

李宛宣,王爽,赵雁.掌叶梁王茶无菌扦插和愈伤组织诱导[J].黑龙江农业科学,2019(11):9-13,44.

掌叶梁王茶无菌扦插和愈伤组织诱导

李宛宣,王 爽,赵 雁

(云南农业大学 园林园艺学院,云南 昆明 650201)

摘要:为进一步促进掌叶梁王茶无菌快繁和生产利用,以一年生具有腋芽的掌叶梁王茶枝条为无菌扦插材料,用0.1% HgCl₂对其消毒不同时间,接入KT和NAA不同浓度配比的MS培养基中,观察其染菌率、黄化率以及诱导率。以无菌扦插所获无菌苗的叶片作为外植体,接入NAA与6-BA或TDZ不同激素配比的MS培养基中,观察其出愈率。研究结果表明:消毒时间为11 min时,染菌率为30.28%,黄化率为40.35%,掌叶梁王茶茎段消毒效果最好。NAA和KT药剂对茎段诱导无菌苗均有影响,KT药剂影响达极显著水平,NAA药剂影响达显著水平,两因子间无互作效应,因子影响顺序为KT>NAA。用0.10 mg·L⁻¹ NAA+0.50 mg·L⁻¹ KT培养基培养,茎段的诱导率最高,达100%。无菌叶片在0.25 mg·L⁻¹ NAA+1.00 mg·L⁻¹ TDZ培养基中诱导,愈伤组织效果最佳,出愈率达93%(P<0.05)。

关键词:掌叶梁王茶;无菌扦插;愈伤组织;生长素;细胞分裂素

掌叶梁王茶[*Nothopanax delavayi* (Franch.) Harms ex Diels]为五加科(Araliaceae)梁王茶属(*Nothopanax*)常绿无刺灌木或小乔木^[1]。全世界约有15种,中国仅有2种2变种,主要分布于云南、四川、贵州等省海拔1 200~3 000 m的山谷阔叶林或混交林中^[2]。掌叶梁王茶在澄江县为特色野生蔬菜,其营养丰富、口感独特,深受大众喜爱^[3]。同时,其还具有生津止泻、清热消炎、抗衰老、双向免疫调节等药效^[4]。掌叶梁王茶的市场需求量大,产量极低、价格高,市场销售的掌叶梁王茶都采摘于野生资源,并非人工栽培,亟需对其进行人工驯化和扩大栽培^[5]。目前,掌叶梁王茶的研究主要在资源的开发和利用^[3,5]、茎叶的成分研究^[4,6-9]和土壤扦插繁殖^[10]等方面,但对无菌快速繁殖等研究仍十分欠缺。

掌叶梁王茶主要以种子和扦插繁殖为主,种子繁殖发芽率低,同时需要较长的休眠期和必须经过后熟才能繁殖,扦插繁殖生根率低和受各种外界因子的影响,这些都制约其人工栽培^[11]。为了不受材料和季节的限制,短期内获得批量种苗,利于规模生产,组培快繁技术显示了突出的优越性^[12-13]。本试验以一年生具有腋芽的掌叶梁王茶枝条为无菌扦插材料,研究消毒时间、KT和

NAA对枝条无菌扦插的影响,以及用无菌扦插所获无菌苗的叶片作为外植体,观察NAA、6-BA和TDZ对愈伤组织形成的影响,旨在为该物种的无菌快繁及批量生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

无菌扦插材料为昆明植物园内一年生具有腋芽的掌叶梁王茶枝条,采后立即放入自封袋中备用,无菌扦插所获无菌苗的叶片用于愈伤组织诱导。

1.2 方法

1.2.1 茎段消毒 用自来水冲洗枝条去除表面脏物,洗洁精水溶液浸泡30 min,自来水冲洗干净,置于干净烧杯中备用。在无菌超净台上将枝条用70%的乙醇消毒3 min,无菌水冲洗3次,用0.1%氯化汞(HgCl₂)消毒不同时间(2,5,8,11,14,17 min),无菌水冲洗6次,无菌滤纸吸干水分,用解剖刀切成2~4 cm具有腋芽的茎段,接种于NAA(3个水平:0.05,0.10,0.50 mg·L⁻¹)和KT(3个水平:0.50,1.00,1.50 mg·L⁻¹)不同激素配比的MS培养基中,蔗糖30 g·L⁻¹,琼脂7 g·L⁻¹,pH为5.8,培养温度为(25±2)℃,光照强度为1 800~2 100 lx,光照时间为14 h/10 h(光/暗)^[14]。同一培养基,不同消毒时间各接种15瓶,每瓶接种1个茎段,重复3次。15 d后统计染菌率和黄化率,染菌率(%)=染菌数/茎段总数×100,黄化率(%)=黄化数/茎段总数×100。

1.2.2 无菌扦插 选出最好的消毒时间后,采用

收稿日期:2019-07-09

基金项目:云南农业大学博士科研启动费(A2002379)。

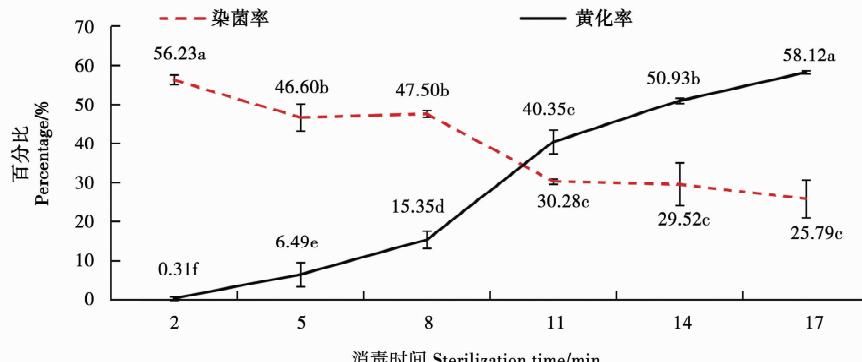
第一作者简介:李宛宣(1993-),女,在读硕士,从事园林植物资源利用与创新研究。E-mail:475411976@qq.com。

通讯作者:赵雁(1974-),女,博士,副教授,从事园林植物和草种质资源与育种研究。E-mail:zhaoyan@ynau.edu.cn。

2 因子 3 水平 L₉(3⁴)正交设计测定不同激素配比的 MS 培养基对无菌苗的诱导率。A 因子为 NAA 药剂(3 个水平:0.05、0.10、0.50 mg·L⁻¹), B 因子为 KT 药剂(3 个水平:0.50、1.00、1.50 mg·L⁻¹), 蔗糖 30 g·L⁻¹, 琼脂 7 g·L⁻¹, pH 为 5.8。每个培养基接种 5 瓶, 每瓶接种 2 个茎段, 重复 3 次。培养温度为(25±2)℃, 光照强度为 1 800~2 100 lx, 光照时间为 14 h/10 h(光/暗)。20 d 后统计无菌苗的诱导率, 诱导率(%)=诱导数/茎段总数×100。

1.2.3 外植体诱导愈伤组织 以无菌扦插所获无菌苗的叶片作为外植体, 用不同浓度 NAA(3 个水平:0.25, 0.50, 0.75 mg·L⁻¹)与 6-BA(3 个水平:0.05, 0.10, 0.50 mg·L⁻¹)或 TDZ(3 个水平:0.10, 0.50, 1.00 mg·L⁻¹)组合的 MS 培养基诱导愈伤组织, 蔗糖 30 g·L⁻¹, 琼脂 7 g·L⁻¹, pH 为 5.8, 培养温度为(25±2)℃, 光照强度为 1 800~2 100 lx, 光照时间为 14 h/10 h(光/暗)。每个处理 10 瓶, 每瓶 3 个外植体, 40 d 后观察出愈率, 出愈率(%)=愈伤组织数/外植体数×100。

1.2.4 数据分析 用 Excel 2013 和 SPSS 17.0 软件进行数据分析。



不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 下同

Different lowercase letters indicate significant difference($P<0.05$), the same below

图 1 消毒时间对掌叶梁王茶茎段染菌率和黄化率的影响

Fig. 1 Effect of disinfection time on bacterial contamination rate and yellowing rate of stem segment of *N. delavayi*

2.2 不同浓度 NAA 和 KT 组合对茎段诱导无菌苗的影响

由表 1 可知, 处理 1~3 的茎段诱导率为 50%~67%, 且差异不显著; 处理 4~6 的茎段诱导率为 60%~100%, 处理 4 与 6 相比差异显著($P<0.05$); 处理 7~9 的茎段诱导率为 50%~63%, 且差异不显著, 说明低浓度(0.05 mg·L⁻¹)和高浓度(0.50 mg·L⁻¹)的 NAA 对茎段无菌苗的诱导影响较小。在 NAA 为 0.10 mg·L⁻¹时, 随

2 结果与分析

2.1 不同消毒时间对茎段染菌率和黄化率的影响

由图 1 可知, 用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒不同时间对掌叶梁王茶茎段的染菌率和黄化率均有影响。随着消毒时间的增加, 茎段的黄化率逐渐升高, 染菌率逐渐降低。在消毒 2~8 min 时, 染菌率为 47.50%~56.23%, 黄化率为 0.31%~15.35%, 说明消毒时间太短, HgCl₂ 溶液还不能杀死附在茎段上的细菌和植物组织内的内生菌(图 2a~b)。在消毒 11~17 min 时, 染菌率为 25.79%~30.28%, 黄化率为 40.35%~58.12%, 说明消毒时间过长, HgCl₂ 溶液对茎段毒害作用较大(图 2c)。综合试验结论得出, 消毒时间为 11 min 时, 掌叶梁王茶茎段的消毒效果最好, 染菌率为 30.28%, 与消毒 2~8 min 相比较低, 差异显著($P<0.05$), 与消毒 14 和 17 min 相比较高, 差异不显著; 黄化率为 40.35%, 与消毒 2~8 min 相比较高, 差异显著($P<0.05$), 与消毒 14 和 17 min 相比较低, 差异显著($P<0.05$)。

着 KT 浓度的升高, 茎段诱导率逐渐降低, 说明低浓度的 KT 对无菌苗的诱导效果最好。处理 4 的茎段诱导率最高(图 3a~d), 达 100%, 这与各因子水平平均值大小预测的最优处理 A₂B₁结果相符, 即用 0.10 mg·L⁻¹ NAA+0.50 mg·L⁻¹ KT 激素配比, 茎段的诱导率最高。由表 1 可知, 2 个因子对掌叶梁王茶茎段诱导无菌苗均有影响, 其中 B 因子影响达极显著水平, A 因子影响达显著水平, 因子影响顺序为 B>A; AB 两因子互作的影

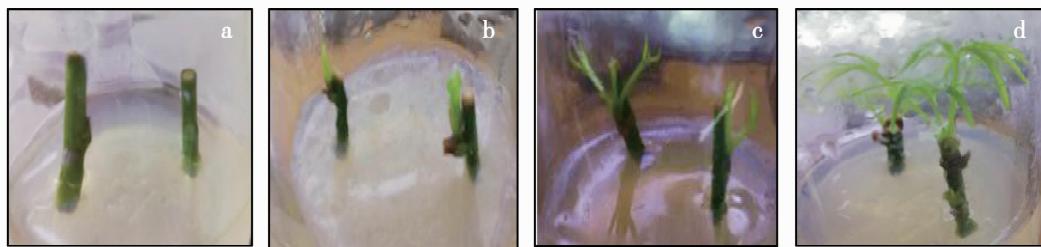
响不显著,则两因子间无互作效应。



a: 灭菌2 min培养5 d的染菌情况; b: 灭菌5 min培养10 d的染菌情况; c: 灭菌17 min培养5 d的黄化情况
a: Bacterial contamination after sterilization for 2 min and culture for 5 d; b: Bacterial contamination after sterilization for 5 min and culture for 10 d; c: Yellowing after sterilization for 17 min and culture for 5 d

图2 掌叶梁王茶茎段染菌和黄化的情况

Fig 2 Bacterial contamination and yellowing of stem segments of *N. delavayi*



a: 0 d; b: 10 d; c: 15 d; d: 20 d

图3 处理4接种不同时间掌叶梁王茶的生长情况

Fig. 3 The growth of *N. delavayi* treatment 4 inoculation at different times

表1 各处理对无菌苗诱导的正交试验结果与分析

Table 1 Orthogonal test results and analysis of each treatment on the induction of free seedlings

处理数 Treatment	A(NAA)	B(KT)	A×B	诱导数 Number of induction		茎段总数 Number of stem section	诱导率 Induction rate/%
				诱导数 Number of induction	茎段总数 Number of stem section		
1	1(0.05)	1(0.50)	1	20	30		67 ab
2	1	2(1.00)	2	15	30		50 b
3	1	3(1.50)	3	15	30		50 b
4	2(0.10)	1	2	30	30		100 a
5	2	2	3	20	30		67 ab
6	2	3	1	18	30		60 b
7	3(0.50)	1	3	19	30		63 b
8	3	2	1	15	30		50 b
9	3	3	2	18	30		60 b
T1	50	69	53				
T2	68	50	63				
T3	52	51	54				
\bar{X}_1	5.56	7.67	5.89				
\bar{X}_2	7.56	5.56	7.00				
\bar{X}_3	5.78	5.67	6.00				
R	2.00	2.11					
F	5.88*	6.91**	0.92				

注: *代表差异显著, **代表差异极显著。

Note: * stands for significant difference at 0.05 level, ** stands for very significant difference at 0.01 level.

2.3 不同浓度 NAA 与 6-BA 或 TDZ 组合对外植体诱导愈伤组织的影响

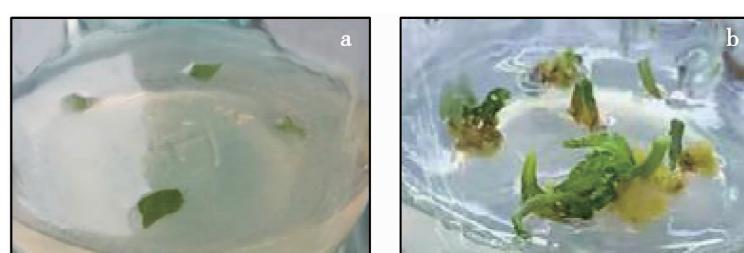
由表 2 可知, 不同浓度 NAA 与 6-BA 或 NAA 与 TDZ 组合对掌叶梁王茶无菌叶片诱导愈伤组织均有影响。处理 1~3, 出愈率为 27%~33%; 处理 4~6, 出愈率为 27%~37%; 处理 7~9, 出愈率为 33%~40%, 说明 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 对无菌叶片出愈率诱导效果较好。处理 10~12, 出愈率为 40%~43%; 处理 13~15, 出愈

率为 43%~50%; 处理 16~18, 出愈率为 53%~93%, 说明 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 对无菌叶片出愈率诱导效果较好。其中同浓度 TDZ 与 6-BA 相比, TDZ 诱导愈伤效果最好。此外, 处理 16 的出愈率最高, 达 93%, 显著高于其他处理 ($P < 0.05$), 即 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 激素配比培养基诱导愈伤组织效果最佳, 颜色呈淡黄色(图 4a~b)。

表 2 不同浓度 NAA 与 6-BA 或 TDZ 组合对叶片诱导愈伤组织的影响

Table 2 Effects of different concentrations of NAA combined with 6-BA or TDZ on leaf induced callus

处理数 Treatment	6-BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	TDZ/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	愈伤组织数/个 Callus number	外植体数/个 Number of explant	出愈率 Rate of callus/%
1	0.05	0.25		10	30	33 bc
2	0.05	0.50		9	30	30 bc
3	0.05	0.75		8	30	27 c
4	0.10	0.25		8	30	27 c
5	0.10	0.50		10	30	33 bc
6	0.10	0.75		11	30	37 bc
7	0.50	0.25		10	30	33 bc
8	0.50	0.50		12	30	40 bc
9	0.50	0.75		10	30	33 bc
10		0.25	0.10	13	30	43 bc
11		0.50	0.10	12	30	40 bc
12		0.75	0.10	13	30	43 bc
13		0.25	0.50	13	30	43 bc
14		0.50	0.50	15	30	50 bc
15		0.75	0.50	14	30	47 bc
16		0.25	1.00	28	30	93 a
17		0.50	1.00	18	30	60 b
18		0.75	1.00	16	30	53 bc



a: 叶片培养0 d; b: 叶片培养40 d
a: Leaf culture for 0 d; b: Leaf culture for 40 d

图 4 处理 16 掌叶梁王茶愈伤组织形成情况

Fig. 4 Callus formation of *N. delavayi* in treatment 16

3 结论与讨论

3.1 消毒时间对外植体染菌率和黄化率的影响

消毒剂不仅能杀灭微生物,也能伤害外植体,因此选择适宜的消毒剂和消毒时间是消毒的关键^[15]。HgCl₂是最常用的消毒剂,杀菌能力最强,对外植体的伤害也最大,不易去除^[15],因此对于不同外植体选择适宜的消毒时间在无菌快繁中至关重要,如东北刺人参(*Oplopanax elatus*)嫩叶用0.1% HgCl₂溶液消毒3 min,鹅掌柴(*Schefflera octophylla*)茎段用0.1% HgCl₂溶液消毒7 min,刺五加(*Acanthopanax senticosus*)茎段用0.1% HgCl₂溶液消毒10 min,人参(*Panax ginseng*)根用0.1% HgCl₂溶液消毒8 min均能有效杀菌^[16-19]。本试验中掌叶梁王茶茎段用0.1%的HgCl₂消毒11 min,染菌率为30.28%,黄化率为40.35%,染菌率和黄化率均偏低。

3.2 不同激素组合对无菌苗和愈伤组织形成的影响

生长素类(2,4-D、NAA、IAA等)和细胞分裂素类(6-BA、KT、TDZ等)的搭配使用被广泛应用于植物组织培养中,外源激素的配比影响着外植体的培养方向,生长素含量比细胞分裂素含量比值高时,有利于根的分化、抑制芽的形成;比值低时,有利于芽的分化,抑制根的形成;比值适中时,有利于愈伤组织的形成^[20-22]。在无菌苗诱导方面,刺五加用MS+0.1 mg·L⁻¹ NAA+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA培养基,东北刺人参用MS+1.0 mg·L⁻¹ BA培养基,鹅掌柴用MS+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+2.0 mg·L⁻¹ KT培养基诱导效果最好^[17-18,23]。在愈伤组织形成方面,人参(*Panax ginseng*)用MS+0.1 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ KT培养基,东北刺人参用N₆+0.2 mg·L⁻¹ 2,4-D+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA培养基诱导效果最好^[16,24]。在细胞分裂素选用方面,KT比BA生理活性高10倍以上,能有效促进细胞分化和芽形成;TDZ是一种新型植物生长调节剂,其效果较6-BA至少高一个数量级,愈伤组织诱导能力远高于其他植物生长调节剂,两者在诱导植物无菌苗和愈伤组织中都起到至关重要的作用^[25-27]。在本试验中掌叶梁王茶用MS+0.10 mg·L⁻¹ NAA+0.50 mg·L⁻¹ KT培养基诱导无菌苗,用MS+0.25 mg·L⁻¹ NAA+1.00 mg·L⁻¹ TDZ培养基诱导愈伤组织效果最好。

3.3 结论

掌叶梁王茶茎段用0.1%的HgCl₂消毒11 min,染菌率为30.28%,黄化率为40.35%,消毒效果最好。用MS+0.10 mg·L⁻¹ NAA+0.50 mg·L⁻¹ KT+30 g·L⁻¹ 蔗糖+7 g·L⁻¹ 琼脂培养基诱导无菌苗,诱导率最高达100%,无菌苗生长状况良好。用无菌苗的叶片接入MS+0.25 mg·L⁻¹ NAA+1.00 mg·L⁻¹ TDZ+30 g·L⁻¹ 蔗糖+7 g·L⁻¹ 琼脂的培养基中,出愈率最高达93%(P<0.05),颜色呈淡黄色。

参考文献:

- [1] 缪明志.梁王茶活性多糖研究[D].兰州:西华师范大学,2005.
- [2] 李嵘,尹利伟,李恒,等.中国梁王茶属植物纪要[J].云南植物研究,2002,24(4): 421-427.
- [3] 侯方.澄江梁王茶资源及开发利用[J].中国林副特产,2006(2):60-61.
- [4] 杨青,张健,欧阳胜,等.掌叶梁王茶茎皮的化学成分研究[J].中国中药杂志,2014,39(10): 1858-1862.
- [5] 解天龙,赵嘉德,业荣.澄江县野生蔬菜梁王茶的开发利用[J].农村实用技术,2015(11): 14-15,13.
- [6] 洪化鹏,程光中.梁王茶成份研究 I 梁王精油组份初探[J].贵州师范大学学报:自然科学版,1991(2):28-31.
- [7] 洪化鹏,程光中,张宏杰,等.梁王茶成分研究 II 梁王茶中的三萜化合物[J].贵州师范大学学报(自然科学版),1993(4):1-3.
- [8] 葛菲,赖学文,宋子荣,等.掌叶梁王茶的镇痛作用研究[J].中国野生植物资源,2000,19(3):50-51.
- [9] 胡英杰,安银岭,沈小玲.良旺茶精油的化学成分[J].林产化学与工业,1991(3): 247-250.
- [10] 王仕玉.梁王茶扦插繁殖初报[J].西南农业大学学报(自然科学版),2004,26(3): 267-269.
- [11] 李翔,宋婷,张颖,等.梁王茶的研究进展[J].北京农业,2015(17): 89-91.
- [12] 叶润燕,童再康,张俊红,等.樟树茎段组培快繁[J].浙江农林大学学报,2016,33(1): 177-182.
- [13] 傅玉兰,李春生,许清松.人参果的组培快繁[J].安徽农业大学学报,2002,29(2): 132-136.
- [14] 韩阳花.野生黑果越橘组培快繁技术研究[J].黑龙江农业科学,2016(3): 12-15.
- [15] 胡凯,张立军,白雪梅,等.植物组织培养污染原因分析及外植体的消毒[J].安徽农业科学,2007,35(3): 60-61.
- [16] 顾地周,朱俊义,姜云天,等.东北刺人参组培快繁培养基的筛选[J].林业科学研究,2008,21(6): 867-870.
- [17] 李燕,石大兴,王米力.鹅掌柴的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2004,40(2): 193-193.
- [18] 张健夫.刺五加的组织培养及快速繁殖的研究[J].长春大学学报,2004,14(4): 75-77.

(下转第 44 页)

Abstract: In order to reduce the amount of nitrogen fertilizer, to define the optimum formula of slow-release polyurea formaldehyde fertilizer for maize. Xinxin No. 1 was used as material. The nitrogen utilization rate of polyurea-based formaldehyde was 1.3, 1.6 and 1.9 times that of common urea. The effects of conventional fertilization, no nitrogen fertilization and several different application rates of polyurea-based formaldehyde on maize yield, nitrogen use efficiency and soil nitrogen content were studied. The results showed that MU50 and MU70 had no significant effect on the content of total nitrogen and alkali-hydrolyzed nitrogen in Maize soil. Nitrogen use efficiency of treatment 2 (1.3 times utilization rate 75% MU50+25% PU) and treatment 3 (1.3 times utilization rate 50% MU50+50% PU) was higher than conventional fertilization, and nitrogen use efficiency of other treatments was lower than conventional fertilization in varying degrees. Under the same amount of fertilizer, the nitrogen use efficiency of MU50 was higher than MU70. Compared with conventional fertilization, reduced nitrogen fertilizer reduced ear diameter, 100-grain weight, increased bald tip length, and reduced yield. There was no significant difference between treatment 2, treatment 12 (1.3 times utilization rate 75% MU50+25% PU) and conventional fertilization. Under the same amount of fertilizer, the yield of MU50 was higher than MU70. In conclusion, Nitrogen fertilizer utilization efficiency of treatment 2 (1.3 times utilization rate 75% MU50+25% PU) was higher while ensuring yield. treatment 2 had the potential of saving fertilizer and increasing efficiency.

Keywords: maize; poly urea formaldehyde(MU); yield; nitrogen use efficiency

(上接第 13 页)

- [19] 邱雪峰. 人参茎组织培养研究[D]. 吉林: 延边大学, 2016: 34.
- [20] 曹昆, 李霞. 木本植物组织培养不定芽诱导研究进展[J]. 江苏林业科技, 2008, 35(5): 47-52.
- [21] 黄勇, 张铁, 张文生, 等. 三七组织培养研究综述[J]. 文山学院学报, 2012, 25(6): 13-15.
- [22] 刘东奇. 植物组织培养过程中生长素和细胞分裂素的配比问题浅析[J]. 中学生物学, 2013, 29(5): 5-6.
- [23] 朴炫春, 廉美兰, 刘继生, 等. 东北刺人参组培快繁的可行
- [24] 性研究[J]. 延边大学农学学报, 2006, 28(1): 10-13.
- [25] 兰兰, 陈笑, 于立荣, 等. 人参快繁条件的优化[J]. 长春师范大学学报(自然科学版), 2014, 36(6): 78-81.
- [26] 曾显斌, 喻春莲. 新型高效植物生长调节剂 KT—30 在几种果蔬上的应用效果[J]. 四川农业科技, 1994(6): 18.
- [27] Carl A H, John E P. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1993, 33(2): 105-119.
- [28] 徐晓峰, 黄学林. TDZ: 一种有效的植物生长调节剂[J]. 植物学通报, 2003, 20(2): 227-237.

Sterile Cuttage and Callus Induction of *Nothopanax delavayi*

LI Wan-xuan, WANG Shuang, ZHAO Yan

(College of Horticulture and Landscape, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: In order to promote further aseptic and rapid propagation and production and utilization of *Nothopanax delavayi*. The bacteria were disinfected with 0.1% $HgCl_2$ at different times, and were put into MS medium with different concentration ratios of KT and NAA, and the infection rate, yellowing rate and induction rate were observed. The leaves of sterile seedlings obtained from aseptic cuttings were used as explants. The recovery rate was observed in MS culture medium with different ratios of NAA and 6-BA or TDZ hormones. The results showed that when the disinfection time was 11 min, the bacterial infection rate was 30.28% and the yellowing rate was 40.35%, the best disinfection effect is on stem segment of *N. delavayi*. Both NAA and KT agents had an effect on stem segment induced no-virus seedlings. KT agents had an extremely significant effect, and NAA agents had a significant effect. There was no interaction effect between the two factors, and the order of factor influence was KT>NAA. When cultured with 0.10 mg·L⁻¹ NAA+0.50 mg·L⁻¹ KT medium, the induction rate of stem segment was the highest, reaching 100%. Sterile blades were induced in 0.25 mg·L⁻¹ NAA+1.00 mg·L⁻¹ TDZ medium, and the callus effect was the best, with a recovery rate of 93% ($P < 0.05$).

Keywords: *Nothopanax delavayi*; sterile cuttings; callus; auxin; cytokinin