

杜琳,向进乐,李欣,等. 怀地黄脱毒苗的壮苗生根培养[J]. 江苏农业科学,2013,41(5):224-226.

# 怀地黄脱毒苗的壮苗生根培养

杜琳,向进乐,李欣,樊金玲

(河南科技大学食品与生物工程学院,河南洛阳 471023)

**摘要:**研究了糖和生长调节剂对怀地黄脱毒苗壮苗生根的影响。结果表明:白砂糖的壮苗生根效果优于蔗糖,多效唑的壮苗生根效果优于 NAA 和 IBA。采用 1/2MS + 多效唑 0.5 mg/L + 3% 白砂糖的培养基进行培养,其壮苗生根效果最好;幼苗根系发达,叶色浓绿,茎秆粗壮,移栽时成活率最高。

**关键词:**怀地黄;壮苗生根;糖;植物生长调节剂

**中图分类号:**S567.23<sup>+</sup>9.045 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)05-0224-02

怀地黄 [*Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* (Chan et Seih) Hsiao] 为玄参科地黄属多年生药用草本植物,其根可入药,是我国著名的“四大怀药”之一。因在生产中长期采用营养繁殖,易受多种病害尤其是病毒病的侵袭,导致其品种退化,品质下降。利用组织培养技术不仅可以脱除病毒、恢复其品质及产量,而且可以大大加快繁殖速度<sup>[1]</sup>。但是利用组织培养得到的脱毒苗直接移栽入大田,成活率不高,极大地增加了其工业化生产的成本。因此本试验对移栽前的壮苗生根阶段进行了研究,大大提高了其移栽成活率,为怀地黄脱毒快繁及产业化生产提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

怀地黄“85-5”脱毒苗。

### 1.2 方法

**1.2.1 脱毒苗的培养** 将怀地黄切成 2~2.5 cm 的带芽茎段接种在 MS + 6-BA 0.2 mg/L + NAA 0.02 mg/L 的固体培养基中,培养容器为罐头瓶,分别附加一定浓度的蔗糖或白砂

糖,琼脂 0.7%,pH 值 5.8~6.2,在 121 ℃、1.1 kg/cm<sup>2</sup> 的压力下灭菌 20 min。在超净工作台上将无菌苗切成 2.0~2.5 cm 带 2 叶的茎段,随机接种在 25 组培养基中。置于培养室培养,培养室温度为 (25±2) ℃,光照强度为 2 000 lx,光照时间为 14 h/d。

**1.2.2 糖添加浓度筛选** 基础培养基中蔗糖或白砂糖添加浓度分别设置为 0、3%、6%、9%、12%,以筛选最佳添加浓度。

**1.2.3 生长调节剂添加浓度的筛选** 以 1/2MS 为基本培养基,分别附加不同浓度的 NAA、IBA、多效唑,蔗糖浓度为 3%,接种在大试管中,其他培养条件及灭菌条件同前。

**1.2.4 数据处理** 试验数据应用 Excel 和 SPSS 11.5 统计软件进行方差分析。多重比较采用 LSD 法检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 糖对脱毒苗壮苗生根的影响

将脱毒苗分别接种在不同浓度的蔗糖和白砂糖的培养基上,20 d 后统计其生长情况,结果见表 1 和表 2。

表 1 蔗糖对脱毒苗壮苗生根的影响(培养后 20 d)

蔗糖浓度 (%)	株高 (cm)	生根率 (%)	根长 (cm)	根数 (条)
0	4.33±0.38a	0±0.00B	0±0.00D	0±0.000B
3	4.60±0.60a	97.14±6.39A	1.50±0.00B	8.0±3.391A
6	5.20±0.14a	100±0.000A	2.15±0.21A	7.0±1.414AB
9	5.03±0.38a	100±0.000A	2.00±0.20A	3.67±1.155B
12	3.30±0.28b	92.86±10.11A	0.70±0.14C	2.5±0.707B

由表 1 可知,不同的蔗糖浓度对株高有显著性影响,对根长、根数和生根率有极显著性影响。在无糖培养基中生长一段时间后脱毒苗的叶色发黄,在 3%~9% 蔗糖的培养基中生长较好,在 3% 和 6% 的蔗糖中生长时,叶色为正常绿色,而在 9% 的蔗糖中,叶色浓绿,但部分叶缘干枯,在 12% 的蔗糖中,叶片干枯或者发红。因此,综合生长情况和经济效益考虑,壮苗生根适宜的蔗糖浓度为 3%。由表 2 可知,不同的白砂糖

浓度对株高、根长、根数和生根率均有极显著性影响,3%~9% 的白砂糖有利于脱毒苗生根;高浓度的白砂糖(9%~12%)中脱毒苗也会出现叶片干枯和发红的现象。因而,壮苗生根适宜的白砂糖浓度也应为 3%。比较蔗糖与白砂糖的生根效果,白砂糖甚至要好于蔗糖。因此,怀地黄脱毒苗壮苗生根时可采用 3% 的白砂糖作为培养基的碳源。

### 2.2 植物生长调节剂对脱毒苗壮苗生根的影响

将脱毒苗分别接种在添加了不同浓度的 NAA、IBA 和多效唑的培养基中。培养 12 d 后,将其生长情况统计于表 3 至表 5。由表 3 可见,不同的 NAA 浓度对脱毒苗的株高增加值、根数和根长均有极显著性影响。低浓度的 NAA (≤0.1 mg/L)

收稿日期:2012-10-23

作者简介:杜琳(1980—),女,河南洛阳人,硕士,讲师,主要从事植物生物技术研究工作。E-mail:duulin1980@sohu.com。

表 2 白砂糖对脱毒苗壮苗生根的影响(培养后 20 d)

白砂糖浓度 (%)	株高 (cm)	生根率 (%)	根长 (cm)	根数 (条)
0	4.333 ± 0.379AB	0 ± 0.000C	0 ± 0.000C	0 ± 0.000BC
3	5.550 ± 0.636A	100 ± 0.000A	2.1 ± 0.141A	13.5 ± 2.121A
6	5.600 ± 0.100A	100 ± 0.000A	1.7 ± 0.265AB	15.0 ± 3.000A
9	4.25 ± 1.061AB	85.71 ± 0.000A	1.05 ± 0.636B	6.5 ± 2.121B
12	3.733 ± 0.321B	57.14 ± 14.29B	0.667 ± 0.115BC	3.67 ± 1.155B

表 3 NAA 对脱毒苗生根的影响(培养后 12 d)

NAA 浓度 (mg/L)	株高增加值 (cm)	根数 (条)	根长 (cm)	根的生长情况
0	1.48 ± 0.576AB	7.2 ± 1.924AB	1.82 ± 0.517A	细弱
0.01	1.4 ± 0.847AB	7.6 ± 3.131AB	1.12 ± 0.164B	细弱
0.05	1.66 ± 0.662A	10.6 ± 2.881A	1.27 ± 0.463B	较粗
0.1	1.34 ± 0.594AB	8.6 ± 2.074A	1.62 ± 0.259AB	较粗,有少量愈伤
0.5	0.15 ± 0.025B	1.0 ± 0.246B	0.04 ± 0.015C	愈伤上生根,粗
1.0	0.38 ± 0.05B	2.75 ± 0.775B	0.05 ± 0.028C	愈伤上生根,粗
2.0	0.04 ± 0.023B	1.6 ± 0.608B	0.05 ± 0.031C	愈伤上生根,粗

表 4 IBA 对脱毒苗生根的影响(培养后 12 d)

IBA 浓度 (mg/L)	株高增加值 (cm)	根数 (条)	根长 (cm)	根的生长情况
0	1.48 ± 0.576	7.2 ± 1.924	1.82 ± 0.517A	细弱
0.1	1.46 ± 0.533	7.6 ± 1.673	1.98 ± 0.396A	细弱
0.5	1.12 ± 0.581	10.2 ± 3.271	1.12 ± 0.130B	一般
1.0	1.08 ± 0.469	10.4 ± 2.702	1.38 ± 0.239AB	较粗
2.0	0.76 ± 0.495	8.2 ± 3.308	0.82 ± 0.357B	有少量愈伤,粗
4.0	0.96 ± 0.236	12.2 ± 4.884	0.74 ± 0.271B	愈伤上生根,粗
8.0	0.54 ± 0.153	5.6 ± 1.463	0.46 ± 0.160B	愈伤上生根,粗

表 5 多效唑对脱毒苗生根的影响(培养后 12 d)

多效唑浓 度(mg/L)	株高增加值 (cm)	根数 (条)	根长 (cm)	根的生 长情况
0	1.48 ± 0.576A	7.2 ± 1.924B	1.82 ± 0.517A	细弱
0.01	1.1 ± 0.409AB	7.6 ± 2.647B	2.20 ± 0.455A	较细
0.1	0.58 ± 0.301AB	8.6 ± 2.965B	1.36 ± 0.339AB	较细
0.5	0.12 ± 0.0596B	19.8 ± 5.970A	1.82 ± 0.630A	较粗
1.0	0.12 ± 0.0367B	12.0 ± 2.429AB	0.70 ± 0.200B	粗壮
2.0	0.18 ± 0.0396B	4.0 ± 1.732B	0.24 ± 0.120B	粗,有愈伤
4.0	0.14 ± 0.0297B	3.2 ± 1.033B	0.22 ± 0.045B	粗,有愈伤

有利于脱毒苗的壮苗生根,并且随着浓度的增加根由细弱变得粗壮;而高浓度的 NAA(0.5 ~ 2.0 mg/L)则在脱毒苗基部产生较多愈伤组织,不利于生根。由表 4 可见,不同浓度的 IBA 仅对根长有极显著性影响,对株高增加值和根数影响不显著。总体看来,低浓度的 IBA(0.5 ~ 1.0 mg/L)对根的生长较为有利,根长和根数较大,根较粗且没有愈伤组织生成。由表 5 可见,不同浓度的多效唑对脱毒苗的株高增加值、根数和根长均有极显著性影响。多效唑随着浓度的增加对株高有明显的抑制作用,多效唑 0.5 ~ 4 mg/L 时植株冠部生长缓慢,但叶色浓绿,植株粗壮,有明显的壮苗作用;多效唑 0.5 ~ 1.0 mg/L 时,根数最多且根较为粗壮;多效唑 0.1 ~

0.5 mg/L 时,根长较长。综合考虑,多效唑 0.5 mg/L 适宜脱毒苗的壮苗生根培养。

3 讨论

3.1 糖的种类及浓度对脱毒苗壮苗生根的影响

蔗糖是组织培养常用的碳源,可为植物的生长提供养料,同时也对培养基渗透压的调节有一定的作用。植物组织培养一般常用分析纯蔗糖。试验结果表明 3% ~ 9% 蔗糖和白砂糖对试管苗的生根有利,但 9% 糖的浓度较高,培养基渗透势较低造成细胞失水,叶缘干枯;糖浓度 3% ~ 6% 时较为适宜,从经济角度考虑,应该选用 3% 的白砂糖。同时,3% 的蔗糖和白砂糖比较,后者的壮苗生根效果均好于前者且经济效益更高。王英等对脱毒马铃薯的研究中也显示白砂糖处理试管苗其株高、叶片数、茎粗、根数及根长等均优于蔗糖处理<sup>[2]</sup>,与本试验所得结果一致。

3.2 植物生长调节剂对脱毒苗壮苗生根的影响

孔萌萌等对芦笋的研究结果表明,NAA 0.05 ~ 0.1 mg/L 时生根效果最好<sup>[3]</sup>。在对怀地黄生根的研究中发现,低浓度的 NAA(≤ 0.1 mg/L)添加时,随着 NAA 浓度的增加根由细弱变得粗壮,当 NAA 浓度较高时(0.5 ~ 2.0 mg/L)时,虽然根系粗壮,但高浓度的 NAA 易引起愈伤组织产生,且根是从愈伤组织上形成,这样形成的根与茎部维管束不直接相通,导

方春林, 贺 刚, 余智杰, 等. 饲料中 3 种增色剂对锦鲤体色的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 226–228.

# 饲料中 3 种增色剂对锦鲤体色的影响

方春林, 贺 刚, 余智杰, 张燕萍

(江西省水产科学研究所, 江西南昌 330039)

**摘要:** 分别用添加加丽素黄、螺旋藻和虾青素的饲料投喂锦鲤, 研究 3 种增色剂对锦鲤体色的影响。结果表明, 在饲料中添加加丽素黄、螺旋藻和虾青素均能有效改善锦鲤体色, 且螺旋藻和虾青素增色效果显著高于加丽素黄, 加丽素黄、螺旋藻和虾青素的适宜添加量分别为 80 mg/kg、8%、800 mg/kg。

**关键词:** 加丽素黄; 螺旋藻; 虾青素; 锦鲤; 增色剂; 体色

**中图分类号:** S963.73 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)05–0226–03

色彩是观赏鱼的主要价值之一。同一品种中, 除水质、光照等条件外, 饵料影响体色更为突出, 在饵料中添加富含类胡萝卜素的物质可以使鱼体着色<sup>[1]</sup>。我国关于观赏鱼增色饵料的研究较少, 韩国、新加坡和日本等对鱼体增色的研究较多, 但其研究成果受专利保护。因此, 研究开发健康、高效的增色饵料, 已成为我国观赏鱼发展中亟待解决的问题。锦鲤(*Cyprinus carpio*)是一种观赏性的鲤科鱼类, 属于亚热带和温带的淡水鱼, 是观赏鱼市场中的主流品种之一。锦鲤是由野生食用鲤鱼演变而来的一种观赏鱼, 以其鱼体呈现鲜艳似锦的色彩、变幻多姿的斑纹而得名, 至今已有 100 多个品种。因其具有独特的魅力、艳丽的体色、潇洒优美的游姿, 受到广大

观赏鱼爱好者的喜爱。然而, 在实际的养殖过程中, 锦鲤的体色较难达到所需求的色泽标准, 严重影响其观赏价值, 同时也制约着锦鲤养殖的经济效益。因此, 有必要研究锦鲤饲料中不同增色剂的添加量及着色效果, 从而筛选出高效、安全和环保的增色剂, 旨在改善锦鲤的体色, 减少成本, 提高其观赏价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验鱼为江西省水产科学研究所观赏鱼基地自行繁殖的黄色锦鲤, 体长( $9.10 \pm 0.86$ ) cm, 体重( $26.38 \pm 3.27$ ) g/尾。加丽素黄是帝斯曼(中国)有限公司的产品, 虾青素是德国巴斯夫公司的产品, 螺旋藻是山东省威海清华紫光科技开发有限公司的产品。基础饲料(A, 其配方为鱼粉 30%、豆粕 32%、面粉 33.4%、油 3%、多矿 1%、多维 0.3%、盐 0.3%)主要营养成分为粗蛋白 36.67%、粗脂肪 5.6%、灰分 7.85%、水分 10.84%, 以投喂该饲料的为对照组。试验饲料 B: 在基础

收稿日期: 2012–10–31

作者简介: 方春林(1960—), 男, 江西南昌人, 副研究员, 主要从事鱼类营养与鱼类种质资源研究。Tel: (0791) 88101682; E-mail: chunlinf@163.com。

致营养物质运输跟不上, 试管苗移栽时不易成活。田伟伟等在对怀地黄试管苗快繁研究中也发现, 当  $NAA \geq 0.2$  mg/L 时, 根部愈伤化情况明显增多, 在愈伤组织上又长出不定根<sup>[4]</sup>。

IBA 对怀地黄生根的影响与 NAA 相似。低浓度的 IBA (0.5~1.0 mg/L) 对根的生长较为有利, 根长和根数较大, 根较粗且没有愈伤组织生成; 高浓度 (IBA 2.0~8.0 mg/L) 的试管苗基部也会形成大量愈伤组织, 不定根从愈伤组织上形成。彭峰等在对彩色马蹄莲组培苗的壮苗生根研究中也发现, 低浓度 (0~0.5 mg/L) 的 IBA 有利于根的生长<sup>[5]</sup>。

多效唑是一种植物生长延缓剂。近年来, 多效唑已广泛应用到草莓<sup>[6]</sup>、洋葱<sup>[7]</sup>、欧李<sup>[8]</sup>、铁皮石斛<sup>[9]</sup>等植物的生根培养中。适宜浓度的多效唑对试管苗的壮苗生根和提高移栽成活率等方面具有良好的效应。本研究发现, 适宜浓度的多效唑 (0.5 mg/L) 也有利于怀地黄试管苗的壮苗生根, 在此浓度下形成的根粗短健壮, 地上部分生长也较为旺盛, 叶色浓绿, 株型紧凑且有较多的腋芽。

综合比较 NAA、IBA 和多效唑的效果, 发现 NAA 和 IBA 对生根有促进作用, 但壮苗效果不明显, 植株相对比较细弱, 节间较长, 而多效唑对壮苗和生根都有明显的促进作用, 因此, 0.5 mg/L 应为怀地黄试管苗最佳生根培养基多效唑的添

加浓度。

## 参考文献:

- [1] 薛建平, 葛德燕, 张爱民, 等. 地黄组织培养研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(12): 1114–1117.
- [2] 王 英, 于丽丽, 刘志文. 不同水源和碳源对脱毒马铃薯快繁的影响[J]. 河南农业科学, 2011, 40(5): 148–151.
- [3] 孔萌萌, 周根余. 芦笋组织培养生根技术[J]. 上海师范大学学报, 2006, 35(2): 91–94.
- [4] 田伟伟, 赵 君. 怀地黄试管苗的快繁体系研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(5): 2693–2695, 2698.
- [5] 彭 峰, 陈嫣嫣, 郝日明, 等. 彩色马蹄莲组培苗壮苗生根及移栽措施研究[J]. 江苏农业科学, 2008(1): 126–128.
- [6] 崔广荣, 刘云兵, 郭蕾娜. 草莓增殖和生根壮苗培养基的筛选[J]. 中国农学通报, 2003, 19(6): 210–212, 215.
- [7] 徐启江, 李玉花, 陈 典. PP<sub>333</sub> 对分蘖洋葱试管苗增殖和生根的影响[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(3): 314–316.
- [8] 钟士传, 刘 琳. 欧李试管苗生根与移栽技术的研究[J]. 西北农业学报, 2005, 14(4): 86–88, 109.
- [9] 蒙爱东, 王东兰, 胡东南, 等. 多效唑对铁皮石斛试管苗培养的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(15): 6856–6857, 6980.