

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2016.03.018

不同培养基配方对白及组培苗生根培养的影响

曹 剑, 黄志伟

(重庆三峡职业学院农林科技系, 重庆 404155)

摘 要:本文以1/2MS培养基为基础培养基,采用4因素3水平($L_9(3^4)$)3次重复正交试验,探讨不同激素NAA、 GA_3 、6-BA及香蕉泥等因素对白及组培苗生根效果的影响。结果表明本试验中设计的4个试验因素对白及生根培养的影响程度依次为NAA>香蕉泥>6-BA> GA_3 ,NAA、 GA_3 及香蕉泥有促进白及根系生长的作用,6-BA则对白及生根有抑制作用,得出白及生根培养的最适配方为:1/2MS+NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $GA_3\ 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +香蕉泥 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词:白及;组培苗;生根培养

中图分类号:S723.132

文献标识码:A

文章编号:1003-5508(2016)03-0096-04

1 前言

白及又名及白芨、连及草、白根、紫蕙等,为兰科白及属植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Rehb. f. 的干燥块茎,作为我国民间的传统中药,其药性甘、苦、涩,性寒,归肺、胃、肝经,具有收敛止血,消肿生肌之效,主治体内外诸出血证,是具有相当发展前景的药用原料及生物医学材料,经济价值不容忽视^[1-2]。

白及种子较小,自然情况下萌发率极低,而在人工栽培条件下,以分株为主的传统繁殖方式其繁殖速度很慢,繁殖系数极低,伴随白及生态环境的破坏,野生资源日益枯竭,目前已被列为稀有濒危植物^[3-4]。

目前,利用白及种子进行快繁获得的组培苗逐渐取代了传统的分株苗。然而在长期组培过程中存在一部分弱苗、玻璃化苗,影响正常的继代扩繁、降低生根率与移栽成活率,继而降低种苗品质,严重影响正常的工厂化生产与效益,因此,提高白及组培苗生根壮苗的比率是保证白及正常工厂化生产与销售的前提^[5-7]。因此,此次研究探讨不同激素NAA、 GA_3 、6-BA及香蕉泥等因素对白及组培苗生根壮苗培育的影响,旨在探索不同培养基配方下白及组

培苗生根壮苗生长规律,建立白及生根壮苗的优化生产工艺,为工厂化大规模生产优质白及种苗提供理论依据与技术指导。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

供试材料为白及成熟未开裂蒴果,来自重庆市药用植物研究所。

1.2 方法

1.2.1 无菌苗的培育

无菌苗的培育于2014年8月在重庆三峡职业学院组培实验室进行,选取白及成熟蒴果在无菌条件下播种,培养基为1/2MS+6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +10%椰子汁+活性炭 $0.4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,其中添加 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖, $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂粉,pH值调节至5.8,培养温度为 $25\pm 1^\circ\text{C}$ 、光照强度 $2\ 000\text{ lx}\sim 2\ 500\text{ lx}$ 、光照时间 $12\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

1.2.2 试验设计

采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,以NAA(A)、 GA_3 (B)、6-BA(C)、香蕉泥(D)为因素,每个因素设3个水平(表1),得到 $L_9(3^4)$ 正交试验设计表(表2)。

收稿日期:2015-10-05

基金项目:重庆市教委科学技术研究项目(名称:白及组培育苗技术条件优化研究编号:KJ1403309)。

作者简介:曹剑(1978-),女,硕士,研究方向为有害生物防控、特种作物栽培,E-mail:407586199@qq.com。

表 1 正交试验设计的因素及水平

水平	因素			
	NAA (mg · L ⁻¹)	GA ₃ (mg · L ⁻¹)	6-BA (mg · L ⁻¹)	香蕉泥 (g · L ⁻¹)
1	0	0	0	0
2	0.2	0.5	0.2	30
3	0.5	1.0	0.5	50

表 2 正交试验设计 L₉(3⁴)

处理	NAA (mg · L ⁻¹)	GA ₃ (mg · L ⁻¹)	6-BA (mg · L ⁻¹)	香蕉泥 (g · L ⁻¹)
1	0	0	0	0
2	0	0.5	0.2	30
3	0	1.0	0.5	50
4	0.2	0	0.2	50
5	0.2	0.5	0.5	0
6	0.2	1.0	0	30
7	0.5	0	0.5	30
8	0.5	0.5	0	50
9	0.5	1.0	0.2	0

1.2.3 实验步骤及培养条件

选取同一批次、长势一致的白及组培苗,要求苗高在 1.0~1.5cm(苗高指原球茎顶端至新叶抽生处的垂直高度),仔细去除下部黄叶及原球茎上已有根系。直接插入上述表 2 试验培养基中(30 g · L⁻¹蔗糖,5 g · L⁻¹琼脂粉,pH 值调节至 5.8),20 瓶 · 处理⁻¹,10 苗 · 瓶⁻¹。培养温度为 25 ± 1℃、光照强度 2 000 lx~2 500 lx、光照时间 12 h · d⁻¹。

1.2.4 结果记录及数据处理

记录白及组培无根苗生根情况,每隔 10 d 采集 1 次数据,连续记录 6 次。每次每处理随机抽取 3

瓶,采集组培苗生根数、根长(cm)、根粗(mm)、有无畸形根及畸形苗等数据。

对白及苗根系进行综合评分时,根据苑玉凤^[8]的多指标正交试验分析方法,采用公式评分法对几个主要生根指标打分后进行分析,其评分公式为:

综合评分 = 平均根数 × 5 + 根系总长 × 3 + 根系直径 × 2。

综合评分时试验数据需进行标准化处理,采用 Min-max 标准化法,即:

$$x^* = \frac{x - \min}{\max - \min}$$

其中,max 为样本数据的最大值;min 为样本数据的最小值。

根系总长为 1 株组培苗所有根的长度之和,根系直径为 1 株组培苗平均根粗,对各处理指标采用公式评分法进行评价,综合评分越高的,说明生根效果越好。

试验数据用 Excel 和 DPS7.05 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同培养基配方对白及组培苗生根率及生根数的影响

在白及组培苗生根培养过程中,观察发现当转接培养 40d 后,7、8、9 号处理的白及苗明显的出现了畸形根、根相互缠绕、生出细小须根及丛生芽等现象(图 1),导致难以将其完好分离,不能准确计数。



7号处理培养50d时,出现的丛生芽、畸形根 9号处理培养60d时,根系缠绕在一起,生出大量细小须根
图 1 丛生芽、畸形根等现象

通过表 3,不难看出转接 10 d 时所有处理均已生根,但生根率有较大差异,其中生根率最高的 6 号

配方达 97%,而最低的 5 号配方仅为 40%;随着转接培养天数的增加这种差异将变得较小,当转接培

养到 40 d 时,所有配方的生根率都达 90% 以上。

表 3 白及组培苗生根率及生根数

处理号	转接天数(d)							
	10		20		30		40	
	生根率 (%)	生根数 (根)	生根率 (%)	生根数 (根)	生根率 (%)	生根数 (根)	生根率 (%)	生根数 (根)
1	60	0.61	93	1.24	100	1.78	100	2.30
2	77	1.23	100	1.61	97	2.20	100	3.28
3	40	1.04	60	1.23	90	2.03	97	2.89
4	80	1.80	87	1.62	93	2.41	100	3.64
5	40	0.25	60	0.39	80	1.62	93	3.01
6	97	2.23	100	3.23	100	3.79	100	5.02
7	77	1.05	87	1.22	83	2.49	97	3.95
8	93	1.84	100	2.38	100	3.43	100	4.41
9	60	0.50	80	1.24	87	2.57	90	4.34

根据表 3 及图 2,可以看出在生根数方面,6 号培养基表现最好,转接 10d 时其平均生根数就达 2.20 根,而到 40 d 时则高达 5.02 根,其次是 8 号培养基,转接 40 d 时其平均生根数为 4.41 根;表现最差的为 1 号培养基,转接 40 d 时其平均生根数仅为 2.30 根。

在生根诱导方面,综合考虑生根率、生根数指

表 4 白及组培苗根长

处理号	转接天数(d)											
	10		20		30		40		50		60	
	平均根总长 (cm)	最长根 (cm)	平均根总长 (cm)	最长根 (cm)	平均根总长 (cm)	最长根 (cm)	平均根总长 (cm)	最长根 (cm)	平均根总长 (cm)	最长根 (cm)	平均根总长 (cm)	最长根 (cm)
1	0.49	0.50	1.20	1.50	1.53	2.60	2.64	3.20	3.43	3.50	4.04	3.80
2	0.48	0.60	1.48	1.30	2.28	2.00	3.42	2.90	4.06	3.30	4.52	3.30
3	1.10	0.50	1.75	1.40	2.26	1.70	2.97	1.40	3.82	2.00	4.31	2.40
4	0.56	0.50	1.35	0.90	3.15	1.90	4.91	2.70	5.22	2.90	5.64	2.90
5	0.20	0.20	0.67	0.30	1.36	0.70	2.73	0.90	3.02	1.20	3.51	1.70
6	1.26	0.90	2.00	1.50	5.10	2.70	7.50	3.10	8.13	3.40	8.90	3.60
7	0.68	0.40	1.31	0.60	2.19	0.90	3.85	1.40	4.10	1.90	4.67	2.10
8	0.74	0.70	1.84	0.90	3.46	1.70	5.93	2.80	6.86	3.40	7.19	3.50
9	0.23	0.30	0.77	0.60	1.10	0.80	2.04	1.20	2.91	1.80	3.42	2.20

从表 4 中选取根系总长前 4 的处理即 6、8、4 及 2 号处理,绘制其根系生长曲线(图 3),可以看出,白及组培苗根系生长情况总体呈“S”型增长,大致分成 3 个阶段,第一阶段为从转接开始到转接 20 d 时,白及苗需经过适应新的培养基以及根系的萌发过程,此阶段根系伸长生长缓慢;第二阶段从转接 20 d~40 d 时,由于白及已经充分适应培养基及培养条件,根系能够快速生长,是根系快速伸长生长阶段;第三阶段从转接 40 d~60 d 时,由于前期白及苗的快速生长消耗了较多的营养成分,此时培养基的营养成分已较少,加之由于白及苗根系的快速生长导致生长空间的竞争,所以此阶段根系的伸长生长明显减慢。

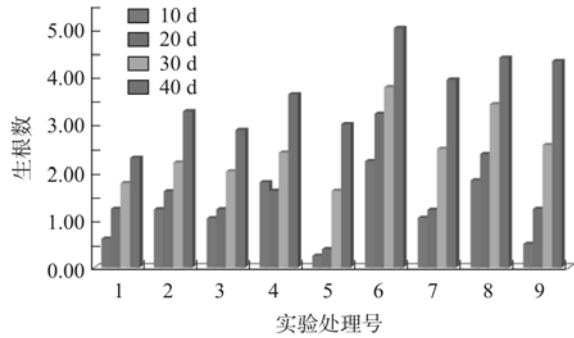


图 2 白及苗生根数柱形图

标,能够看出 6 号培养基即 1/2MS + NAA0.2 mg · L⁻¹ + GA₃1.0 mg · L⁻¹ + 香蕉泥 30 g · L⁻¹ 最好。

2.2 不同培养基配方对白及组培苗根长的影响

在生根培养过程中,通过连续 6 次每次间隔 10 d 的观察及数据采集,数据整理见表 4,可以看出,6 号处理从转接开始到培养 60 d 时,在根总长方面表现最好,转接 60d 时根总长达 8.90 cm,最长根 3.60 cm,其次表现较好的是 8 号处理,而 9 号处理表现最差,60 d 时根总长仅为 3.42 cm,最长根 2.20 cm。

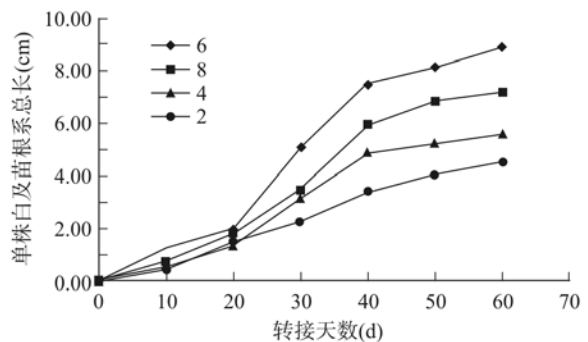


图 3 白及组培无根苗根系生长曲线

2.3 不同培养基配方对白及组培苗根系直径的影响

上述表 5 是在白及苗生根培养 40 d 时测得的

数据,其中9号培养基白及苗根系最粗达1.40 mm,其次是8号培养基,而根系最细的则是3号培养基,仅为0.47 mm。然而观察中发现,虽然7、8、9号培养基白及苗根系都较粗,但根系的韧性较差,易断,将会极大影响白及组培苗的移栽成活率。

2.4 不同培养基配方对白及组培苗根系生长的综合影响

利用转接培养40 d时的数据进行分析试验结果,首先对数据进行标准化处理,然后进行综合评分(见表6)。由表6可以看出,在组合条件下,6号处

理即 $1/2MS + NAA0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + GA_31.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{香蕉泥} 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的根系综合评分达8.77,表现最好,说明生根效果好,其次是8号处理,而1号处理仅为0.39,表现最差,说明其生根效果不好。

利用上述综合评分的得分做极差分析(见表6)。由表6可看出各因素作用的主次顺序为 $A > D > C > B$,即NAA对白及组培无根苗生根起主导作用,其次是香蕉泥浓度,然后是6-BA,但从表中可以看出6-BA对白及苗生根有一定抑制作用,而 GA_3 的作用最弱。

表5 白及苗根系直径

处理号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
根系直径(mm)	0.50	0.52	0.47	0.80	0.76	0.83	1.16	1.20	1.40

表6 $L_9(3^4)$ 正交试验的极差分析表

处理号	实验因素				平均根数(根)	根系总长(cm)	根系直径(mm)	数据标准化			综合评分	备注
	NAA	GA3	6-BA	香蕉泥				平均根数(根)	根系总长(cm)	根系直径(mm)		
	($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)								
A	B	C	D									
1	1	1	1	1	2.30	2.64	0.50	0.00	0.11	0.03	0.39	
2	1	2	2	2	3.28	3.42	0.52	0.36	0.25	0.05	2.67	
3	1	3	3	3	2.89	2.97	0.47	0.22	0.17	0.00	1.60	
4	2	1	2	3	3.64	4.91	0.80	0.49	0.53	0.35	4.75	
5	2	2	3	1	3.01	2.73	0.76	0.26	0.13	0.31	2.31	+
6	2	3	1	2	5.02	7.50	0.83	1.00	1.00	0.39	8.77	
7	3	1	3	2	3.95	3.85	1.16	0.61	0.33	0.74	5.51	+ Δ
8	3	2	1	3	4.41	5.93	1.20	0.78	0.71	0.78	7.59	+
9	3	3	2	1	4.34	2.04	1.40	0.75	0.00	1.00	5.75	+ Δ
K_{1j}	4.66	10.66	16.75	8.45								
K_{2j}	15.83	12.56	13.17	16.95								
K_{3j}	18.85	16.12	9.41	13.93								
K_1	1.55	3.55	5.58	2.82								
K_2	5.28	4.19	4.39	5.65								
K_3	6.28	5.37	3.14	4.64								
极大值	6.28	5.37	5.58	5.65								
极小值	1.55	3.55	3.14	2.82								
极差	4.73	1.82	2.45	2.83								
次序												
最优组合												

注: K_{1j}, K_{2j}, K_{3j} 分别为各因素各水平的总和; K_1, K_2, K_3 分别为各因素各水平的均值;“+”指有丛生芽,“Δ”指有畸形根。

3 讨论

在白及组培苗的生根培养过程中,NAA、香蕉泥及 GA_3 有促进白及根系生长的作用,其中NAA起到主导作用,但NAA浓度达 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,7、8、9号处理的白及苗均出现畸形根及丛生芽现象,不利于培育优质壮苗,而6-BA则相反,对白及根系生长有抑制作用,这与付志惠^[6]、赵漫丽^[9]等的研究结果不尽相同,究其原因还有待进一步研究。此次

试验得出白及生根培养的最适配方为: $1/2MS + NAA0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + GA_31.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{香蕉泥} 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

观察中发现转接60 d时,白及瓶苗之间的根系已纠结在一起,难以分离开来,或者即便能分离开也会有为数不少的根系在分离过程中受伤或折断等现象发生。因此建议生产上,为确保炼苗移植时白及瓶苗成活率,应随时观察根系的生长情况,当要出现苗与苗之间根系打结时,就应立即炼苗移栽。在实

(下转第53页)

林盘的现状和当地建设规划,因地制宜,促进人与自然和谐发展。针对川西林盘的研究,应为其保护和发展的服务。首先应加强对川西林盘群落结构特征、自然演替、生态和景观功能等方面的研究,争取通过科学手段,使之朝着群落健康,生态服务功能稳定的方向发展;其次应加强对川西林盘生态价值、景观价值和文化价值的挖掘,使其价值得到合理开发利用,发展新型林盘,使其不仅仅局限于传统栽植带来的经济价值。

参考文献:

- [1] Wenying DONG, Zhenjun WEN, Xiuzhen LIN. The Study on Energy Saving Experience of Farmhouse Forest in Western Sichuan Province under the Background of Passive Construction[C]. Natural Resources and Sustainable Development II. Part 1, 2012.
- [2] 段鹏,刘天厚.蜀文化之生态家园——林盘[M].成都:四川科技出版社,2004.
- [3] 蔡绍田.新农村建设中的林盘保护规划[J].四川建筑,2007(5):4~6.
- [4] 方志戎,周建华.人口、耕地与传统农村聚落自组织——以川西平原林盘聚落体系(1644-1911)为例[J].中国园林,2011(06):83-87.
- [5] 孙大江,陈其兵,胡庭兴,等.川西林盘群落类型及其多样性[J].四川农业大学学报,2011,29(1):22-28.
- [6] 陈其兵.川西林盘景观资源保护与发展模式研究[M].中国林业出版社,2011.
- [7] 郑婧.论川西林盘的生态意义[J].山西建筑,2010,36(12):50-52.
- [8] 赵羿,李月辉.实用景观生态学[M].科学出版社,2001.
- [9] 樊砚之,陈其兵,李世庆,等.川西林盘特色生态旅游模式研究[D].四川农业大学,2007.
- [10] 雷亚平,林忠平.川西林盘冬夏季热环境实测分析[J].建筑热能通风空调,2010,29(6):52-55.
- [11] 万会兰,周媛,刘蕊,等.川西林盘生态微气候数值模拟分析[J].城市建筑,2013,(20):290.
- [12] 方志戎,李先逵.川西林盘文化的历史成因[J].成都大学学报(社科版),2011,(5):45-49.
- [13] 蔡小于.农村传统民居价值探析——以川西林盘为例[J].理论与改革,2009,(4):153-155.
- [14] 张莹.川西林盘体系保护与发展研究[D].西南交通大学,2008.
- [15] 蔡军,陈其兵,胥晓刚,等.川西林盘营建模式及植物选择研究[J].安徽农业科学,2010,38(35):20177~20179,20183.
- [16] 卢昶儒.川西林盘植物群落景观特征研究[D].西南交通大学,2012.
- [17] 杨蝉应,陈其兵.川西林盘植物景观评价指标选择初探[C].第四届中国竹业学术大会论文集.
- [18] 郑建刚,朱鸿伟.关于对川西农村林盘文化进行保护和开发利用的调研报告[J].中共成都市委党校学报,2008(2):71-74.
- [19] 李欣珏.基于生态学角度的川西林盘保护对策探究[J].价值工程,2011,30(5):198-199.
- [20] 李光梓.旅游文化视野下的川西林盘风貌保护与开发[J].当代旅游(学术版),2011(5):49-50.
- [21] 杨晓艺.川西林盘保护与开发的创新模式[J].成都大学学报(社会科学版),2011(5):50-53.
- [22] 林光旭.成都平原林盘式聚落的现代化演绎方向[J].西南农业大学学报(社会科学版),2011,09(1):5-9.
- [23] 江泽慧.加快城市森林建设走生态化城市发展道路[J].科技和产业,2003(9):13-19.
- [24] 《四川森林》编辑委员会.四川森林[M].中国林业出版社,1992.
- [25] 刘波,牟江.基于川西林盘保护的新型农村聚落规划设计.四川建筑科学研究[J],2012,38(2):252-255.

(上接第99页)

际生产中,还应注意转接苗密度设置、培养基灌装量对组培苗综合生长的影响,具体机理也有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会编.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:化学工业出版社,2010:95.
- [2] 林卫红.白及雾化吸入治疗咯血症疗效观察[J].上海中医药杂志,2012,46(11):51-52.
- [3] 管常东,叶静,郑晓君,等.白及组织快繁育苗技术研究进展[J].云南大学学报:自然科学版,2010,32(SI):416-421.
- [4] 罗文秀,张寿文,李晓婷,等.白及快速繁殖的研究概况[J].中国现代中药,2007,9(11):42-43.
- [5] 张燕,黎斌,李汝娟,等.白及种子的无菌萌发过程观察和组培快繁研究[J].北方园艺,2013(03):158-160.
- [6] 付志惠,张建霞,李洪林,等.白及种子萌发与快速繁殖技术的研究[J].武汉植物学研究,2006,24(1):80-82.
- [7] 余朝秀,李枝林,王玉英.野生白及组培快繁技术研究[J].西南农业大学,2005,27(5):601-604.
- [8] 苑玉凤.多指标正交处理分析[J].湖北汽车工业学院学报,2005,19(4):53-56.
- [9] 赵漫丽,黄春球,李明静,等.添加剂对白及组培的影响[J].云南农业大学学报,2011,26(5):821-827.