

黄檗试管苗生根的研究

金玲玲, 姚睿, 朴炫春, 高日* (延边大学农学院, 吉林延边 133002)

摘要 [目的]探讨黄檗离体培养生根的最佳条件,为建立其再生体系提供理论依据。[方法]以黄檗试管苗为试材,研究 IBA 浓度、培养基和活性炭浓度对其生根的影响。[结果]IBA 浓度为 2.0 mg/L 时,黄檗试管苗的生根率为 64.2%,生根数为 3.9,根长 2.4 cm,且植株生长健壮;3/4MS 培养基是最适合诱导黄檗试管苗生根的基本培养基,地上部生长健壮,地下部生长良好;活性炭对黄檗试管苗生根有明显促进作用,当培养基中加入 1.0 g/L 活性炭时,黄檗试管苗的生根率达 85.1%,生根数达 9.3 条,根平均长度达 3.1 cm。[结论]黄檗试管苗适宜的生根培养基为 3/4 MS + 2.0 mg/L IBA + 1.0 g/L 活性炭。

关键词 黄檗;生根;组织培养

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)04-01442-02

Study on Rooting *in vitro* of *Phellodendron amurense*

JIN Ling-ling et al (Agriculture College, Yanbian University, Yanbian, Jilin 133002)

Abstract [Objective] To explore the best conditions for *in vitro* culture of *Phellodendron amurense* so as to lay technical foundation for regeneration system. [Method] The shoots *in vitro* of *Phellodendron amurense* Rupr. were used as experimental material to investigate the effect of IBA concentration, MS medium strength, and active charcoal concentration on rooting *in vitro*. [Result] The results showed that vigorous growth of plantlet with 3.9 roots per explant and 2.4 cm root length was observed in MS medium supplemented with 2.0 mg/L IBA. MS medium strength affected rooting *in vitro*, 3/4 MS promoted rooting and plantlet growth, and the high biomass was determined. The maximum rooting (85.1%) was obtained in the medium supplanted with 1.0 g/L activity charcoal. [Conclusion] 3/4MS + 2.0 mg/L IBA + 1.0 g/L activity charcoal was suitable for rooting *in vitro* of *Phellodendron amurense*.

Key words *Phellodendron amurense* Rupr.; Rooting; Tissue culture

黄檗(*Phellodendron amurense* Rupr.)为芸香科(Rutaceae)黄檗属(*Phellodendron*)植物,又名黄柏、黄波罗、关黄柏等,主要分布于我国东北小兴安岭南坡、长白山地区和华北燕山山地的北部。黄檗韧皮部主要含有小檗碱等化学成分,是我国名贵中药黄柏的药源植物,也是珍贵的用材树种。由于 20 世纪 80~90 年代人类的严重破坏,野生黄檗资源急剧减少,至 1987 年黄檗被定为渐危种^[1]。目前植物组织培养技术已被广泛应用到濒危物种的扩繁,濒危植物东北红豆杉^[2]和东北刺人参^[3]已分别建立组培体系,而黄檗组培体系的研究主要在愈伤组织诱导^[4]和幼苗的增殖^[5],对黄檗生根研究报道较少,该试验研究了 IBA 浓度、培养基浓度、活性炭浓度对黄檗试管苗生根的影响,以期建立和完善黄檗快繁体系提供理论依据。

1 材料与方

1.1 材料 将经层积处理后的黄檗种子冲洗后,在 70% 的酒精中浸泡 30 s,再在 2% 次氯酸钠溶液中浸泡 20 min(其间不时用手轻轻摇动容器),用无菌水冲洗 5~6 次,接种于 MS 培养基中,培养 2 个月,待种子发芽后,将幼苗切下接种于 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基中,进行大量扩繁,做为该试验的材料。

1.2 方法

1.2.1 IBA 浓度设置。将黄檗试管苗切成长 2 cm 的小段,接种于 MS 培养基中,IBA 的浓度分别设置为 1.0、2.0、3.0、4.0 mg/L 4 个处理,以未加入 IBA 的 MS 培养基作为对照,所

有处理均加入蔗糖 30 g/L,琼脂 7.0 g/L,pH 5.5。用 110 ml 柱状瓶(30 ml 培养基)为容器进行培养,每瓶接种 3 个外植体,每处理接种 5 瓶,培养 40 d 后调查外植体生长情况,培养条件为:温度(25 ± 2) °C,相对湿度 70%,光照照度 1 600 Lux,光照时间 16 h/d。

1.2.2 基本培养基浓度设置。将基本培养基设为 1/4 MS、2/4 MS、3/4 MS、MS 4 个处理,均加入 IBA 2.0 mg/L,蔗糖 30 g/L,琼脂 7.0 g/L,pH 5.5,其他培养条件同“1.2.1”。

1.2.3 活性炭浓度设置。为筛选出适合生根的活性炭浓度,以 3/4MS 为基本培养基,加入 IBA 2.0 mg/L,设置活性炭的浓度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 g/L 4 个处理,以未加入活性炭的培养基作为对照,每处理均加入蔗糖 30 g/L,琼脂 7.0 g/L,pH 5.5,其他培养条件同“1.2.1”。

1.2.4 数据分析。试验数据利用 SPSS 11.0 软件进行统计分析,采用邓肯氏新复极差法作显著性差异分析,显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 IBA 浓度对黄檗试管苗生根的影响 将黄檗试管苗切成 2 cm 小段接种于含不同浓度 IBA 的培养基中,40 d 后调查黄檗生长情况,从表 1 可看出,IBA 浓度为 1.0~2.0 mg/L 时,地上部鲜物重和干物重、地下部根鲜物重和干物重、根数均高于其他处理,且幼苗生长健壮,长势较强;IBA 浓度为 2.0 mg/L 时根长最长达 2.4 cm,且生根率达 64.2%。

2.2 MS 培养基浓度对黄檗试管苗生根的影响 将试管苗接种于不同浓度的 MS 培养基中,20 d 后,幼苗基部开始膨大,25 d 后从膨大的部位长出根系,其中 MS 培养基浓度在 3/4、4/4 时株高、地上部鲜物重和干物重都显著高于其他处理;培养基浓度为 3/4 时地下部根数(6.0)、鲜物重(94.5 mg)、干物重(11.1 mg)、生根率(70.2%)均高于培养基浓度

作者简介 金玲玲(1989-),女,吉林吉林人,专业:植物组织培养。* 通讯作者,讲师,从事植物组织培养研究,E-mail:gaori@ybu.edu.cn。

收稿日期 2012-12-17

为 4/4 和 2/4 的处理(表 2);培养基浓度为 1/4 时,植株根系 只能膨大而不能生长出根系。

表 1 IBA 浓度对黄檗试管苗生根的影响

IBA mg/L	地上部			地下部				
	株高//cm	鲜物重//mg	干物重//mg	根长//cm	根数	鲜物重//mg	干物重//mg	生根率//%
0	3.1 c	143.3 c	5.7 d	0.4 c	0.6 b	6.7 c	0.05 d	8.6
1	5.4 a	343.3 a	32.7 a	1.5 b	4.3 a	66.7 a	6.70 b	52.1
2	5.5 a	273.3 ab	27.4 b	2.4 a	3.9 a	83.3 a	8.20 a	64.2
3	5.1 ab	223.3 bc	21.5 c	1.7 b	2.6 b	30.0 b	3.30 c	62.5
4	3.9 bc	203.3 bc	19.1 cd	0.6 c	2.7 b	23.3 b	3.30 c	53.1

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

表 2 MS 培养基浓度对黄檗试管苗生根的影响

MS 浓度	地上部			地下部				
	株高//cm	鲜物重//mg	干物重//mg	根长//cm	根数	鲜物重//mg	干物重//mg	生根率//%
1/4	3.3 b	41.2 b	13.1 b	-	-	-	-	0
2/4	3.7 b	185.2 b	17.7 b	1.4 b	2.4 b	33.6 c	4.8 c	56.5
3/4	4.6 a	298.3 a	28.3 a	2.6 a	6.0 a	94.5 a	11.1 a	70.2
4/4	5.3 a	297.3 a	27.2 a	2.1 a	2.9 b	76.2 b	8.0 b	62.1

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著;“-”表示没有生根。

2.3 活性炭浓度对黄檗生根的影响 以 3/4MS 为基本培养基,加入 2.0 mg/L 的 IBA,同时在其中分别添加不同浓度的活性炭,接种黄檗试管苗进行培养,由表 3 可知,适合浓度活性炭对生根有明显促进作用,活性炭浓度为 1.0 g/L 时根长(3.5 cm)、根鲜重(120.1 mg)、根干物重(13.7 mg)均高于

其他处理,生根率也达 85.1%。活性炭浓度过高对黄檗试管苗地上部生长有抑制作用,当活性炭浓度超过 1.0 g/L 时,植株高度、鲜物重、干物重明显下降,植株矮小,叶片小而发黄,节间短。

表 3 活性炭浓度对黄檗生根的影响

活性炭浓度 g/L	地上部			地下部				
	株高//cm	鲜物重//mg	干物重//mg	根长//cm	根数	鲜物重//mg	干物重//mg	生根率//%
0	5.4 a	283.0 a	27.3 a	1.8 b	3.4 b	66.3 bc	7.3 c	58.6
0.5	5.6 a	269.0 a	25.4 a	2.2 b	8.3 a	72.0 b	11.3 b	72.4
1.0	5.3 a	277.7 a	25.6 a	3.5 a	9.3 a	120.1 a	13.7 a	85.1
1.5	4.4 b	185.7 b	17.2 b	2.4 b	3.0 b	50.8 d	6.2 d	35.8
2.0	3.1 b	147.3 b	13.4 b	2.2 b	2.3 c	57.7 cd	7.2 c	30.2

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

3 结论与讨论

该研究发现 MS 培养基浓度对黄檗试管苗生根有影响,培养基浓度过低,其中各种化合物含量低,不能满足试管苗生长,导致苗生长瘦弱,根系发育不良或不发育;而培养基浓度过高时,试管苗地上部生长健壮,但不利于根系生长,根数明显变少。在该试验中适合试管苗生长生根的培养基为 3/4MS。活性炭浓度对黄檗生根的影响,一般认为活性炭对诱导生根有利,但关于活性炭促进根伸长的机理并不十分清楚。这可能与活性炭在培养基中能吸附有毒物质,并且可提供暗环境有关,也可能是由于促进根顶端产生生长素从而促进了根的生长。该研究中适量的活性炭浓度(1.0 g/L)促进根系的生长发育,活性炭添加过少不能充分的吸附有毒物质,而活性炭浓度过高,活性炭不仅吸附了有害物质,也有可能吸附生长素和有利于生根的物质^[6-12],因此,黄檗试管苗适宜的生根培养基为 3/4MS + 2.0 mg/L IBA + 1.0 g/L 活性炭。

参考文献

[1] 中国科学院植物研究所. 中国珍稀濒危保护植物名录[M]. 北京: 科学

- 出版社,1987:22.
- [2] 金贞兰,刘继生,鲁京兰,等. 不同培养基对东北红豆杉愈伤组织诱导的影响[J]. 安徽农业科学,2010,38(19):9993-9994.
- [3] 高日,朴炫春,廉美兰,等. 影响东北刺人参试管苗增殖和生根的因素研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(12):6207-6208.
- [4] 郭勇,石大兴,孙雁霞,等. 黄檗的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2005,41(6):792.
- [5] 张玉红,曲伟娣. 培养条件对黄檗快速繁殖影响的研究[J]. 植物研究,2008,28(2):237-239.
- [6] 石兰英,金建丽,于爽,等. 活性炭对火鹤不定芽生根作用的研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(18):9603-9606.
- [7] HUANG K F,SHI Z. A preliminary study on the tissue culture of *Sagittaria trifolia* L. [J]. Agricultural Science & Technology,2011,12(2):201-204.
- [8] 尹铁龙,孙平平. 蕨类植物组织培养研究进展[J]. 园艺与种苗,2012(3):59-61.
- [9] LIU Z L,HE J M,CHEN B,et al. Establishment of tissue culture regeneration systems of stem segments of *Euphorbia tirucalli* [J]. Agricultural Science & Technology,2011,12(3):379-381,465.
- [10] WANG S M,CHENG J P. Preliminary Research on the Tissue Culture of *Asclepius curassavica* [J]. Medicinal Plant,2011,2(11):42-44.
- [11] LUO L Q,ZHANG J,LUO X,et al. Rapid Propagation of *Pteris vittata* L. via Tissue Culture[J]. Agricultural Science & Technology,2012,13(1):68-70.
- [12] 徐春明,赵兵,耿楠. 植物激素和活性炭对新疆雪莲组培苗生根的影响[J]. 中国农学通报,2006,22(2):41-42.