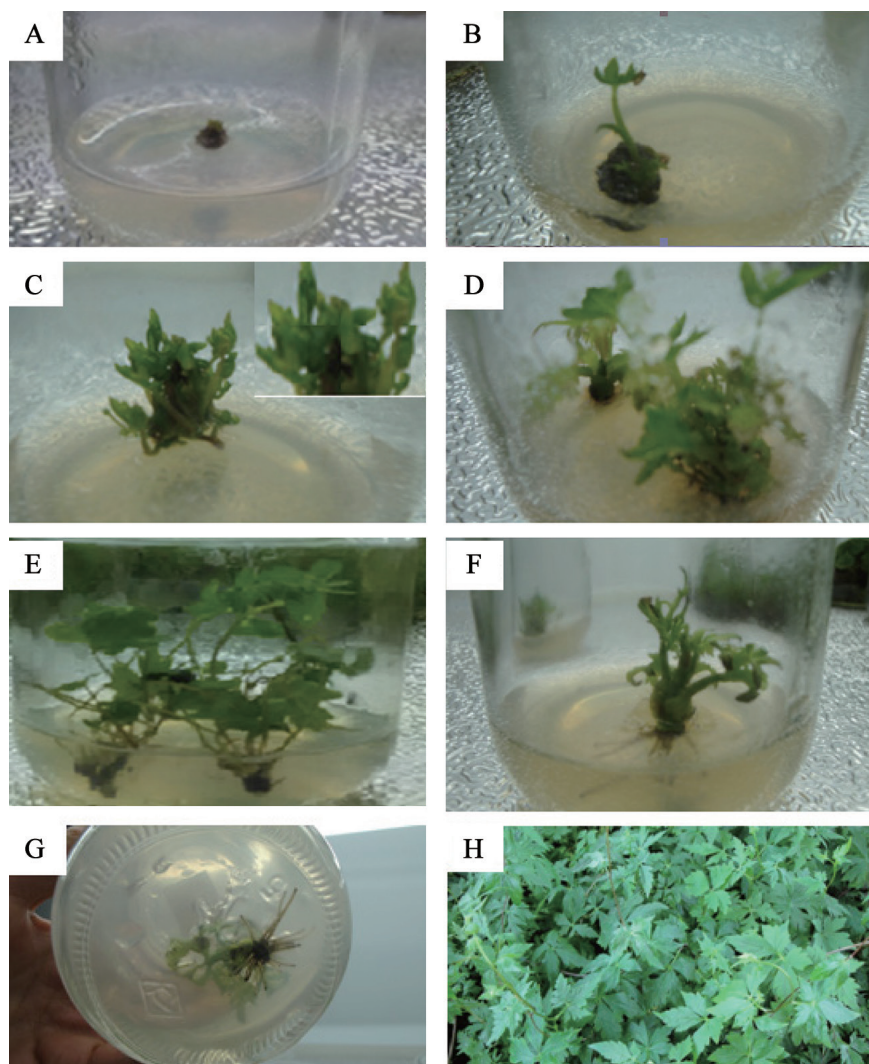


图1 松潘乌头块根再生体系的建立

Fig.1 Establishment of regeneration system of *A. sunpanense* root

A: 除褐培养10 d; B: 愈伤组织诱导培养40 d; C: 不定芽分化培养40 d; D: 继代培养30 d; E: 转接继代1周; F: 生根培养40 d; G: 根的生长状态; H: 移栽成活的试管苗。

表2 不同植物生长调节剂组合对愈伤组织诱导的影响

Table 2 Effects of different combinations of plant growth regulators on callus induction

| 处理编号 | 生长调节剂浓度/mg·L <sup>-1</sup> |       | 诱导率/%                    | 愈伤组织形态     |
|------|----------------------------|-------|--------------------------|------------|
|      | 6-BA                       | 2,4-D |                          |            |
| 1    | 1.0                        | 2.0   | 15.70±2.83 <sup>c</sup>  | 致密         |
| 2    | 1.0                        | 3.0   | 47.56±1.72 <sup>b</sup>  | 致密         |
| 3    | 1.0                        | 4.0   | 31.76±2.83 <sup>b</sup>  | 较松散        |
| 4    | 2.0                        | 2.0   | 33.22±2.66 <sup>b</sup>  | 致密         |
| 5    | 2.0                        | 3.0   | 100.00±0 <sup>a</sup>    | 致密, 表面有小疣突 |
| 6    | 2.0                        | 4.0   | 60.66±2.04 <sup>ab</sup> | 较松散        |
| 7    | 3.0                        | 2.0   | 100.00±0 <sup>a</sup>    | 松散透明       |
| 8    | 3.0                        | 3.0   | 58.14±1.24 <sup>b</sup>  | 松散透明       |
| 9    | 3.0                        | 4.0   | 55.20±3.11 <sup>b</sup>  | 褐色玻璃状      |

表3 不同植物生长调节剂组合对不定芽分化的影响

Table 3 Effects of different combinations of plant growth regulators on adventitious shoot differentiation

| 处理编号 | 植物生长调节剂浓度/mg·L <sup>-1</sup> |     |     | 分化率/%                    | 平均芽数/个                  |
|------|------------------------------|-----|-----|--------------------------|-------------------------|
|      | 6-BA                         | ZT  | NAA |                          |                         |
| 1    | 1.0                          | 1.0 | 0.5 | 10.56±1.86 <sup>c</sup>  | 1.26±0.80 <sup>b</sup>  |
| 2    | 1.0                          | 2.0 | 0.5 | 41.70±2.54 <sup>bc</sup> | 2.14±0.22 <sup>b</sup>  |
| 3    | 2.0                          | 1.0 | 0.5 | 93.06±1.17 <sup>a</sup>  | 6.52±0.65 <sup>a</sup>  |
| 4    | 2.0                          | 2.0 | 0.5 | 62.60±1.95 <sup>b</sup>  | 3.54±0.64 <sup>b</sup>  |
| 5    | 3.0                          | 1.0 | 0.5 | 50.80±2.28 <sup>bc</sup> | 4.12±0.66 <sup>ab</sup> |
| 6    | 3.0                          | 2.0 | 0.5 | 23.20±2.39 <sup>c</sup>  | 1.40±0.90 <sup>b</sup>  |
| 7    | 4.0                          | 0   | 0.5 | 0±0 <sup>c</sup>         | 0±0 <sup>c</sup>        |

表4 不同植物生长调节剂组合对丛生芽增殖的影响

Table 4 Effects of different combinations of plant growth regulators on multiple shoot proliferation

| 处理编号 | 植物生长调节剂浓度/mg·L <sup>-1</sup> |     | 增殖倍数                    | 平均苗高/cm                 | 丛生芽生长情况                     |
|------|------------------------------|-----|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|
|      | 6-BA                         | NAA |                         |                         |                             |
| 1    | 1.0                          | 0.1 | 2.12±0.54 <sup>b</sup>  | 1.48±0.56 <sup>b</sup>  | 芽苗较细弱, 叶色浅绿, 无愈伤组织和玻璃苗      |
| 2    | 1.0                          | 0.3 | 3.10±0.55 <sup>b</sup>  | 2.08±0.22 <sup>b</sup>  | 芽苗较细弱, 叶色浅绿, 无愈伤组织和玻璃苗      |
| 3    | 1.0                          | 0.5 | 2.46±0.46 <sup>b</sup>  | 1.86±0.55 <sup>b</sup>  | 芽苗细弱, 叶色淡绿, 无玻璃苗, 有少量愈伤组织   |
| 4    | 2.0                          | 0.1 | 2.88±0.24 <sup>b</sup>  | 2.20±0.35 <sup>b</sup>  | 芽苗较粗壮, 叶色正常, 无愈伤组织和玻璃苗      |
| 5    | 2.0                          | 0.3 | 5.96±0.71 <sup>a</sup>  | 4.22±0.65 <sup>a</sup>  | 芽苗健壮, 叶色深绿, 无愈伤组织和玻璃苗       |
| 6    | 2.0                          | 0.5 | 4.04±0.36 <sup>ab</sup> | 2.66±0.46 <sup>ab</sup> | 芽苗健壮, 叶色深绿, 无玻璃苗, 有少量愈伤组织   |
| 7    | 3.0                          | 0.1 | 3.22±0.30 <sup>b</sup>  | 2.28±9.46 <sup>b</sup>  | 芽苗较粗壮, 叶色深绿, 有10%玻璃苗, 无愈伤组织 |
| 8    | 3.0                          | 0.3 | 2.20±0.47 <sup>b</sup>  | 1.58±0.38 <sup>b</sup>  | 芽苗粗短, 叶色深绿, 有15%玻璃苗和较多愈伤组织  |
| 9    | 3.0                          | 0.5 | 1.10±0.74 <sup>c</sup>  | 1.00±0.35 <sup>b</sup>  | 芽苗矮小, 叶深绿皱缩, 有22%玻璃苗和较多愈伤组织 |

表5 不同植物生长调节剂组合对生根的影响

Table 5 Effects of different combinations of plant growth regulators on rooting

| 处理编号 | 植物生长调节剂浓度/mg·L <sup>-1</sup> |     | 生根率/%                    | 平均根数/条                  | 根的形态            |
|------|------------------------------|-----|--------------------------|-------------------------|-----------------|
|      | IAA                          | IBA |                          |                         |                 |
| 1    | 0.1                          | 0   | 61.32±2.99 <sup>ab</sup> | 4.96±0.71 <sup>bc</sup> | 比较细弱            |
| 2    | 0.3                          | 0   | 96.00±1.22 <sup>a</sup>  | 11.40±0.82 <sup>a</sup> | 健壮, 颜色艳白        |
| 3    | 0.5                          | 0   | 67.80±2.28 <sup>ab</sup> | 7.06±0.85 <sup>b</sup>  | 较为整齐            |
| 4    | 0                            | 0.1 | 49.00±2.65 <sup>b</sup>  | 4.06±0.56 <sup>bc</sup> | 健壮, 颜色艳白        |
| 5    | 0                            | 0.3 | 39.20±2.28 <sup>b</sup>  | 3.04±0.72 <sup>c</sup>  | 基部有少量愈伤组织       |
| 6    | 0                            | 0.5 | 22.70±1.86 <sup>b</sup>  | 1.66±0.42 <sup>c</sup>  | 基部有大量愈伤组织, 尖端褐化 |

谢紊乱, 生长停滞(曹孜义和刘国民1999; 陈正华1986; 孙敬三和桂耀林1995)。因此, 在愈伤组织诱导及芽苗分化培养前必须降低褐变的危害。不同植物对抗褐化剂的要求不同(王苑和谢凝子2007; 牛佳佳等2009), 本试验在初代培养和生根培养阶段, 分别添加VC 300 mg·L<sup>-1</sup>+PVP 200 mg·L<sup>-1</sup>及VC 100 mg·L<sup>-1</sup> (或PVP 300 mg·L<sup>-1</sup>), 可有效抑制褐变对愈伤组织诱导和幼根生长的影响。

松潘乌头是林下植物, 环境条件对其组织分化和器官再生具有重要影响。本试验采用低温(18±2)℃、弱光(30 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)、培养基低pH值(5.6)的培养条件, 有利于再生体系的建立。另外, 在生根过程中, 降低糖浓度, 以促进根原基的形成(雷颖2003), 新根生长快, 数目多, 平均生根达11.4条左右, 生根率为96%左右。

本研究获得了松潘乌头块根培养较高的不定

表6 VC和PVP对生根培养中褐变的影响  
Table 6 Effects of VC and PVP on browning in rooting culture

| 处理编号 | 处理浓度/mg·L <sup>-1</sup> |     | 褐变率/%                   |
|------|-------------------------|-----|-------------------------|
|      | PVP                     | VC  |                         |
| 对照   | 0                       | 0   | 100.00±0 <sup>e</sup>   |
| 1    | 0                       | 50  | 21.56±1.22 <sup>c</sup> |
| 2    | 0                       | 100 | 4.02±0.26 <sup>b</sup>  |
| 3    | 0                       | 200 | 0±0 <sup>a</sup>        |
| 4    | 100                     | 0   | 34.56±1.85 <sup>d</sup> |
| 5    | 200                     | 0   | 16.36±1.16 <sup>c</sup> |
| 6    | 300                     | 0   | 7.36±0.93 <sup>b</sup>  |
| 7    | 100                     | 100 | 0±0 <sup>a</sup>        |

芽再生率,且所需时间较短,为采用其他组织或器官培养再生植株提供了参考,也为其遗传转化提供了有效方法。

#### 参考文献

- 曹孜义,刘国民(1999).实用植物组织培养技术教程.兰州:甘肃科学技术出版社
- 陈正华(1986).木本植物组织培养及其运用.北京:高等教育出版社
- 雷颖(2003).黄海棠的组织培养与快速繁殖.甘肃农业大学学报,38(3):357~360
- 刘敏(2002).花卉组织培养与工厂化生产.北京:地质出版社
- 牛佳佳,吴静,贺丹,何松林(2009).牡丹离体培养中褐化问题的研究进展.中国农学通报,25(11):34~37
- 孙敬三,桂耀林(1995).植物细胞工程实验技术.北京:科学出版社
- 佟姝丽,崔九成,袁菊丽(2007).松潘乌头的研究进展.陕西中医,7(7):900
- 王苑,谢凝子(2007).植物组织培养中褐变现象及抗褐变研究进展.黔西南民族师范高等专科学校学报,(3):109~113
- 邬秀宏,李中林,陈正明,朱学栋,邓敏,张莹,王廷华,唐敏(2012).茶树组织培养中外植体褐化控制的研究.西南农业学报,25(3):1065~1068
- 严棋栋(2013).关于园林植物组织培养过程中褐化问题的探讨.现代园艺,(3):124
- 杨亚萍,郑新强(2013).茶树组织培养中的褐化控制研究.茶叶,39(1):3~7
- 姚德生,任继文,樊辉(2001).甘肃野生花卉.兰州:甘肃科学技术出版社
- 张俊琦,罗晓芳(2006).牡丹组织培养中褐化的发生原因与防止方法的研究.沈阳农业大学学报,37(5):720~724
- 中国科学院植物研究所(1972).中国高等植物图鉴第一册.北京:科学出版社