

长柄扁桃试管苗诱导生根的初步研究

孙占育¹, 郭春会², 孙志强¹, 曹 斌¹

(1. 渭南职业技术学院, 陕西 渭南 714000; 2. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨陵 712100)

摘 要:应用均匀正交设计 $UL_9(3^4)$ 方案, 对长柄扁桃试管苗诱导生根进行研究。分析了 IBA(吲哚丁酸)、AC(活性炭)、蔗糖 3 种不同浓度及其组合对长柄扁桃试管苗诱导生根培养的影响。结果表明: 3 种因素的作用大小为 $AC>IBA>蔗糖$, 适于诱导长柄扁桃试管苗生根的培养基为 $1/2MS + IBA\ 40\ mg \cdot L^{-1} + AC\ 0.5\ g \cdot L^{-1} + 蔗糖\ 40\ g \cdot L^{-1}$ 。

关键词:长柄扁桃; 试管苗; 诱导生根; 均匀正交设计

中图分类号:S722.37 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2010)03-0087-03

A Preliminary Study on *in vitro* Rooting of *Amygdalus pedunculata*

SUN Zhan-yu¹, GUO Chun-hui², SUN Zhi-qiang¹, CAO Bin¹

(1. Weinan Vocational and Technology College, Weinan, Shaanxi 714000, China;

2. College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Induction *in vitro* rooting of *Amygdalus pedunculata* was studied by using uniform orthogonal design $UL_9(3^4)$. The effects of indole-3-butyric acid (IBA), activated carbon (AC) and sucrose in different concentrations and combinations on the induction of culture *in vitro* rooting were analyzed. The results showed that the effectiveness of three factors was in the order of $AC>IBA>Sucrose$. The $1/2MS$ supplemented with $IBA\ 40\ mg \cdot L^{-1} + AC\ 0.5\ g \cdot L^{-1} + Sucrose\ 40\ g \cdot L^{-1}$ were suitable for root inducing.

Key words: *Amygdalus pedunculata*; *in vitro* shoot; root induce; uniform orthogonal design

长柄扁桃(*Amygdalus pedunculatus*)是蔷薇科扁桃亚属的落叶灌木^[1], 又名野樱桃、柄扁桃、毛樱桃, 是我国特有的扁桃属野生种。长柄扁桃具有抗旱、抗风、固沙能力强等特性, 具有很好的生态效益。长柄扁桃果仁的营养价值高, 适于加工保健品, 其含油量高达 45.2%~52.0%, 可做工业原料, 是一种极具开发潜力的野生果树资源树种。长柄扁桃作为适应我国西北干旱、半干旱地区山地和沙地生态条件而自然分布的一种落叶灌木, 由于沙漠淹没和人为破坏, 已成为濒危植物^[2]。

目前, 长柄扁桃自然繁殖困难^[3], 急需开展长柄扁桃组织培养快繁技术的研究, 而长柄扁桃试管苗难生根已成为一项重大技术障碍。本研究通过均匀正交设计^[4]试验, 分析 IBA、AC 及蔗糖 3 种不同浓度配比对长柄扁桃试管苗诱导生根的影响, 寻找最优的配方组合。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料来自西北农林科技大学园艺学院组培室的长柄扁桃试管苗。在组培室挑选生长相对整齐的健壮试管苗, 接种在含不同浓度的吲哚丁酸 (IBA)、活性炭 (AC)、蔗糖的 $1/2MS$ 培养基上, 暗培养诱导生根。培养基的 pH5.8, 琼脂粉含量为 $6.5\ g \cdot L^{-1}$ 。每瓶接种 3 个嫩茎, 每个处理 10 瓶, 重复 3 次。

1.2 试验设计

采用 $UL_9(3^4)$ 均匀正交设计。研究 IBA、AC、蔗糖 3 个因素对长柄扁桃试管苗诱导生根的影响 (表 1)。每个因素取 3 个水平 (表 2) 共 9 个处理, 每处理重复 3 次。

1.3 数据记录与处理

暗培养 6 d 诱导生根,然后转入不含激素的 1/2MS培养中进行光培养,20 d 后统计生根苗数、每株生根数及愈伤状况。数据处理采用 SAS8.0 软件分析。

表 1 UL₉(3⁴)因素水平
Table 1 UL₉(3⁴) factors and levels

水平	IBA /(mg·L ⁻¹)	蔗糖 /(g·L ⁻¹)	AC /(g·L ⁻¹)
1	30	20	0
2	40	30	0.5
3	50	40	1

2 结果与分析

2.1 平均生根率

由表 2、表 3 可以看出,IBA 和 AC 对平均生根率

有极显著的影响,蔗糖的影响也达到显著水平。3 种因素对平均生根率的诱导作用为 AC>IBA>蔗糖,三者均为影响生根率的主要因素。由多重比较可看出,当 $\alpha=0.05$ 时,IBA 的 2 水平生根率显著高于 1 水平,蔗糖的 3 水平生根率明显高于其他 2 个水平,AC 的 2、3 水平的生根率显著高于 1 水平。由此可见,高浓度的 IBA 和蔗糖有利于提高生根率,加入一定浓度的 AC 有利于诱导生根。3 种因素诱导长柄扁桃试管苗生根率高的最优水平分别是 IBA 40 mg·L⁻¹、蔗糖 40 g·L⁻¹、AC0.5 g·L⁻¹。

2.2 平均生根数

由表 4 可以看出,IBA 和 AC 对生根数有极显著的影响,蔗糖的影响也达到显著水平。3 个因素对生根数的影响程度为 AC>IBA>蔗糖。当 $\alpha=0.05$ 时,IBA 的 2、3 水平显著高于 1 水平,蔗糖和

表 2 UL₉(3⁴)均匀正交试验方案与试验结果

Table 2 UL₉(3⁴) uniform orthogonal design test plan and results

试验号	IBA /(mg·L ⁻¹)	蔗糖 /(g·L ⁻¹)	AC /(g·L ⁻¹)	平均生根率/%			平均生根数			愈伤组织(等级) ^①		
				I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	30	20	0.0	71.4	71.4	80.0	5	7	8	5	4	5
2	30	30	1.0	100.0	80.0	100.0	3	3	3	1	1	1
3	30	40	0.5	100.0	97.5	100.0	5	5	6	2	2	2
4	40	20	1.0	100.0	100.0	100.0	6	4	5	1	1	1
5	40	30	0.5	100.0	100.0	100.0	14	14	13	3	3	3
6	40	40	0.0	85.7	100.0	100.0	4	6	8	3	4	3
7	50	20	0.5	100.0	100.0	100.0	10	8	7	3	2	2
8	50	30	0.0	76.7	83.3	86.0	7	6	7	4	5	5
9	50	40	1.0	100.0	100.0	100.0	8	6	5	2	2	2

①1—基本无愈伤组织,2—有少量愈伤组织,3—愈伤组织一般,4—愈伤组织较多,5—严重愈伤化。

表 3 平均生根率方差分析及多重比较^①

Table 3 Variance analysis and multiple comparisons of average rooting rate

因素	F 值	水平	平均生根率 /%	多重比较 ($\alpha=0.05$)
IBA	7.27**	2	98.41	a
		3	94.00	ab
		1	88.92	b
蔗糖	4.60*	3	98.13	a
		2	91.78	b
		1	91.42	b
AC	24.23**	2	99.72	a
		3	97.78	a
		1	83.83	b

①**表示极显著水平;a、b、c 表示各水平间显著差异。下表同。
AC 的 2 水平均显著高于其他 2 个水平。由此可见,高浓度的 IBA、一定浓度的蔗糖和 AC 有利于生根数的增加。因此,3 种因素诱导长柄扁桃试管苗生根的最优水平均为 2 水平,即 IBA 40 mg·L⁻¹、蔗糖 30 g·L⁻¹、AC0.5 g·L⁻¹。

表 4 平均生根数方差分析及多重比较

Table 4 Variance analysis and multiple comparisons of average number of roots

因素	F 值	水平	平均生根数	多重比较 ($\alpha=0.05$)
IBA	24.11**	2	8.22	a
		3	7.11	a
		1	5.00	b
蔗糖	5.62*	2	7.78	a
		1	6.67	b
		3	5.89	b
AC	29.77**	2	9.11	a
		1	6.44	b
		3	4.78	c

2.3 愈伤组织(等级)

AC 对愈伤组织有极显著的影响(表 5),IBA 的影响达到显著水平。3 种因素诱导愈伤组织的作用大小为 AC>IBA>蔗糖。当 $\alpha=0.05$ 时,IBA 的 1、2 水平愈伤化程度显著低于 3 水平,蔗糖的 3 水

平愈伤化程度显著低于其他 2 个水平。AC 的 3 个水平愈伤化程度差异显著,其中 3 水平的愈伤化程度最低,基本无愈伤组织。由此可见,高浓度的 AC 和蔗糖可减少愈伤组织的发生,而高浓度的 IBA 则导致愈伤增多,诱导生根效果差。3 种因素诱导长柄扁桃试管苗生根愈伤化程度低的水平为 IBA30、40 mg · L⁻¹,蔗糖 40 g · L⁻¹,AC1.0 g · L⁻¹。

表 5 愈伤组织(等级)方差分析及多重比较
Table 5 Variance analysis and multiple comparisons of callus class

因素	F 值	水平	愈伤组织 (等级)	多重比较 (a=0.05)
IBA	5.25 *	3	3.00	a
		1	2.56	b
		2	2.44	b
蔗糖	3	2	2.89	a
		1	2.67	a
		3	2.44	b
AC	129.00 **	1	4.22	a
		2	2.44	b
		3	1.33	c

综合以上对生根率、生根数和愈伤化的分析,IBA、AC、蔗糖 3 种因素诱导长柄扁桃试管苗生根效果最佳的条件为 IBA 40 mg · L⁻¹、蔗糖 40 g · L⁻¹、AC0.5 g · L⁻¹。并进一步通过对适于诱导生根的培养基(1/2MS+IBA 40 mg · L⁻¹+AC0.5 g · L⁻¹+蔗糖 40 g · L⁻¹)进行了试验验证,平均生根率达 100%,平均生根数达 10 条以上,基本无愈伤组织,诱导生根效果好。

3 结论与讨论

在根原基的发生阶段,IAA 可作为基因的活化剂,促进早期根原基的形成^[5]。IBA 促生根的效果高于 IAA^[6]。长柄扁桃试管苗诱导生根的培养基中加入 IBA 40 mg · L⁻¹诱导的生根率高、生根数多,而且愈伤组织少,诱导生根效果佳。另外,高浓度的生长素诱导生根时,暗处理时间不宜过长,否则会使试管苗出现黄化、落叶甚至顶梢枯死。

组织培养最常用的碳源是蔗糖,浓度一般为 2%~5%^[7]。在培养基中加入 40 g · L⁻¹蔗糖,生根率达 97%,而且愈伤组织少^[8]。

活性炭在组织培养中诱导生根有两面性,一方面因吸附培养基中的非极性物质和色素等有害物质而促进生根,另一方面也因吸收生根所必须的生长激素和其他营养物质而抑制生根。另外,AC 在诱导生根过程中可提供暗环境,降低光照,为培养基中光敏性生长素的积累提供合适的环境^[9],一般 AC 和生长素同时使用^[10]。试验表明,在生根培养基中

加入 AC0.5 g · L⁻¹,生根数和生根率都有显著提高^[11]。同时,加入 AC 后可减少愈伤组织的发生,防止褐变,有利于诱导生根。

参考文献:

[1] 郭春会,罗梦,马玉华,等. 沙地濒危植物长柄扁桃特性研究进展[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2005,33(12):125-128.
GUO C H, LUO M, MA Y H, *et al.* Advances of characteristic research of threatened long carpopodium almond[J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition, 2005,33(12):125-128.

[2] 李登武,党坤良,温仲明. 黄土高原地区种子植物区系中的珍稀濒危植物研究[J]. 西北植物学报,2004,24(13):2321-2328.
LI D W, DANG K L, WEN Z M, *et al.* Research of rare and endangered plants of seed plant flora in Loess Plateau[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2004,24(13):2321-2328.

[3] 张檀,郑瑞杰,梅立新,等. 长柄扁桃种子萌发特性的研究[J]. 西北林学院学报, 2006,21(4):73-76.
ZHANG T, ZHENG R J, MEI L X, *et al.* Germination characters of the seeds of the *Amygdalus pedunculata* Pall[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2006, 21(4):73-76.

[4] 方开泰,马长兴,李久坤. 正交设计的最新发展和应用(Ⅱ)——均匀正交设计[J]. 数理统计与管理,1999(3):43-50.
FANG K T, MA C X, LI J K. Recent development of orthogonal factorial designs and their application (Ⅱ)-uniformly orthogonal designs[J]. Application of Statistics and Management, 1999(3):43-50.

[5] JARVIS B C. New root formation in plants and cuttings dordrecht[M]. // JACKSON M B. Netherland: Marinus Nijhoff Publisher, 1986. 191.

[6] 黄学林,李筱菊. 高等植物组织离体培养的形态建成及其调控[M]. 北京:科学出版社,1995. 90-107.

[7] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 2 版. 北京:中国农业大学出版社,2002. 24-25.
LI J M. Guide of tissue culture of plant [M]. 2ed. Beijing: China Agricultural University Press, 2002. 24-25.

[8] 李天珍,李保堂,王笑然. 糖和氮对白榆组织培养新梢生根的影响[J]. 山西林业科技, 2001(12):11-13.
LI T Z, LI B T, WANG X R. Effect of sugar and N tip rooting of elm tissue culrue [J]. Shanxi Forestry Science and Technology, 2001(12):11-13.

[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(10):46-48.
LIU G L, LIANG Z H, ZHU J. Summarized effects of activated charcoal on plant tissue cultures[J]. Journal of Jiangsu Forestry Science & Technology, 2001(10):46-48.

[10] 李胜,张真,李婷,等. 培养基和培养条件对葡萄试管苗生根的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2006(1):24-29.
LI S, ZHANG Z, LI T, *et al.* Effects of different media and culture conditions on rooting in vitro of test-tube plantlets of *Vitis vinifera* L. [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2006(1):24-29.

[11] 王献革,及华,王利民. 黄金梨的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2003(12):621.
WANG X G, JI H, WANG L M. Tissue culture and rapid propagation of *Pyrus pyrifolia* cv. Whangkumbe[J]. Plant Physiology Communications, 2003(12):621.