

黑果腺肋花楸组培苗生根培养及驯化的研究

高晔华, 郭朋伟, 高 日, 吴荣哲

(延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002)

摘 要:以黑果腺肋花楸组培苗为试材,研究了 MS 培养基浓度、IBA 浓度、 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 及活性炭浓度比例对生根的影响,并在不同栽培基质上进行驯化筛选。结果表明:适宜黑果腺肋花楸组培苗生根的培养基为 1/2MS(改良)+0.6 mg/L IBA+1.5 g/L 活性炭+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂;培养基浓度为 1/2MS 时适宜其生根,根长达到 3.2 cm,根数目达到 3.1;生长素 IBA 浓度为 0.6 mg/L 时,植株生长健壮,根长为 3.4 cm; $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ 为 3:3 时,根数目达 4.3 条,生根率为 100.0%。加入活性炭浓度为 1.5 g/L 时,植株直立健壮、须根多且为白绿色,叶片舒展。腐质土:沙土=1:1 为适宜黑果腺肋花楸移植苗的基质。室外自然条件下驯化,移植苗已适应了延吉地区气候。

关键词:激素; $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ 比例;活性炭;栽培基质

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)09-0105-04

黑果腺肋花楸(*Aronia melanocarpa*)属蔷薇科腺肋花楸属落叶灌木,根系属浅根性,水平根发达,树型小而美观,具有四季皆宜的观赏效果。耐荫喜光,抗寒、抗旱性强,可在年降水量 400 mm 以上,极限低温-40℃以上的气候正常生长发育^[1]。果实及其提取物对心脏病、高血压等心脑血管疾病具有特殊疗效^[2]。在我国,此树种仍属开发阶段,规模化种植较少,系统研究也较少,多为传统的扦插繁殖,且存在生根困难、生根率较低的问题^[3-4]。组织培养可以缩短育种时间,便于进行规模化

和商业生产。但目前仅有生长调节物质对其增殖影响的少数报道^[5-6]。该试验以黑果腺肋花楸组培苗为试材,研究影响其生根的因素及驯化条件,以期大量扩繁提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物材料为延边大学农学院园艺学栽培实验室生长健壮的黑果腺肋花楸组培苗。

1.2 试验方法

1.2.1 MS 培养基浓度对黑果腺肋花楸生根的影响

无菌条件下,将组培苗切成约 1.5 cm,分别接种在 1/4MS、1/2MS、3/4MS、MS 培养基,30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂,pH 调节为 5.8。消毒灭菌冷凝后,每瓶接入 4 根茎段。培养温度(25±2)℃,相对湿度 70%,光照 1 600 lx,

第一作者简介:高晔华(1987-),女,在读硕士,研究方向为园艺植物生物技术及栽培生理。

责任作者:吴荣哲(1966-),男,博士,副教授,现主要从事生物工程及栽培生理等研究工作。E-mail:wurzh@ybu.edu.cn.

收稿日期:2012-12-18

Effect of Different Growth Regulators on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Salvia miltiorrhiza*

MENG Qian, KONG Xiang-sheng, ZHANG Gai-na

(College of Agronomy, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003)

Abstract: Taking the leaves of aseptic seedling as explants, using MS as basic medium, the effect of different kinds and concentrations of plant growth regulators on tissue culture of blade callus, bud and root induction of *Salvia miltiorrhiza* were studied. The results showed that MS+0.5 mg/L 2,4-D+1.0 mg/L 6-BA culture medium was suitable for blade of *Salvia miltiorrhiza* induce callus. MS+0.5 mg/L NAA+1.5 mg/L 6-BA medium was the optimum medium for callus differentiate bud. 1/2MS+0.5 mg/L NAA was the optimum medium for root induction. It provided a theoretical basis for its industrial production.

Key words: *Salvia miltiorrhiza*; tissue culture; aseptic system; callus; plant growth regulator

光照时间 16 h/d。每处理重复 3 次,40 d 后调查生根情况。

1.2.2 IBA 浓度对黑果腺肋花楸生根的影响 IBA 浓度为 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/L,培养基为 1/2MS+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂。

1.2.3 $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 比例对黑果腺肋花楸生根的影响 $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 比例为 0:6、1:5、2:4、3:3、4:2、5:1、6:0,培养基为 1/2MS(改良)+0.6 mg/L IBA+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂。

1.2.4 活性炭浓度对黑果腺肋花楸生根的影响 活性炭浓度为 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 g/L,1/2MS(改良)+0.6 mg/L IBA+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂。

1.2.5 移栽基质对驯化的影响 将株高约 4.0 cm 的组培苗逐渐开盖儿,喷水。5 d 后,移栽到营养盆(长×宽×高=6×6×5 cm³)中,基质分别为 A 珍珠岩:蛭石:腐质土=2:1:1,B 腐质土,C 沙土,D 沙土:腐质土=1:1。搭棚,覆盖透明塑料布,盖严,1 d 喷雾 3~5 次,相对湿度 85%以上。5 d 后,逐渐撤去塑料布,30 d 后移到室外自然条件,逐渐撤去覆盖的遮阳网,观察植株生长情况,调查成活率及生长状况。

1.3 数据分析

使用 SPSS 11.5 软件 Duncan 检验和方差分析进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 MS 浓度对黑果腺肋花楸生根的影响

由表 1 可知,随营养物质的增加,植株鲜重与干重也逐渐增加。培养基为 1/4MS 的植株矮小,根短为暗红色。1/2MS 时株高达到 3.2 cm,根长为 3.1 cm,与株高比例适宜,根较多且长,为白绿色,植株生长健壮,1/2MS、3/4MS 生根率均达到 100%。但 3/4MS 根较短,根长势不如 1/2MS。MS 生根相对较少且短,周围有少许愈伤组织。

表 1 培养基种类对黑果腺肋花楸生根的影响

培养基	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	根长/cm	根数目	生根率/%
1/4MS	257.6 c	47.5 c	2.7 b	2.6 b	2.8 bc	97.8 a
1/2MS	415.5 b	61.3 b	3.2 a	3.1 a	3.4 a	100.0 a
3/4MS	438.7 a	65.1 b	3.3 a	2.5 b	3.0 ab	100.0 a
MS	442.1 a	89.3 a	3.5 a	2.4 b	2.2 c	92.2 b

注:表格中字母为 0.05 显著水平的多重比较结果,下同。

2.2 IBA 浓度对黑果腺肋花楸生根的影响

由表 2 可知,IBA 浓度从 0.0 mg/L 到 0.6 mg/L,各项指标均逐渐增大。IBA 浓度为 0.6 mg/L 时,植株鲜重、干重均达最大值,生根较多且粗壮为白绿色,根长 3.4 cm。随浓度继续增加,生根较多但植株长势却有所下降。

表 2 IBA 浓度对黑果腺肋花楸生根的影响

IBA/mg · L ⁻¹	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	根长/cm	根数目	生根率/%
0.0	412.5 bc	63.1 b	3.0 b	2.9 ab	3.1 b	100.0 a
0.2	426.0 b	66.2 b	3.0 b	3.1 ab	3.3 b	100.0 a
0.4	459.3 ab	73.2 ab	3.9 a	3.2 ab	3.0 b	100.0 a
0.6	485.1 a	85.6 a	4.0 a	3.4 a	3.8 a	100.0 a
0.8	399.5 c	60.1 bc	3.8 a	3.1 ab	3.2 b	100.0 a
1.0	385.5 c	57.7 bc	3.0 b	2.9 ab	3.0 b	100.0 a

2.3 $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 比例对黑果腺肋花楸生根的影响

由表 3 可知, $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 比例对植株根的形态有较大影响,其比例为 0:6、1:5 时,植株矮小,几乎没生长且已玻璃化,生根率不超过 30%。比例为 2:4 时植株较矮小,生根但根数较少。比例达到 3:3 时,植株的鲜重(509.4 mg),干重(89.6 mg),株高(4.1 cm)均显著高于其它处理,且根长为 3.6 cm,根数目为 4.3,植株健壮,叶片嫩绿,生根较多,白绿色(图 1)。随着比例的继续增大,植株长势减弱,当比例为 5:1、6:0 时,植株叶片为黄绿色,叶片呈枯萎状,生根较少,植株矮小。

表 3 $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 比例对黑果腺肋花楸生根的影响

$\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	根长/cm	根数目	生根率/%
0:6	82.8 d	21.6 d	1.9 c	0.0 d	0.0 e	10.3 de
1:5	188.8 c	46.0 c	2.0 c	0.2 d	0.8 d	29.2 d
2:4	409.6 b	70.8 b	3.4 b	2.4 b	2.4 c	92.0 ab
3:3	509.4 a	89.6 a	4.1 a	3.6 a	4.3 a	100.0 a
4:2	363.8 bc	66.4 b	3.9 a	3.1 b	3.6 b	83.3 b
5:1	152.2 c	39.2 cd	3.2 b	1.2 c	1.0 d	62.5 c
6:0	136.2 cd	36.0 cd	2.6 bc	0.0 d	0.0 e	30.1 d

2.4 活性炭浓度对黑果腺肋花楸生根的影响

由表 4 可知,加入活性炭植株长势较不加时弱,随浓度由 0.0 g/L 增大至 1.5 g/L,植株鲜重、干重、株高不断增加。浓度为 1.5 g/L 时,植株直立健壮、须根多且为白绿色(图 2),平均株高达到最大值为 4.5 cm,叶片舒展。随着浓度增大,鲜重、干重、株高逐渐降低,根长与根数目也逐渐降低,活性炭加入 2.5 g/L 时,根长仅为 1.7 cm,生根率为 85.2%。

表 4 活性炭浓度对黑果腺肋花楸生根的影响

AC/g · L ⁻¹	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	根长/cm	根数目	生根率/%
0.0	498.8 ab	83.3 b	3.9 b	2.6 bc	2.6 bc	100.0 a
0.5	459.3 b	80.3 b	3.7 b	2.7 bc	2.2 c	100.0 a
1.0	486.5 ab	82.1 b	3.9 b	3.0 b	3.2 b	100.0 a
1.5	519.5 a	91.0 a	4.5 a	4.3 a	4.4 a	100.0 a
2.0	469.8 b	79.0 b	2.8 c	2.4 bc	2.6 bc	100.0 a
2.5	229.0 c	42.5 c	2.5 c	1.7 d	2.8 b	85.2 b

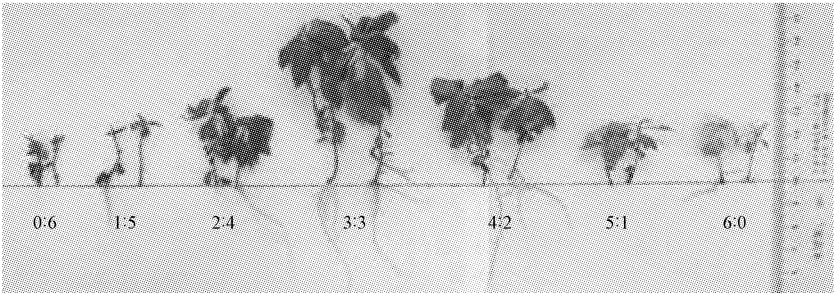


图1 $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 比例对生根的影响

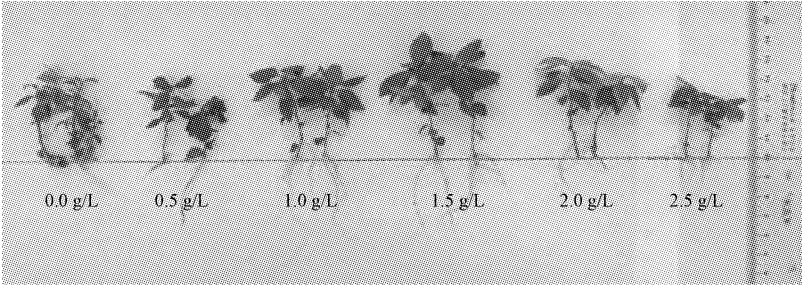


图2 活性炭浓度对生根的影响

2.5 移栽基质对驯化的影响

以腐质土 : 沙土 = 1 : 1 的 D 基质成活率高达 86.7%(图 3), A 珍珠岩 : 蛭石 : 腐质土 = 2 : 1 : 1 成活率最低, 仅为 19.6%; B 腐质土, 成活率略高于 A, 说明 A、B 培养基质不适合黑果腺肋花楸苗的移栽。C 河沙, 成活率较高为 63.8%。C 与 D 基质培养下的植株, 叶片嫩绿且较大, 茎较粗, 植株生长较快。对黑果腺肋花楸移栽苗进行观察(图 4), 移栽 30 d 后植株生长量 2.2 cm 叶片较大, 嫩绿(图 5), 其间温度最高达 35℃。45 d 后, 叶片、茎逐渐变红, 叶脉深红色。60 d 后, 叶片变为深红色, 仍有新叶长出。90 d 后, 叶片火红色(图 6), 延吉地

区初雪(2011 年 10 月 19 日), 最低气温为 -7℃, 植株正常生长, 随着大幅降温逐渐落叶, 120 d 后, 不断落叶。

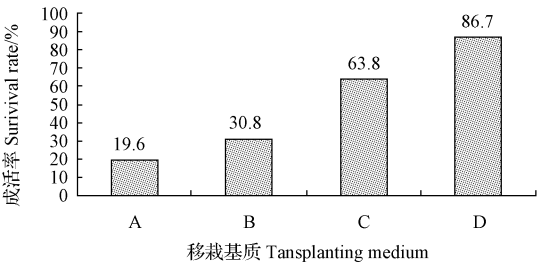


图3 移栽基质对黑果腺肋花楸成活率影响



图4 移栽苗驯化的定期观察



图5 移栽苗驯化 30 d



图6 移栽苗驯化 90 d后

3 讨论与结论

组培苗的生根是组培试验中的关键也是重点之一,该试验所用 1/2MS 培养基适宜黑果腺肋花楸的生根。一定浓度的 IBA 有利于根的诱导^[7],该试验较高浓度的生长素可产生较好的生根效果。铵态氮、硝态氮均是植物的良好氮源,主要合成植物生长所需的氨基酸和蛋白质,植物吸收和代谢 2 种形态的氮素不同,不同比例下根的生长形态也不同^[8],该试验 $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 比例较低或较高均会抑制植株根的生长。活性炭通过吸附抑制物而发挥作用,该试验加入活性炭后,虽然植株鲜重、干重有所降低(活性炭浓度为 0.5、1.0 g/L 时),但植株长势良好,叶片舒展,须根多且为白绿色。试验中较高浓度的活性炭(2.5 g/L)导致植株矮小、叶片黄化。这可能是由于较高浓度的活性炭吸附外源供给及细胞自身产生并分泌到培养基中的生长素,从而抑制植株及根的生长^[9]。移植是组培试验的最后一步也是更为重要的一个过程,该试验腐质土:沙土=1:1 是适宜移栽的基质,植株茎粗叶片大,生长快。温度最高值 35℃ 及最低值-21℃ 情况下均正常生长,翌年 4 月上旬新芽萌动。综上所述,适宜黑果腺肋花楸组培苗生根的培养基为 1/2MS(改良)+0.6 mg/L IBA+1.5 g/L 活性炭+30 g/L

蔗糖+7 g/L 琼脂。适宜的移栽基质为腐质土:沙土=1:1,移栽苗已基本适应了延吉地区的自然气候。

参考文献

- [1] 韩文忠,马兴华,姜镇荣.黑果腺肋花楸形态特征和生长发育特性研究[J].中国林副特产,2008(3):4-6.
- [2] Valcheva-Kuzmanova S, Marazova K, Krasnaliev I. Effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats[J]. Experimental and Toxicologic Pathology, 2005, 56: 385-392.
- [3] 马兴华,李翠舫,孙文生.黑果腺肋花楸硬枝扦插试验初报[J].辽宁林业科技,1994(3):31-34.
- [4] 龙忠伟.黑果腺肋花楸全光照喷雾嫩枝扦插育苗技术[J].科技创新导报,2008(11):254.
- [5] 张春雨,张志东,李亚东,等.植物生长调节物质对黑果腺肋花楸离体叶片愈伤组织诱导及再分化的影响[J].吉林农业大学学报,2005, 27(4):396-400.
- [6] 李冬杰,张进献,魏景芳.生长调节物质对黑果腺肋花楸增殖和生根的影响[J].河北农业大学学报,2006, 29(4):41-43.
- [7] 李云,王树芝,田砚亭,等. NAA 和 IBA 对四倍体刺槐试管苗生根影响及不定根发育过程解剖观察[J].林业科学,2004, 40(3):75-79.
- [8] 孙敏,郭文善,孙陶芳,等.氮素形态对小麦根系特性影响的初步研究[J].扬州大学学报,2007, 28(1):54-58.
- [9] 刘根林,梁珍海,朱军.活性炭在植物组织培养中的作用概述[J].江苏林业科技,2001, 28(5):46-48.

Study on Rooting and Acclimatization in the Process of Tissue Culture of *Aronia melanocarpa*

GAO Ye-hua, GUO Peng-wei, GAO Ri, WU Rong-zhe
(College of Agricultural, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002)

Abstract: Taking the tissue-cultured plantlets of *Aronia melanocarpa* as material, the effects of MS media concentrations, IBA concentrations, activated charcoal concentrations, rate of $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ on rooting of *Aronia melanocarpa* were studied, and growth media on root growth was acclimatized. The results showed that the best media for rooting of *Aronia melanocarpa* was 1/2MS+0.6 mg/L IBA+1.5 g/L activated charcoal+30 g/L sucrose+7 g/L agar. 1/2MS was the suitable rooting medium with root length 3.2 cm. The hormone treatment of IBA 0.6 mg/L was better for growth with the root length 3.1 cm. When the rate of $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ was 3:3, root amount was 4.3 with rooting rate 100.0%. The activated charcoal concentration of 1.5 g/L was significantly higher than other treatments, and the plant was healthy and strong, with unfolding leaves and much white and green fibrous root. The rate of humus:sandy soil 1:1 was the suitable medium for *Aronia melanocarpa* and the transplants had adapted to the regional climate of Yanji basically.

Key words: hormone; the rate of $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$; activated charcoal; growth media