



赵云彤,解国庆,范书华,等.中药材浓缩液在马铃薯脱毒苗培养中的应用[J].黑龙江农业科学,2022(11):41-44,45.

中药材浓缩液在马铃薯脱毒苗培养中的应用

赵云彤,解国庆,范书华,王 艳,张丽微,华玉晨,时新瑞,董清山

(黑龙江省农业科学院 牡丹江分院,黑龙江 牡丹江 157041)

摘要:为改良马铃薯脱毒苗培养基,采用富金和中薯5号马铃薯脱毒苗作为供试材料,将中药材浓缩液应用到马铃薯脱毒苗的培养基中,明确中药材浓缩液对马铃薯脱毒苗生长的影响。结果表明,添加15/1 000 mL浓度的中药材浓缩液可以增加马铃薯脱毒苗的根长、叶片数和茎节数,缩短茎节长度,提高脱毒试管苗的鲜重、单瓶结薯数和移栽成活率。与对照相比,马铃薯脱毒苗的根长可增加0.6 cm,叶片数增加0.7~0.8片,茎节数增加1节,茎节长度缩短0.14~0.26 cm,脱毒试管苗单株茎叶鲜重增加0.04~0.06 g,单瓶结薯数增加3~4个。脱毒苗移栽成活率可提高3.0%~4.5%。同时,在脱毒苗炼苗过程中,能有效减少杂菌污染,延长炼苗时间3~4 d。

关键词:中药浓缩液;马铃薯脱毒苗;培养基

马铃薯生产过程中,脱毒试管苗的扩繁与保存是重要的核心环节。马铃薯进行脱毒试管苗扩繁,可有效保存现有种质资源多样性;能够快速、大量获得所需种薯苗的数量,且扩繁过程不受季节、时间限制;培养周期短,最短20 d即可继代1次;无性繁殖还可保持品种的优良特征,不易发生变异^[1-2]。因脱毒试管苗的培养是马铃薯种薯繁育的重要环节之一,所以在生产实践过程中,马铃薯脱毒苗的组织培养技术也在不断进行改进。在MS培养基中加入矮壮素、防腐剂、抗生素、VC等^[3-4],可有效解决脱毒苗生长过程中遇到的生长过快、茎秆细弱、容易褐变、易污染等相关问题。培养基配方的有效改进可达到一定壮苗效果,进一步提高马铃薯脱毒微型薯的生产效率、降低生产成本、改善脱毒薯的品质。近年来,中草药中抑菌活性物质对植物病原菌的抑制作用,成为生物防治的研究方向之一^[5-7],有研究人员采用配伍中草药萃取液防治农作物、果树等病虫害,既可有效预防病害,又达到了绿色防控的要求。陈桂平等^[8]采用不同提取法提取黄芩、黄连等4种中药材中的有效活性物质进行试验,发现其对蜂房球菌有较好的抑制效果。王丽娜等^[9]提取黄芩苷、黄芩素进行抑菌试验,结果表明对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有较好抑菌效果。本研究根据现有文献报导,结合马铃薯微型薯生产中的实际问题,将中药材浓缩液按一定配比应用在脱毒试管苗的扩繁生产过程中,观察其对马铃薯脱毒试管

苗培养的作用效果,明确中药材浓缩液对马铃薯脱毒苗生长的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

供试马铃薯脱毒苗为富金、中薯5号,两个品种的脱毒苗从黑龙江省农业科学院克山分院马铃薯资源研究所引入。中药材浓缩液由本研究室采用甲醇冷浸提取法自行提取^[10-11]。

1.2 方法

1.2.1 脱毒苗接种方法 在马铃薯脱毒苗MS培养基中加入中药材浓缩液,共设5个浓度,分别为A1:5/1 000 mL、A2:10/1 000 mL、A3:15/1 000 mL、A4:20/1 000 mL、A5:25/1 000 mL、对照组(CK)不加中药材浓缩液,配制好的培养基分装到400 mL培养瓶中,于115℃条件下灭菌30 min备用,每处理配置30瓶用于接种组育苗。

1.2.2 脱毒试管苗生长及结薯状况 选用同一批次,长势相同的试管苗,在无菌条件下切成单节茎段,将15~20个茎段接种在培养瓶中,于同一条件下培养25 d左右。测定马铃薯脱毒试管苗叶片数、茎长、茎粗、茎节数、根长、根条数、鲜重、干重,再培养40~50 d观察试管薯个数,测定试管薯质量^[12-13]。与对照常规MS培养基脱毒苗进行比较,根据试管苗的生长状态确定壮苗效果及最佳浓缩液配制浓度。

1.2.3 马铃薯脱毒苗移栽成活率的测定 留取部分培养瓶培养25 d后,将试管苗在温室内炼苗10 d左右,温度过高时要覆盖遮阳网,防止高温萎蔫。然后将脱毒苗移栽到小营养盒中,测定移栽成活率。同时在练苗移栽过程中,调查培养瓶的杂菌污染情况。

收稿日期:2022-08-25

基金项目:牡丹江市指导性科技计划项目(SQ2020NS043)。

第一作者:赵云彤(1983—),女,硕士,助理研究员,从事经济作物育种与栽培技术研究。E-mail:zyt-37@163.com。

1.2.4 数据分析 试验数据采用 Excel 2012 计算并作图,DPS 7.05 进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度配比中药材浓缩液培养基对马铃薯脱毒苗成活率的影响

如图 1 所示,随着培养基中中药浓缩液浓度的不断增大,马铃薯脱毒苗成活率呈逐渐降低的趋势,培养基 A1 和 A2 处理的脱毒苗成活率与对照差异不显著,说明对马铃薯脱毒苗成活率无明显影响。培养基 A5 处理下富金脱毒苗的成活率为 88.0%(图 1A),中薯 5 号脱毒苗的成活率为 88.3%(图 1B),显著低于对照。根据长势观察分析,A5 培养基中马铃薯脱毒苗成活率下降主要与根系的生长发育有关。

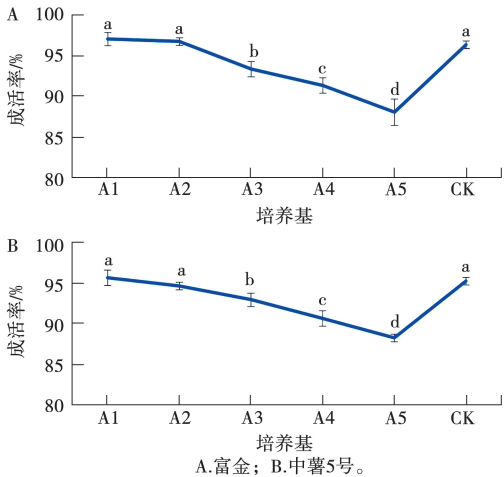


图 1 不同浓度配比中药材浓缩液培养基对马铃薯脱毒苗成活率的影响

注:不同小写字母代表不同处理间差异显著(P<0.05)。下同。

2.2 不同浓度配比中药材浓缩液培养基对马铃薯脱毒苗形态指标的影响

如表 1 和表 2 所示,接种培养 25 d 后马铃薯脱毒苗的株高随着培养基中浓缩液浓度的增大

逐渐降低,但是在 A1、A2、A3 浓度下,株高与对照的差异不显著,富金的脱毒苗株高最高为 9.6 cm,中薯 5 号的株高最高为 8.4 cm。在 A4、A5 浓度下,脱毒苗的株高显著变小,与对照相比差异显著。

当培养基中浓缩液浓度为 A3 时,两种脱毒苗的根长和根数达到最大值,富金的根长为 7.7 cm、根数为 3.8 条,中薯 5 号的根长为 7.4 cm、根数为 4.2 条。

添加适当中药材浓缩液可以增加马铃薯脱毒苗的茎节数,缩短茎节长度。富金在当培养基中浓缩液浓度为 A2、A3 时,茎节数最多。中薯 5 号在 A3、A4 浓度下,茎节数最多。

当培养基中浓缩液浓度为 A2 时,富金脱毒苗的单株叶片数最多,为 8.1 片,与对照差异显著。当浓缩液浓度为 A3 时,中薯 5 号脱毒苗的单株叶片数最多,为 8.2 片,与对照差异显著。

马铃薯脱毒苗在不同浓缩液浓度下,鲜重会产生差异。当培养基中浓缩液浓度为 A3 时,富金和中薯 5 号单株茎叶鲜重值均最大,分别为 0.34 和 0.38 g,与对照相比差异显著。在此条件下,富金脱毒苗干重与对照差异显著,中薯 5 号干重与对照差异不显著。当浓缩液浓度为 A5 时,两种脱毒苗茎叶鲜重值均为最小,可能与脱毒苗株高减小、根系变短有关。

各处理的叶绿素含量差异不显著。表明该浓缩液对试管苗叶绿素含量无影响。继续培养 40~50 d 当培养基中浓缩液浓度相对较低时,会增加结薯个数,当浓度较高时,会减少试管薯个数。在培养基中的浓缩液浓度为 A3 时,富金的单瓶结薯个数最多,为 16 个,中薯 5 号的单瓶结薯个数最多,为 22 个,与对照单薯重差异显著。当结薯个数最多时,试管薯的单薯重与对照相比减少,该浓度下两种脱毒试管薯的单薯重均为 0.14 g。

表 1 不同浓度配比中药材浓缩液培养基对富金脱毒苗形态指标的影响

培养基	株高/cm	根长/cm	单株根数/条	单株茎节数/节	茎节长度/cm	单株叶片数/片	单株茎叶鲜重/g	单株茎叶干重/mg	叶绿素含量	单瓶结薯数/个	单薯重/g
A1	9.6 a	6.7 c	3.6 b	6 a	1.60 a	7.2 b	0.26 b	17.6 b	32.55 a	14 b	0.16 a
A2	9.4 a	7.4 b	3.5 a	7 b	1.34 b	8.1 a	0.30 a	21.3 a	32.83 a	14 b	0.17 a
A3	9.2 a	7.7 a	3.8 a	7 b	1.31 b	8.0 a	0.34 a	22.3 a	32.74 a	16 a	0.14 b
A4	8.6 b	6.7 c	3.4 a	6 a	1.43 b	7.2 b	0.22 d	16.1 c	34.69 a	12 bc	0.14 b
A5	8.0 b	6.3 c	3.2 b	6 a	1.33 b	6.6 c	0.20 d	15.5 c	33.35 a	10 c	0.12 b
CK	9.4 a	7.1 b	3.7 a	6 a	1.57 a	7.3 b	0.28 b	18.4 b	33.56 a	13 b	0.16 a

注:不同小写字母代表不同处理间差异显著(P<0.05)。下同。

表 2 不同浓度配比中药材浓缩液培养基对 中薯 5 号脱毒苗形态指标的影响

培养基	株高/cm	根长/cm	单株根数/条	单株茎节数/节	茎节长度/cm	单株叶片数/片	单株茎叶鲜重/g	单株茎叶干重/mg	叶绿素含量	单瓶结薯数/个	单薯重/g
A1	8.4 a	6.6 b	4.3 a	6 a	1.40 a	7.2 b	0.34 b	23.3 a	34.10 a	17 b	0.17 a
A2	8.1 a	7.6 a	4.0 b	6 a	1.35 a	7.6 b	0.32 b	22.6 a	32.46 a	20 a	0.18 a
A3	8.0 a	7.4 a	4.2 a	7 b	1.23 b	8.2 a	0.38 a	24.2 a	33.14 a	22 a	0.14 b
A4	7.5 b	6.2 c	3.6 b	7 b	1.11 b	8.0 a	0.30 c	21.5 b	34.52 a	15 c	0.12 b
A5	7.2 b	5.9 c	3.8 b	6 a	1.21 b	7.2 b	0.26 c	19.7 b	33.24 a	14 c	0.13 b
CK	8.2 a	6.8 b	4.2 a	6 a	1.37 a	7.4 b	0.34 b	23.1 a	34.28 a	18 b	0.17 a

2.3 不同浓度配比中药材浓缩液培养基对马铃薯脱毒苗炼苗时间与菌落数的影响

从表 3 可以看出,随着炼苗天数的增加,各处理都表现出菌落数逐渐增多的趋势。在前 4 d 炼苗中各处理均无菌落出现,从第 5 天开始,对照组最先出现污染现象,对照培养基中富金和中薯 5 号脱毒苗的单瓶菌落数分别为 0.6 和 0.8 个。

表 3 不同浓度配比中药材浓缩液培养基对马铃薯脱毒苗不同炼苗时间下菌落数的影响

品种	培养基	单瓶菌落数/个							
		炼苗 2 d	炼苗 4 d	炼苗 5 d	炼苗 6 d	炼苗 7 d	炼苗 8 d	炼苗 9 d	炼苗 10 d
富金	A1	0	0	0	1.1	2.4	5.8	12.5	17.6
	A2	0	0	0	0	1.8	3.5	9.5	14.2
	A3	0	0	0	0	0.8	2.3	5.6	10.6
	A4	0	0	0	0	0	0.6	3.5	8.9
	A5	0	0	0	0	0	0.6	3.8	7.4
	CK	0	0	0.6	1.8	2.8	5.9	12.2	18.3
中薯 5 号	A1	0	0	0	1.4	2.9	6.6	10.4	17.2
	A2	0	0	0	0.6	2.1	3.6	8.7	14.1
	A3	0	0	0	0	0.9	1.6	4.9	10.8
	A4	0	0	0	0	0	0.8	4.2	9.8
	A5	0	0	0	0	0	0.5	3.8	8.6
	CK	0	0	0.8	1.6	3.1	6.8	11.8	17.6

2.4 不同浓度配比中药材浓缩液培养基对马铃薯脱毒苗移栽成活率的影响

由图 2 可以看出,培养基中的中药浓缩液浓度为 A2 时,脱毒苗富金的移栽成活率最高,为 91.0%,显著高于除 A3 外的其他处理(图 2A)。在 A3 浓度下,中薯 5 号的脱毒苗移栽成活率最高,为 92.5%,与 A2 处理差异不显著,显著高于其他处理(图 2B)。由此分析,添加适当的浓缩液可以提高试管苗移栽成活率,这主要与脱毒苗的茎叶数增加、鲜重增大、根条数增多有密不可分的关系。同时在炼苗过程中,杂菌污染数的减少也会对脱毒苗成活率有所促进。

而添加中药材的培养瓶中,随着浓缩液浓度的增大,出现菌落的时间会后延。当培养基中的浓缩液浓度为 A4、A5 时,两种脱毒苗均从第 8 天才开始出现污染现象。第 10 天时,培养基中的浓缩液浓度为 A3、A4、A5 条件下,培养瓶中的菌落数(7.4~10.8 个)明显少于对照组(17.6 和 18.3 个)。

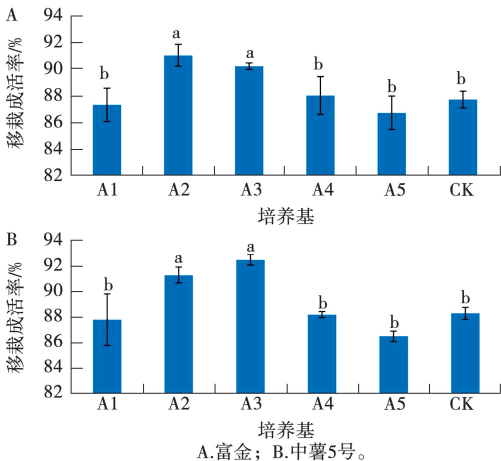


图 2 不同浓度配比中药材浓缩液培养基对马铃薯脱毒苗移栽成活率的影响

3 讨论

本研究通过在培养基中加入不同浓度的中药材浓缩液,明确中药材浓缩液对马铃薯脱毒苗的壮苗效果。结果表明当中药材浓缩液在培养基中浓度过大,会降低马铃薯脱毒试管苗的成活率,当培养基中浓缩液浓度小于 15/1 000 mL 时,对脱毒苗成活率无影响。当中药材浓缩液浓度为 15/1 000 mL 时,能有效增加两种马铃薯脱毒苗的根长、根条数,并且此时脱毒苗的叶片数、茎节数、试管薯个数与对照相比差异显著。黄芩等^[14]研究表明在马铃薯组织培养时可以添加 2,4-D、NAA、激动素等不同浓度的生长调节剂,因为这些物质对马铃薯组培苗的生长有促进作用,能够增加根长、根粗、株高和叶片数等。本研究中的药材浓缩液与这些植物生长调节剂有相同的作用,但是其使用浓度要远高于它们,其作用机理有待进一步研究。

前人将马铃薯脱毒苗培养基中加入抑菌剂和防腐剂等物质,对组培苗的污染起到了较好的抑制效果^[15-16]。本研究在脱毒苗炼苗过程中发现,添加中药材浓缩液可延缓脱毒苗被杂菌污染的时间,当对照组炼苗 5 d 出现杂菌污染时,试验处理最高可达到 7~8 d 出现可见杂菌。这表明,适宜浓度的中药材浓缩液对细菌、真菌有一定的抑制作用,可以降低炼苗过程中杂菌对脱毒苗的影响,提高脱毒苗成活率。在染菌的情况下,添加中药材浓缩液可明显减少杂菌菌落数量。培养 10 d 后,富金和中薯 5 号在中药材浓缩液浓度为 A3、A4、A5 培养基条件下,单瓶菌落数较未加中药材浓缩液培养基少 10 个左右。这表明中药材浓缩液含有效的抑菌成分,可作为植物源抑菌剂替代化学抑菌剂、防腐剂防治细菌或真菌。但是中药材浓缩液只能延缓杂菌污染时间,不能完全控制杂菌的污染,这主要是由于植物源杀菌剂持效期短,强度较化学药剂小。因此,研制出有效成分含量高、性质稳定、成本低见效快的植物源杀菌剂是今后研究的重要方向^[17]。

4 结论

当培养基中药材浓缩液浓度为 15/1 000 mL 时,可增加两种马铃薯脱毒苗的根长、根条数,且此时脱毒苗的叶片数、茎节数、植株鲜重和试管薯结薯个数均较对照显著增加。培养基中加入中药材浓缩液,在脱毒苗炼苗过程中,能有效减少杂菌菌落数,延长炼苗时间,使马铃薯脱毒苗移栽成活率提高 3.0%~4.5%。

参考文献:

- [1] 王桂. 脱毒马铃薯组织培养技术的优化研究[J]. 农业技术与装备, 2021(10): 167-170.
- [2] 代欣玉, 孙璐. 植物组织培养技术在马铃薯上的应用[J]. 中国果菜, 2020(12): 67-69.
- [3] 齐恩芳. 抗菌素控制马铃薯脱毒试管苗细菌污染的研究[J]. 甘肃科技, 2002(7): 85-87.
- [4] 王春. 医用抗生素在马铃薯组织培养中的抑菌效应研究[J]. 甘肃农业科技, 2004(10): 15-16.
- [5] 何昆, 罗宽. 中草药萃取液对植物病原真菌、细菌的抑制作用[J]. 湖南农业科学, 2003(1): 43-45.
- [6] 张应格, 尹彩萍. 15 种中药提取物对几种植物病原菌抑菌活性的初步研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2005; 33(8): 175-177.
- [7] 毕亚玲, 王波, 黄保宏, 等. 两种中药提取物的抑菌活性研究[J]. 黑龙江农业科学, 2011(7): 116-119.
- [8] 陈桂平, 付戴波, 钟志勇, 等. 中药不同提取物的抑菌活性及最优组方研究[J]. 江西畜牧兽医杂志, 2021(3): 21-23.
- [9] 王丽娜, 冯紫艳. 三种中药提取物的体外抑菌及稳定性研究[J]. 许昌学院学报, 2022(3): 65-67.
- [10] 严希, 田山君, 裴芸, 等. 几种中药提取液对番茄病害病原真菌的抑制效果[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(20): 129-132.
- [11] 廖金梅, 邓业成, 邓志勇, 等. 23 种植物提取物的抑菌活性研究[J]. 河南农业科学, 2022, 51(5): 84-95.
- [12] 刘臻峰. MS 培养基和钙浓度对马铃薯脱毒试管苗和试管薯生长的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- [13] 李婷婷. 马铃薯开放式组织培养条件优化研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2017.
- [14] 黄芩, 任盼盼. 不同培养基及生长调节剂对马铃薯组培苗的影响[J]. 西藏农业科技, 2022(1): 28-33.
- [15] 宿飞飞, 吕典秋, 邱彩玲, 等. 马铃薯脱毒试管苗快繁中污染抑菌剂的筛选[J]. 中国马铃薯, 2010, 24(6): 330-335.
- [16] 杨晨. 两种防腐剂在马铃薯脱毒试管苗快繁中的抑菌效果[J]. 甘肃农业科技, 2012(2): 12-13.
- [17] 李晓菲, 徐政. 植物源杀菌剂研究进展[J]. 南方农业, 2018, 12(13): 40-45.



张凯泉,崔艳.盐胁迫对两种月季生理指标的影响[J].黑龙江农业科学,2022(11):45-50.

盐胁迫对两种月季生理指标的影响

张凯泉¹,崔艳^{1,2}

(1.南阳师范学院 生命科学与农业工程学院,河南 南阳 473061; 2.河南省月季种质创新和栽培技术工程研究中心,河南 南阳 473061)

摘要:为探究不同月季品种对盐溶液的生理响应,以两个月季品种“法兰西”和“红宝石”的二年生栽培苗为材料进行盆栽试验,采用0‰、2‰、4‰和6‰浓度梯度的NaCl溶液进行盐胁迫,测定和分析叶片相对含水量、叶绿素含量、叶片水势、相对电导率、丙二醛含量、脯氨酸含量、蒸腾速率、净光合速率、胞间二氧化碳浓度、气孔导度等生理指标。结果表明,“红宝石”的叶片相对含水量随盐浓度的增加先下降再上升再下降,在4‰盐浓度时,叶片相对含水量都有回升的趋势,“红宝石”和“法兰西”在4‰盐浓度时都有较强的保水能力。且两者的叶片叶绿素含量随盐浓度增加逐渐减小,“法兰西”的叶绿素含量各浓度间差异不显著,“红宝石”的叶绿素含量在6‰浓度时和CK差异显著。两者叶片水势先升高后降低,“红宝石”水势变化趋势大于“法兰西”。两者的叶片相对电导率、丙二醛和脯氨酸大体呈上升趋势,气孔导度、蒸腾速率随盐浓度增大而呈降低趋势,净光合速率和胞间二氧化碳浓度随盐浓度增大呈先下降后上升的趋势。

关键词:盐胁迫;月季;生理指标

盐胁迫会影响植物的形态特征和生理特性。研究表明,随盐浓度升高,植物生长变得缓慢,植

株矮小^[1]。盐胁迫会破坏叶绿体结构,使叶绿素含量降低,导致光合能力下降,生物量减小^[2]。植物为了应对胁迫环境,会积累脯氨酸等渗透调节物质以避免膜系统遭到破坏,保持酶结构的稳定性^[3]。丙二醛含量和相对电导率可反映植物在逆境环境下细胞膜系统的受损程度^[4-5],是衡量植物逆境胁迫的重要生理指标。气孔导度表示气孔张开的程度,研究表明,盐胁迫下气孔导度降低,导致CO₂向叶绿体运输减少,降低植物的光合效率^[5]。

收稿日期:2022-08-01

基金项目:南阳师范学院博士专项(ZX2011010);南阳师范学院STP项目(2019STP009);河南省研究生教育改革与质量提升工程(YJS2021JD17)。

第一作者:张凯泉(1998—)男,本科生,专业方向为生物科学。E-mail:569914034@qq.com。

通信作者:崔艳(1978—),女,博士,讲师,从事植物生理生态学研究。E-mail:6683355@qq.com。

Application of Concentrated Liquid of Chinese Herbal in The Culture of Virus-free Potato Seedlings

ZHAO Yun-tong, XIE Guo-qing, FAN Shu-hua, WANG Yan, ZHANG Li-wei, HUA Yu-chen, SHI Xin-rui, DONG Qing-shan

(Mudanjiang Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang 157041, China)

Abstract:In order to improve the culture medium of potato virus-free seedlings, Fujin and Zhongshu No. 5 potato virus-free seedlings were used as test materials, and the concentrated liquid of Chinese herbal medicine was applied to the culture medium of potato virus-free seedlings to determine the effect of the concentrated liquid of Chinese herbal medicine on the growth of potato virus-free seedlings. The results showed that the addition of appropriate concentration of Chinese herbal medicine concentrate could increase the root length, leaf number and stem node number of potato virus-free seedlings, and shorten the stem node length. The fresh weight, number of tubers per bottle and the transplanting survival rate of virus-free test-tube seedlings were improved. Compared with the control, the root length of virus-free potato seedlings increased by 0.6 cm, the number of leaves increased by 0.7-0.8 leaves, the number of stem nodes increased by 1 node, the length of stem node was shortened by 0.14-0.26 cm, and the fresh weight of stem and leaf per plant of virus-free test tube plantlet increased by 0.04-0.06 g, and the number of virus-free mini tubers increased by 3-4 tubers per bottle. The survival rate of transplanting could be increased by 3.0%-4.5%. Moreover, after adding the concentrated liquid of Chinese herbal medicine, the pollution of fungi can be reduced and the time of hardening seedlings can be prolonged 3-4 days in the process of hardening seedlings.

Keywords:Chinese medicine concentrated liquid;potato virus-free plantlets;medium