

多花黄精组培生根技术研究

周新华¹, 朱宜春², 桂尚上³, 厉月桥¹, 聂国树¹, 邹璐¹, 林建萍¹, 黄维荣¹

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业实验中心, 江西 分宜 336600; 2. 江西省新余市林业科学研究所, 江西 新余 338000; 3. 广州市林业和园林绿化工程建设中心, 广东 广州 510050)

摘要: 为给多花黄精工厂化育苗和规模化栽培提供可行的关键技术, 利用江西省分宜县大岗山山区选育的野生多花黄精无菌组培苗为试验材料, 就不同基本培养基、不同种类与浓度的激素、不同碳源对其根茎不定根诱导的影响情况进行了试验。结果表明: 最适基本培养基为 1/2MS 培养基; 诱导生根的最佳生长素种类为 NAA, 其最适浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 最适碳源为蔗糖; 最佳不定根诱导培养基为 $1/2\text{MS} + \text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其生根率为 98.2%, 单个组培苗的平均生根数为 24.8 条。

关键词: 多花黄精; 组织培养; 生根率

中图分类号: S604⁺.3

文献标志码: A

文章编号: 1003—8981(2015)04—0102—04

Study on inducing roots from *Polygonatum cyrtonema* plantlets

ZHOU Xin-hua¹, ZHU Yi-chun², GUI Shang-shang³, LI Yue-qiao¹, NIE Guo-shu¹, ZOU lu¹, LIN Jian-ping¹, HUANG Wei-rong¹

(1. Experimental Center for Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fenyi 336600, Jiangxi, China;

2. Xinyu City Forestry Research Institute, Xinyu 338000, Jiangxi, China;

3. Guangzhou Forestry and Landscaping Construction Center, Guangzhou 510050, Guangdong, China)

Abstract: In order to provide some feasible techniques for industrialized breeding and scale cultivation of *Polygonatum cyrtonema*, taking the aseptic tissue culture seedlings in wild *P. cyrtonema* as research objects, which gathered from Dagangshan Mountains at Fenyi County of Jiangxi Province, effects of different basic media, different kinds and concentrations of hormones and different carbon sources on adventitious root induction were tested. The result showed that the most suitable basic medium was 1/2MS; the best rooting auxin was $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA; the optimum carbon source was sucrose; the best adventitious root induction medium was $1/2\text{MS} + \text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sucrose } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, rooting rate was 98.2%, and the average rooting number per plantlet was 24.8.

Key words: *Polygonatum cyrtonema*; tissue culture; rooting rate

多花黄精 *Polygonatum cyrtonema* Hua 是百合科黄精属多年生草本植物, 其根茎含有丰富的糖类、甾体皂苷、强心苷、生物碱、黄酮及蒽醌类化合物、木脂素、维生素、氨基酸及微量元素多种化学成分, 是我国传统大宗药材, 具有补气养阴、健脾、润肺、益肾、抑制肿瘤细胞等功效, 具有十分重要的开发利用价值^[1-5]。但是, 在自然条件下多花黄精种子收集难度大、发芽率低、育

苗周期长, 采用有性繁殖方式和常规无性繁殖手段无法满足生产需要, 以致其资源远远不能满足市场的需求^[6]。为了解决多花黄精资源匮乏的问题, 推进其在医药等行业的应用, 笔者于 2012 年开展了多花黄精组织培养技术的研究^[7-8], 为给多花黄精工厂化育苗和规模化栽培提供可行的关键技术, 就不同基本培养基、不同种类及浓度激素、不同碳源等对多花黄精组培苗生根的影响情况进行了

收稿日期: 2014-11-29

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目 (CAFYBB2014MB007), 林业科技推广项目“微生物肥料在油茶育苗及造林中的推广运用” (〔2012〕08 号)。

作者简介: 周新华, 工程师, 硕士。Email: jxlczxh@163.com

引文格式: 周新华, 朱宜春, 桂尚上, 等. 多花黄精组培生根技术研究 [J]. 经济林研究, 2015, 33(4): 102—105.

试验研究，现将试验结果分析报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验以江西省分宜县大岗山山区选育的野生多花黄精无菌组培苗为研究材料。无菌组培苗来源于中国林业科学研究院亚热带林业实验中心年珠实验林场实验基地内培养的植株，该批植株是 2010 年从大岗山山区选育移栽到实验基地中，2012 年底将多花黄精块茎移至亚林中心生物工程部进行沙藏处理，切取带芽根茎接种至培养基中取得的无菌苗。

1.2 研究方法

1.2.1 基本培养基对组培苗生根的影响试验

选用分别添加了 ABT 2.0 mg · L⁻¹ 的 MS、1/2MS、White、1/2White、H 和 1/2H 等 6 种基本培养基开展组培苗的生根试验，共设计 6 个处理，每个处理接种 15 瓶，试验重复 3 次。培养 45 d 后统计生根情况，并计算出每个处理相应的生根率和平均根数。

生根率=生根瓶数 / 接种总瓶数；
平均根数=生根总条数 / 生根瓶数。

1.2.2 生长素种类及浓度对组培苗生根的影响试验

基本培养基中大量元素含量的降低能够促进不定根的产生^[9-10]。生长素的一个重要生理功能就是促进不定根的形成，生长素含量的变化势必影响不定根的发生^[11-12]。依据基本培养基对多花黄精组培苗生根的试验结果，以 1/2MS 为基础培养基，采用萘乙酸（NAA）、吲哚乙酸（IAA）和吲哚丁酸（IBA）3 种植物生长素、0.1 ~ 1.5 mg · L⁻¹ 不同激素浓度处理的多因素试验，共设计 12 个处理，每个处理接种 15 瓶，重复 3 次。培养 45 d 后统计生根情况，并计算出每个处理相应的生根率和平均根数。

生根率=生根瓶数 / 接种总瓶数；
平均根数=生根总条数 / 生根瓶数。

1.2.3 碳源种类对组培苗生根的影响试验

采用白砂糖、蔗糖和葡萄糖 3 种碳源，在 1/2MS + NAA 1.0 mg · L⁻¹ 培养基中分别加入 30 g · L⁻¹ 不同种类的碳源进行试验，共设计 3 个处理，每个处理接种 15 瓶，试验重复 3 次。培养 45 d 后统计生根情况，并计算出每个处理相应的生根率和平均根数。

生根率=生根瓶数 / 接种总瓶数；
平均根数=生根总条数 / 生根瓶数。

1.2.4 光照时长对组培苗生根的影响试验

以 1/2MS + NAA 1.0 mg · L⁻¹ 培养基为基本培养基，光照时长分别设为 8、12 和 16 h，在这 3 种光照条件下开展组培苗的生根试验，共设计 3 个处理，每个处理接种 15 瓶，试验重复 3 次。培养 45 d 后统计生根情况，并计算出每个处理相应的生根率和平均根数。

生根率=生根瓶数 / 接种总瓶数；
平均根数=生根总条数 / 生根瓶数。

1.2.5 培养条件

组培室培养条件为：温度控制在（24±2）℃，光照强度控制在 1 500 ~ 2 000 lx 的范围内，每天光照时间为 12 h（光照时长对组培苗生根的影响试验另行控制），湿度控制在 70% 左右。

1.2.6 数据分析与处理

采用 SPSS18.0 统计分析软件进行方差分析和多重比较。多重比较采用显著系数 0.05 上的 Duncan 多范围检验法，所有检验数据都在同一量纲上进行分析。

2 结果与分析

2.1 基本培养基对多花黄精组培苗生根的影响

将单个多花黄精无根带芽块茎分别接种在附加了 ABT 2.0 mg · L⁻¹ 的不同基本培养基上，不同基本培养基对多花黄精组培苗生根的影响情况见表 1。表 1 显示，接种在 1/2MS 基本培养基上的生根效果最好，生根率高达 31.3%，平均生根数高达 2.29 条；其次是接种在 MS 基本培养基上的生根效果，其生根率达 25.4%，平均生根数达 1.5 条。就不同基本培养基而言，大量元素含量低的培养基更有利于不定根的诱导，这可能因为培养基过高的渗透势不利于营养元素和激素的运转。不同基本培养基诱导出的不定根如图 1a 和图 1b 所示。

表 1 不同基本培养基对多花黄精组培苗生根的影响[†]
Table 1 Influence of different basic media on inducing roots from *P. cyrtoneura* plantlets

处理编号 Treatment No.	基本培养基 Basic medium	接种瓶数 Number of inoculation bottles / 瓶	生根率 Rooting rate / %	平均根数 Average number of roots / 条
1	MS	45	25.4 b	1.52±0.11 b
2	1/2MS	45	31.3 a	2.29±0.12 a
3	White	45	18.6 c	1.11±0.05 c
4	1/2White	45	20.5 c	1.50±0.03 b
5	H	45	16.1 c	1.32±0.04 b
6	1/2H	45	17.2 c	1.23±0.02 c

[†] 同列数据后的不同字母表示在 0.05 水平上差异显著；下表同。
Different letters within the same column represent significant differences among groups (*P* < 0.05). The same as below.

2.2 不同种类与浓度的生长素对不定根诱导的影响

将单个多花黄精无根带芽块茎分别接种在含有不同种类和浓度的激素的 1/2MS 培养基上，培养 45 d 后，观察并统计诱导不定根的情况与数量，计算生根率和平均单个带芽块茎诱导出的不定根条数，统计结果见表 2。表 2 表明，就激素的不同种类而言，不同处理对不定根的诱导能力不同，不同种类的激素处理对不定根的诱导能力的强弱依次为 NAA > IBA > IAA。以 NAA 处理的，随着 NAA 浓度的增加，其诱导能力也不断增强，其中诱导效果最好的是 NAA 1.0 mg · L⁻¹ 处理，其生根率高达 98.2%，诱导出的不定根数平均高达 24.80 条，若激素浓度继续增加，其对不定根的诱导能力则减弱。不同浓度的生长素诱导出的不定根如图 1c 和图 1d 所示。

2.3 碳源种类对多花黄精组培苗生根的影响

将多花黄精组培苗分别接种在含有不同碳源的

表 2 在 1/2MS 培养基上添加不同种类与浓度的激素对不定根诱导的影响

Table 2 Influence of kinds and concentrations of hormones on inducing roots in 1/2MS medium

处理编号 Treatment No.	激素浓度 Hormone concentration (mg·L ⁻¹)			接种瓶数 Number of inoculation bottles / 瓶	生根率 Rooting rate / %	平均根数 Average number of roots / 条
	NAA	IBA	IAA			
1	0.1			45	18.9 a	2.70±0.05 c
2	0.5			45	62.4 c	5.20±0.05 d
3	1.0			45	98.2 d	24.80±0.10 e
4	1.5			45	66.5 c	3.40±0.05 c
5		0.1		45	15.3 a	1.70±0.03 a
6		0.5		45	47.6 b	2.20±0.04 b
7		1.0		45	55.1 b	3.10±0.05 c
8		1.5		45	50.4 b	2.60±0.05 b
9			0.1	45	11.2 a	1.20±0.04 a
10			0.5	45	14.7 a	1.50±0.10 a
11			1.0	45	18.3 a	1.90±0.03 b
12			1.5	45	17.7 a	1.60±0.05 a

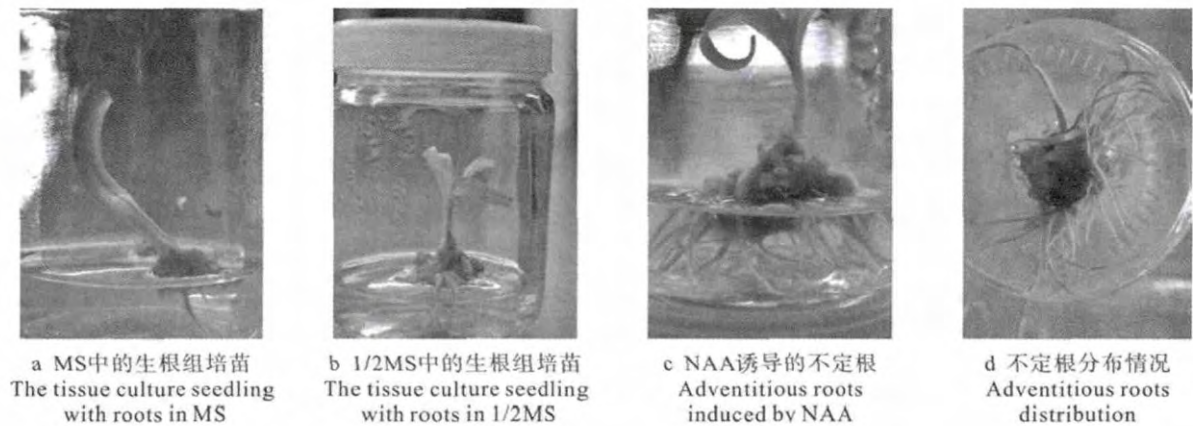


图 1 多花黄精不定根的诱导情况
Fig. 1 Status of inducing roots from *P. cyrtoneura* plantlets

1/2MS + NAA 1.0 mg · L⁻¹ 培养基上，培养 45 d 后，观察并统计不定根的生长情况与生根数量，统计结果见表 3。表 3 表明，接种在含有葡萄糖的培养基上的培养效果最好，生根率高达 98.4%，平均根数高达 24.90 条；其次是蔗糖处理的，其生根率达 98.2%，平均根数达 24.80 条；以白砂糖为碳源的试验效果最差，其生根率仅为 40.7%，平均根数仅有 3.40 条。在含有蔗糖和葡萄糖培养基上的组培苗其生根率和平均生根数相当，从经济角度考虑，选择蔗糖作为碳源较为合适。

2.4 不同光照时长对多花黄精组培苗生根的影响

将接种在 1/2MS + NAA 1.0 mg · L⁻¹ 培养基中的黄精组培苗置于不同光照条件的培养室中培养 45 d 后，观察并统计其生长情况和生根数量，结果见表 4。表 4 表明，不同处理间的差异均不显著，说明光照时长对多花黄精组培苗生根的影响不大。

表 3 不同种类碳源对多花黄精组培苗生根的影响
Table 3 Influence of carbon sucrose on inducing roots from *P. cyrtoneura* plantlets

处理编号 Treatment No.	碳源种类 Carbon sucrose	接种瓶数 Number of inoculation bottles / 瓶	生根率 Rooting rate / %	平均根数 Average number of roots / 条
1	白砂糖 Sugar	45	40.7 a	3.40±0.03 a
2	蔗糖 Sucrose	45	98.2 b	24.80±0.10 b
3	葡萄糖 Glucose	45	98.4 b	24.90±0.10 b

表 4 不同光照时长对多花黄精组培苗生根的影响
Table 4 Influence of different illumination time on inducing roots from *P. cyrtoneura* plantlets

处理编号 Treatment No.	光照时间 Illumination time / h	接种瓶数 Number of inoculation bottles / 瓶	生根率 Rooting rate / %	平均根数 Average number of roots / 条
1	8	45	98.0 a	23.9±0.1 a
2	12	45	98.2 a	24.8±0.1 a
3	16	45	96.5 a	24.2±0.1 a

3 结论与讨论

1) 在组织培养过程中, 不定根形成的好坏直接影响到组培苗移栽成活率的多少, 而组培苗的生根是一个复杂的生理过程, 受多种因素的影响^[12-15]。文中的研究表明, 以 1/2MS 基本培养基培养多花黄精组培苗, 其生根率、平均根数都要明显高于以 MS、White、1/2White、H 和 1/2H 等基本培养基培养的。试验中大量元素减半的各种基本培养基较于原培养基均更有利于组培苗的生根, 这说明适当降低培养基中的无机盐浓度有利于不定根的发生, 这可能与培养基中的渗透势的高低及其对苗木不同生长部位的促进作用有关。

2) 试验结果表明, 除基本培养基对组培苗生根的影响较大外, 生长素的种类和浓度及碳源种类对多花黄精组培苗生根也都有较大的影响。试验中发现, 不同种类生长素对不定根的诱导能力的强弱依次为 $\text{NAA} > \text{IBA} > \text{IAA}$, 当 NAA 浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 其诱导生根的效果最好。试验中还发现, 利用蔗糖和葡萄糖作为碳源的培养效果都好, 较于白砂糖均更有利于不定根的诱导和生长, 但从经济角度考虑, 在生产中建议使用蔗糖作为碳源, 既可降低生产成本, 又可获得生长健壮的组培苗。

3) 试验结果还表明, 多花黄精组培苗的最适生根培养基为 $1/2\text{MS} + \text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这一研究结果与刘红美等人^[16]研究得出的多花黄精组培苗最佳生根培养基为 $1/2\text{MS} + \text{IBA } 0.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的结果不同, 这可能与黄精的不同种源或试验中使用的药品来源不同有关。

4) 在植物组织培养过程中, 影响组培苗生根的因素很多。本试验着重对基本培养基、激素的种类与浓度、碳源种类和光照时间等因素对多花黄精组培苗生根的影响情况进行了试验研究。虽然试验结果较好, 生根率在 98% 以上, 平均根数达 24.80 条, 经炼苗后能直接移栽, 试验结果可为工厂化育苗提供技术参考, 但是, 由于试验规模和时间的限制, 未能针对温度、添加剂及其他基本培养基和激素种类及其浓度与配比对多花黄精

组培苗生根的影响问题进行探讨, 这些问题有待于在后续研究中作进一步的试验研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005, 275 — 287.
- [2] 王冬梅, 朱 玮, 张存莉, 等. 黄精化学成分及其生物活性 [J]. 西北林学院学报, 2006, 21(2): 142 — 145.
- [3] 樊艳荣, 陈双林, 杨清平, 等. 毛竹林下多花黄精种群生长和生物量分配的立竹密度效应 [J]. 浙江农林大学学报, 2013, 30(2): 199 — 205.
- [4] 黄 瑶. 黄精的药理研究及其开发利用 [J]. 华西药杂志, 2002, 17(4): 278 — 279.
- [5] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第十五卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 64 — 65.
- [6] 田启建, 赵 致. 黄精栽培技术研究进展 [J]. 中国现代中药, 2007, 9(8): 32 — 33.
- [7] 周新华, 曾满生, 肖智勇, 等. 多花黄精嫩茎与根茎芽离体培养技术研究 [J]. 经济林研究, 2014, 32(4): 68 — 72.
- [8] 周新华. 基于均匀设计对黄精不定芽增殖培养的研究 [J]. 安徽农业科学, 2014, 11(4): 10909 — 10911.
- [9] 黄健秋, 卫志明. 松属树种的组织培养和原生质体培养 [J]. 植物学通报, 1994, 11(1): 34 — 42.
- [10] 王丽萍, 王 平, 王小明, 等. 蚬壳花椒组培苗的生根试验 [J]. 经济林研究, 2007, 25(1): 34 — 37.
- [11] 扈红军, 曹帮华, 尹伟伦, 等. 不同处理对欧榛硬枝扦插生根的影响及生根过程中相关氧化酶活性的变化 [J]. 林业科学, 2007, 43(12): 70 — 75.
- [12] Ramage CM, Williams RR. Mineral nutrition and plant morphogenesis [J]. In Vitro Cell Dev Biol-Plant, 2002, 38: 116 — 124.
- [13] 曹基武, 刘春林, 吴 毅, 等. 不同生根剂浓度与基质种类对南方红豆杉插条生根的影响 [J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(12): 10 — 14.
- [14] 黄烈健, 易 敏. 大叶相思不同种植密度及修剪高度对穗条量及扦插生根的影响 [J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(8): 10 — 13.
- [15] Uderst G, Moncousin C, ORourke J. Stimulation of root formation in difficult-to-root wood cuttings by dithiothreitol [J]. Int J Plant Sei, 1997, 158(2): 132 — 135.
- [16] 刘红美, 方小波, 夏开德, 等. 多花黄精组织培养快繁技术的研究 [J]. 种子, 2010, (12): 13 — 17.

[本文编校: 伍敏涛]