

植物生长调节剂对黄精愈伤组织诱导的影响

杨玉红

(鹤壁职业技术学院, 河南 鹤壁 458030)

摘 要: 应用正交设计法研究了不同培养基和4种植物生长调节剂对黄精愈伤组织诱导的影响。结果表明: 6-BA 对诱导黄精愈伤组织生长效果显著, 2,4-D、NAA 和 KT 效果不显著; 黄精愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+2,4-D 3.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+KT 0.25 mg/L。

关键词: 黄精; 诱导; 愈伤组织

中图分类号 S 567.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)01-0156-03

黄精是百合科黄精属多年生宿根性草本药用植物, 其根茎是传统中药, 始载于《名医别录》, 被列为上品。药典中规定入药的还有同属的多花黄精、滇黄精。以干燥根茎入药, 味甘性平, 归脾、肺、肾经, 具有健脾、补肾、润肺、生津等功效。由于黄精需求的大幅增长, 造成黄精野生资源匮乏。李世^[1]等人对黄精的野生变家种栽培进行了研究, 而且有些地方也开始人工种植黄精^[2-3], 但由于生产上多采用分根繁殖, 其繁殖系数低, 种根茎用量大, 既不经济, 又限制了黄精的产量潜力, 不便栽植管理与推广, 而且长期的分根无性繁殖很容易引起黄精品种退化^[4], 且黄精的种子发育较慢, 从播种到长出地上部分大概需要 1 a 时间, 且其新生根茎较小, 因此种苗问题成了人工大面积种植黄精的瓶颈, 尤其是黄精 GAP 基地建设中所面临的主要问题。

随着组织培养技术在药用植物上的广泛应用, 为濒

临灭绝的野生药用资源保护和生产替代品提供了新途径。目前, 已建立了众多经济植物的商品化大规模栽培基地, 均依靠组织培养实现了快速繁殖。利用组织培养这一技术可以迅速提高黄精的繁殖率, 同时也可以提高黄精种质的品质, 防止退化。徐红梅^[5]等报道了植物生长调节剂对多花黄精芽体外发生过程中性状的影响, 认为激素组合 TDZ 1.5 mg/L+2,4-D 1.0 mg/L 对黄精根茎芽增殖最有利, 而徐忠传^[6]通过研究则认为激素组合 6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 不仅能使芽快速增殖, 且不定芽增殖的综合质量好, 无畸形叶片产生。徐忠传^[6]曾报道用多花黄精带芽的根茎成功繁殖出实生苗, 但黄精愈伤组织诱导的研究报道很少。现采用正交实验设计, 研究不同培养基和4种植物生长调节剂对诱导愈伤组织生长的影响, 以为黄精愈伤组织诱导和细胞培养奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采自河南省信阳鸡公山野生黄精植株, 人工授粉得到成熟浆果。种子无菌接种在培养基上萌发获得幼苗

作者简介: 杨玉红(1966), 女, 河南鹤壁人, 硕士, 教授, 研究方向为食品生物技术。

收稿日期: 2010-10-18

Research of the Salt Resistance in Seedling Cultivation of *Dendrobium officinale*

LI Guo-shu^{1,2}, XU Cheng-dong^{1,2}, LI Tian-xing¹, DU Fu-xiang¹, QIU Lu^{1,2}, LI Xue-ling^{1,2}

(1. Department of Chemistry and Life Science, Chuxiong Normal University, Chuxiong, Yunnan 675000; 2. Institute for Bio-resources Research and Development of Central Yunnan Plateau, Chuxiong, Yunnan 675000)

Abstract: Took propagated tissue culture of *Dendrobium officinale* callus as the material. It was inoculated into three different concentration of medium salt tolerance screening. The results showed that 30 days under salt stress, different salt concentration on callus induction of *Dendrobium* obviously higher than the 0.6% in the salt concentration, tissue culture, significantly affected, proline was the 3.60 times of content; different salt concentration on differentiation of stem and root induction and growth were influential, in the salt concentration higher than the 0.5% level significantly affected, and salt stress on adventitious root induction was more pronounced.

Key words: *Dendrobium officinale*; seedling cultivation; salt resistance; critical concentration

经增殖和壮苗培养 270 d 后选取壮苗备用。

1.2 试验方法

选取大小一致、生长均匀的壮苗为材料，分别将其叶片、地上茎和根状茎剪切成大小为 0.5 cm 的块段接种在附加有不同生长物质的和不同梯度的 MS 培养基上，每个处理接种 8 瓶，每瓶 5 块，40 d 后统计产生愈伤组织的情况。

以上培养基均加琼脂 8 g/L，蔗糖 30 g/L，pH 5.8，培养条件为光照 12 h/d，光照度 1 000~1 500 lx，培养室温度(22±2)℃。不同梯度的 MS 培养基是指大量元素的梯度，其它因素不变。

1.3 正交实验设计

选取 MS、6-BA、2,4-D、NAA、KT 5 因素浓度设 4 水平(表 1)。试验选用 L₁₆(4⁵)表进行正交设计，共有 16 个试验处理组合，以愈伤组织的产生率为指标。在表 1 试验的基础上应用表 2 进一步考察 4 种生长物质对黄精愈伤组织诱导的影响。

表 1 培养基正交实验设计因素水平 mg/L ⁻¹					
水平	培养基	生长调节剂			
		6 BA	NAA	2,4-D	KT
1	MS	0	0	0	0
2	1/2MS	0.5	0.25	1	0.25
3	1/4MS	1.0	0.5	2	0.5
4	1/8MS	1.5	1.0	3	1.0

表 3 培养基和植物生长调节剂对黄精愈伤组织诱导的影响

处理	因素/mg · L ⁻¹					叶片			地上茎			根状茎		
	培养基	6 BA	NAA	KT	2,4-D	接种个数	产生愈伤的个数	愈伤产生率/%	接种个数	产生愈伤的个数	愈伤产生率/%	接种个数	产生愈伤的个数	愈伤产生率/%
1	MS	0	0	0	0	40	0	0	40	0	0	40	0	0
2	MS	0.5	0.25	0.25	1	40	0	0	40	0	0	40	2	0.05
3	MS	1.0	0.5	0.5	2	40	0	0	40	0	0	40	3	0.075
4	MS	1.5	1.0	1.0	3	40	0	0	40	0	0	40	0	0
5	1/2MS	0	0.5	1.0	1	40	0	0	40	0	0	40	1	0.025
6	1/2MS	0.5	1.0	0.5	0	40	0	0	40	0	0	40	0	0
7	1/2MS	1.0	0	0.25	3	40	0	0	40	0	0	40	0	0
8	1/2MS	1.5	0.25	0	2	40	0	0	40	0	0	40	0	0
9	1/4MS	0	1.0	0.25	2	40	0	0	40	0	0	40	0	0
10	1/4MS	0.5	0.5	0	3	40	0	0	40	0	0	40	0	0
11	1/4MS	1.0	0.25	1.0	0	40	0	0	40	0	0	40	0	0
12	1/4MS	1.5	0	0.5	1	40	0	0	40	0	0	40	0	0
13	1/8MS	0	0.25	0.5	3	40	0	0	40	0	0	40	0	0
14	1/8MS	0.5	0	1.0	2	40	0	0	40	0	0	40	0	0
15	1/8MS	1.0	1	0	1	40	0	0	40	0	0	40	0	0
16	1/8MS	1.5	0.5	0.25	0	40	0	0	40	0	0	40	0	0
k ₁	0.125	0.025	0.000	0.000	0.000									
k ₂	0.025	0.05	0.05	0.05	0.075									
k ₃	0.000	0.075	0.1	0.075	0.075									
k ₄	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000									
K ₁	0.031	0.006	0.000	0.000	0.000									
K ₂	0.006	0.013	0.013	0.013	0.019									
K ₃	0.000	0.019	0.025	0.019	0.019									
K ₄	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000									
R	0.031	0.019	0.025	0.019	0.019									

表 2 调节剂正交实验设计

水平	6-BA	NAA	2,4-D	KT
1	0.5	0.25	1	0.25
2	1.0	0.5	2	0.5
3	1.5	1.0	3	1.0

2 结果与分析

2.1 培养基和植物生长调节剂对愈伤组织诱导的影响

由表 3 可知，在接种的材料中叶片和地上茎没有被诱导成愈伤组织，只有根状茎产生了愈伤组织。4 种不同培养基中仅 MS 培养基上被诱导成愈伤组织，而植物生长调节剂对黄精愈伤组织产生的影响还不能确定。为了更好地了解植物生长调节剂对黄精愈伤组织产生的影响，以根状茎为研究对象，MS 为培养基按表 2 进行正交设计，共有 9 个试验处理组合，以愈伤组织的产生率为指标，结果见表 4。

2.2 4 种植物生长调节剂对愈伤组织诱导的影响

对表 4 的试验结果进行极差和方差分析，表明 6-BA 对黄精愈伤组织诱导效果显著，2,4-D、NAA 和 KT 效果不显著，4 种植物生长调节剂作用强弱依次为 6-BA>2,4-D>NAA>KT，最佳浓度分别为 1.0、3.0、0.5、0.25 mg/L，故黄精愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+2,4-D 3.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+KT 0.25 mg/L。

表 4 植物生长调节剂对黄精愈伤组织诱导的影响

	因素/ mg · L ⁻¹				接种个数	产生愈伤数的个数	愈伤产生率/ %
	6-BA	NAA	KT	2,4-D			
1	0.5	0.25	1.0	0.25	40	1	0.025
2	0.5	0.5	2.0	0.5	40	0	0
3	0.5	1.0	3.0	1.0	40	1	0.025
4	1.0	0.25	2.0	1.0	40	4	0.1
5	1.0	0.5	3.0	0.25	40	6	0.15
6	1.0	1.0	1.0	0.5	40	2	0.05
7	1.5	0.25	3.0	0.5	40	2	0.05
8	1.5	0.5	1.0	1.0	40	0	0
9	1.5	1.0	2.0	0.25	40	0	0
k ₁	0.05	0.175	0.075	0.175			
k ₂	0.3	0.15	0.1	0.1			
k ₃	0.05	0.075	0.225	0.125			
K ₁	0.017	0.058	0.025	0.058			
K ₂	0.1	0.05	0.033	0.033			
K ₃	0.017	0.025	0.075	0.041			
R	0.083	0.033	0.05	0.025			

注: 以上试验选取根状茎为研究对象

3 结论与讨论

愈伤组织的诱导是一个复杂的生理过程, 受培养基和植物生长调节剂共同的调控。该试验按正交实验设计方法先进行了培养基、6-BA、NAA、KT、2,4-D 5 因素 4 水平组合的 16 个处理, 考察愈伤组织诱导情况, 结果表明, 基本培养基的影响作用最大。然后应用正交实验设计, 选取 6-BA、NAA、KT、2,4-D 4 因素 3 水平组合的 9 个处理, 考察愈伤组织诱导情况, 发现 6-BA 对愈伤组织诱导产生效果显著, 2,4-D、NAA 和 KT 效果不显著。在铁皮石斛愈伤组织诱导研究中, 发现添加 6-BA 浓度以 1.0 mg/L 时诱导愈伤组织效果最好^[7]。在波棱瓜叶片为外植体愈伤组织诱导研究中发现, 添加 1.0 mg/L 6-BA、1.0 mg/L 2,4-D 和 2.0 mg/L NAA 的培养基愈伤组织诱导时间短, 生长快, 质地致密颗粒状, 有光泽, 培养 20 d 后愈伤组织诱导率高达 93.3%^[8]。在大花蕙兰茎尖为外植体愈伤组织诱导研究中发现, 添加 6-BA, 浓度以 1.0 mg/L 时诱导愈伤组织效果最好^[9]。在甘草子叶为外植体愈伤组织诱导研究中发现, 添加 1.0 mg/L 6-BA 和 1.0 mg/L 2,4-D 的培养基为最适培养基, 其愈伤组织诱导率达 100%^[10]。

根据上述结果, 初步选定黄精愈伤组织诱导的最适

培养基为 MS+2,4-D 3.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+KT 0.25 mg/L。

参考文献

[1] 李世, 郭学鉴, 苏淑欣, 等. 黄精野生变家种高产高效栽培技术研究[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(7): 398-401.
[2] 杨子龙, 王世清, 左敏. 黄精高产栽培技术[J]. 安徽技术师范学院学报, 2002, 16(1): 51-52.
[3] 宋东平, 吴维春, 丁志国. 东北黄精栽培技术[J]. 特种经济动植物, 2004(9): 21.
[4] 赵致, 庞玉新, 袁媛, 等. 药用作物黄精栽培研究进展及栽培的几个关键问题[J]. 贵州农业科学, 2005, 33(1): 85-86.
[5] 徐红梅, 赵东利. 植物生长调节剂对多花黄精芽体外发生过程中性状的影响[J]. 中草药, 2003, 34(9): 855-858.
[6] 徐忠传, 何俊蓉, 郁达, 等. 多花黄精的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(1): 78.
[7] 王云, 张二芹, 高婉丽, 等. 铁皮石斛组织快繁研究[J]. 河北农业科学, 2008(5): 31-34.
[8] 柳福智, 陈垣, 王龙强, 等. 不同培养基对波棱瓜愈伤组织诱导的影响[J]. 甘肃农业科技, 2008(9): 24-25.
[9] 张瑜, 付艳, 殷奎德. 大花蕙兰的组织培养和次生代谢物质的调控[J]. 农业生物技术科学, 2006, 9(2): 56-58.
[10] 胡海英, 吴晓玲, 梁新华. 胀果甘草愈伤组织诱导培养[J]. 药物生物技术, 2004, 11(3): 170-172.

Effect of Plant Growth Regulator on Callus Induction of *Polygonatum sibiricu*

YANG Yu-hong

(Hebi College of Vocation and Technology, Hebi, Henan 458030)

Abstract: Culture medium and 4 plant growth regulator were studied for their function to callus growth of *Polygonatum sibiricu* by orthogonal design. The results showed that 6-BA had significant effect on induced callus growth, while 2,4-D, NAA, and KT had not. The optimal culture medium for callus induction of *Polygonatum sibiricum* was MS+2,4-D 3.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+KT 0.25 mg/L.

Key words: *Polygonatum sibiricum*; induction; callus