

山楂离体快繁三种增殖方式评优研究

任 杰¹, 魏 鹏¹, 吴建华²

(1. 宁夏职业技术学院 生物工程系 宁夏 银川 750002; 2. 宁夏林业研究所, 宁夏 银川 750002)

摘 要: 山楂离体繁殖时可通过愈伤组织分化不定芽、主茎干中部节产生分枝、母株顶芽伸长 3 种方式继代增殖, 增殖芽质量显著影响试管苗根系发育状况, 将试管苗当代增殖系数与继代生根培养时生根率的乘积设为增殖效果。用特征值增殖效果评优 3 种增殖方式, 得出主茎干产生分枝增殖效果为 3.617, 显著高于方式 1 的 2.337 与方式 3 的 2.611。研究对山楂优良种苗离体快繁实践生产具有指导意义。

关键词: 增殖方式; 增殖效果; 山楂; 微繁

中图分类号: S 661.503.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)09-0055-03

山楂(*Crateagus pinnatifida*)属落叶乔木, 对自然条件要求不严, 适应性较强, 是现代园林绿化的良好树种。楂果有食用、药用 2 种用途, 果实中红色素和果胶的含量居各类水果之首, 维生素和矿物质含量仅次于鲜枣与猕猴桃; 山楂各大器官中均含有抗氧化的有效成分黄酮类物质^[1], 治疗心血管疾病极佳。

目前山楂多以种子繁殖为主, 但山楂种子休眠期太长, 播种后需经 2 个冬季层积才能萌发, 虽有多名学者对山楂种子萌发的机制、快速萌发的物理化学处理方式做了探讨^[2], 但迫于烦琐程度与市场需求即时性, 利用植物离体快繁技术繁殖山楂优良种苗尚未见报道。现对山楂试管苗继代增殖技术做了深入研究, 以期为规模化生产山楂种苗提供行之有效的技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料简介

材料购置于宁夏林业研究所种苗生物工程国家重点实验室, 已继代 6 次, 试管苗生长发育已稳定均一。材料属山楂优良早熟品种伏里红, 该品种果实小, 近圆形或扁圆形, 平均单果重 4.7 g, 果肉粉红、略黄、质细, 风味酸甜、略苦, 7 月下旬成熟。

1.2 试验方法

第一作者简介: 任杰(1962-), 女, 银川市人, 硕士, 副教授, 现主要从事植物组织培养与设施园艺方向研究工作。E-mail: rj666666@126.com。
通讯作者: 魏鹏(1981-), 男, 硕士, 助教, 现主要从事植物组织培养与植物生理生态方向研究工作。
基金项目: 国家师范性高等职业院校建设资助项目(2007-04-01)。
收稿日期: 2009-04-20

Study on the Effect of Bagged Cultivation on Fruit Quality of Red Fuji Apples

LIANG Zhi-hong¹, HUANG Yu-long²

(1. Institute of Agricultural Economy and Information, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. Institute of Agricultural Products Storage and Processing, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: In this paper, taking Changfu 2 for material which collected from three apple-producing areas of Gansu Province, we determined and compared fruit quality and content of fruit inclusion in the fruits of harvest time, as well as the determined and observed the quality during storage, and studied on the effect of bagged cultivation on fruit quality of red fuji apples. The results showed that bagging can lead to the determination value decreased of quality index that single fruit weight, fruit flesh firmness and content of soluble solids weight of Red Fuji apple; after bagged, a slight increase in content of fruits moisture, loss of organic acids and total soluble sugar, a slight decrease in ratio of sugar and acid, and loss of more serious vitamin C, calcium and borum. The underlying trend of the fruit quality changes during storage not affected that bagged or not does, but the bagged fruit in more loss water during storage, taste and flavor less than control. The results indicated that bagging cultivation was negative of fruit development quality and post-harvest storage of Fuji apple.

Key words: Fruit bagging; Red fuji; Changfu 2; Quality

1.2.1 试验设计 试验探索发现山楂试管苗主要通过3种方式增殖: (1)器官型(Organ type): 也称丛生芽增殖型 主要表现单芽段切口长愈伤组织, 从愈伤组织诱导出大量不定芽形成丛状 配方为: MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L。 (2)茎切段 1 个继代周期后形成明显的主茎干, 从顶端往下约 1/3 处长出分枝, 配方为MS+IAA 0.5 mg/L+6-BA 0.5 mg/L。 (3)微枝扦插型(Minicutting type): 主要特点以带芽茎切段为繁殖单位, 在试管内生根的同时通过植株节间的伸长增殖, 配方为 1/2MS+IBA 1.0 mg/L+GA₃0.04 mg/L。 山楂试管内生根较为困难, 继代增殖时芽的质量包括叶片的颜色、大小、芽的长度对生根培养时根系发育质量、生根率等影响较大, 试验需对继代苗进行标准化选择或复壮。 现将继代增殖时试管苗的增殖系数与生根培养时试管苗生根率 2 项指标统筹考虑, 比较 3 种增殖方式的优劣。

1.2.2 材料要求与培养条件 试验材料均取自生长在配方 MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L 中的试管苗, 剪切选择带顶芽的茎切段, 要求茎切段长 1.4 cm 左右, 上面至少着生 1 片完全展开的叶片。 试验分 2 步, 接入上述 3 种增殖处理配方, 比较各配方试管苗的增殖系数与增殖芽的质量; 第 2 步, 将 3 类增殖芽转入生根配方 1/2MS+IBA 1.0 mg/L, 通过根系发育质量、生根率等指标间接比较增殖芽的质量, 生根培养时材料形态要求与增殖培养相同。 以上培养基无说明均附加 30 g/L 蔗糖,

4.2 g/L 琼脂粉, pH 6.0, 0.11 Mpa 与 121 ℃下灭菌 15 min。 培养容器均选用 150 mL 三角瓶, 用 12 cm×12 cm 透气膜(北京振泰设施园艺有限公司生产)每瓶接 4 株, 每个处理重复 3 次, 每次 8 瓶。 试管苗处理之间随机摆放, 培养温度为 (25±2) ℃, 光照周期 16 h/d, 光照强度 40 μmol·m⁻²s⁻¹。

1.2.3 测量指标与方法 由于增殖方式 1 通过不定芽增殖, 方式 2 通过腋芽分枝增殖, 这 2 种统称为增殖芽, 方式 3 无新生芽产生, 通过增加株高、伸长植株节间增殖, 试验中仅统计增殖系数, 其它指标不做测量; 整个增殖试管苗 28 d 后开始测量, 测量指标与方法如下: 增殖芽的个数; 增殖芽长度, 摘去着生的叶片后用直尺量; 增殖芽的展叶数, 以叶片完全展开、扁平为标志; 展开叶片的面积, 测量时先用扫描仪扫描叶片, 形成图片, 然后用 Scion Image 软件计算; 愈伤组织的重量; 增殖系数, 方式 1 中以不定芽的个数且芽长度大于 1.4 cm 计算, 方式 2 中以腋芽分枝个数且芽长度大于 1.4 cm 计算, 方式 3 中以整个株高与 1.4 cm 带腋芽茎段比值计算。 以上指标均测量 3~5 次, 取平均值。 肉眼观察展开叶片的颜色、愈伤组织的颜色。 试管苗生根培养 35 d 后开始测量, 指标包括: 生根率/ 配方; 根重/ 重; 生根数/ 株; 根长/ 株; 有无侧根等。

1.2.4 数据处理 利用 SPSS13.0 软件对测量数据统计分析, Excel 2007 结合 Origin7.5 制表图。

表 1 3 种增殖方式试管苗增殖芽质量与数量比较

增殖方式	增殖芽长度/ cm	展叶数/ 片	叶片颜色	叶片面积/ cm ²	愈伤组织颜色	愈伤组织重量/ g	增殖系数
1	3.26	1.43	淡黄部分发白	0.436	上部白嫩 下部老化	1.7821	4.564
2	2.89	2.45	正常绿色	0.892	上部白嫩 下部老化	0.9413	4.046
3	—	—	—	—	无	—	2.758

注 增殖方式 3 通过顶芽生长增殖 无不定芽的产生 表中“—”表示不存在

2 结果与分析

2.1 3 种增殖方式试管苗增殖芽质量与数量比较

如表 1 所示, 3 种增殖方式山楂试管苗生长表现差异较大。 方式 1 试管苗增殖系数最高, 达 4.5 以上, 基部愈伤组织块较大, 分化出不定芽的个数较多, 芽上着生的叶片多卷曲, 且呈淡黄色; 方式 2 通过增加茎干分枝数达到增殖目的, 由表 1 可得方式 2 增殖系数低于方式 1, 但综合展叶数、叶片颜色、叶片面积等指标, 方式 2 增殖芽的质量要优于方式 1; 方式 3 能过茎干伸长增殖, 增殖系数为 2.758, 明显低于前 2 种增殖方式。

2.2 3 类继代增殖苗生根质量比较

试管苗生根质量与培养基组分、上代继代分化苗质量密切相关, 当生根培养基确定时继代增殖苗的生长质量如叶片大小、叶片展平程度等决定试管苗根系发育状况。

将少量 3 种增殖方式的继代苗转接于培养基 1/2 MS+IBA 1.0 mg/L 中, 1 个周期后试管苗分化出根原

基, 16 d 后根的形态生长特别稳定。 统计发现方式 3 的分化苗生根率最高, 高达 94% 以上, 方式 2 次之, 相对于方式 1、2 分化苗, 方式 3 生根数、根长、侧根发育也具明显优势; 方式 1 生根率最低, 与方式 3 相差 40% 多, 生根数、根长也显著低于方式 3, 总结表 2 可得生长在 1/2 MS+IBA 1.0 mg/L+GA₃0.04 mg/L 试管苗茎尖切段最利于生根。

表 2 3 类继代分化苗生根质量相互比较

继代苗来源	生根率/ %	生根数/ 条·株 ⁻¹	根长/ cm·株 ⁻¹	有无侧根
1	51.2b	4.31b	0.94b	无
2	89.4a	4.26b	1.29ab	无
3	94.7a	4.48a	1.54a	有少量

2.3 3 类继代增殖方式增殖效果优劣比较

表 2 中试管苗的根系发育质量侧面反映了继代分化苗的生长质量, 结合表 3 试管苗增殖系数数量指标综合考察 3 种增殖方式的优劣。

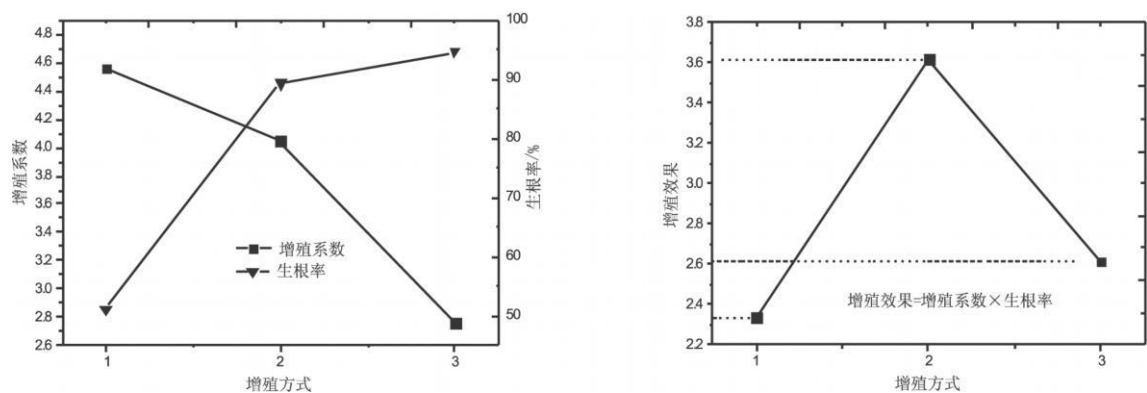


图 1 3 种增殖方式试管苗增殖效果比较

如图 1 所示, 设增殖效果等于增殖系数与生根率的乘积。增殖方式 2 试管苗增殖系数与生根率均居中, 但试管苗增殖效果明显优于增殖方式 1 与 3, 因此综合考虑试管苗增殖的数量与质量认为, 通过主茎干产生分枝达到大量快繁的目的效果较佳。

3 结论与讨论

实际生产中对于难生根植物往往需对继代分化苗进行筛选或复壮^[34], 这无疑增加了组培快繁的成本与工序, 因此如何缩减这一中间环节培育高质量的继代增殖苗、高效运用组培快繁技术尤为重要, 尤其是针对难快繁的经济木本植物。

继代分化苗茎长、叶片内含物等影响试管苗生根已有诸多报道^[56], 试管苗的生根状况与继代苗的生长质量密切相关, 该试验中生根率较高的山楂试管苗源自叶片展开良好、叶色正常的继代苗也验证了该结论, 基于此将山楂试管苗的生根率作为考察上代分化苗的质量借以评价试管苗增殖方式的优劣是合理的, 并以数量指标增殖系数与质量性指标生根率相结合评比试管苗增

殖效果是属创新。

山楂作为一种重要的资源植物, 用离体快繁技术大规模生产未来将成必然。该试验得出利用山楂试管苗茎干中间节部位产生分枝达到增殖的目的, 试管苗增殖系数较高, 增殖芽长度、着生叶片颜色、面积均较优, 统筹了继代分化苗的数量与质量, 这在实际种苗生产中具有重要的指导意义。

参考文献

[1] 许瑞波, 赵跃强, 鲁升丽, 等. 山楂叶黄酮的超声提取、精制及抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发, 2007(4): 64-69.
[2] 丛磊, 刘燕. 几种山楂种子的快速萌发研究[J]. 种子, 2004(8): 45-48.
[3] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2001: 57-60.
[4] Bhatia N P, Bhatia P, Ashwath N. Ex vitro rooting of micropropagated shoots of Stackhousia Tryoni[J]. Biologia Plantarum, 2003(3): 441-444.
[5] 王天慧, 王文杰, 董凤丽. 影响喜树组织培养苗离体生根的因素[J]. 植物学通报, 2004(6): 673-681.
[6] Goncalves S, Correia P J, Martins M A, et al. A new medium formulation for in vitro rooting of carob tree based on leaf macronutrients concentrations[J]. Biological plantarum, 2005(2): 277-280.

Comparison and Appraisal of Three Proliferating Manners on Rapid Propagation of *Crateagus pinnatifida* in vitro

REN Jie¹, WEI Peng¹, WU Jian-hua²

(1. The Bio-engineing Department of Ningxia Professional and Technical College Yinchuan, Ningxia 750002, China; 2. Ningxia Forestry Research Institute Yinchuan, Ningxia 750002, China)

Abstract: *Crateagus pinnatifid* can proliferate in virtue of three measures *in vitro*, induction of adventitious buds through callus, branches grown out from mid internode of primary plantlet stem and apex buds elongation of maternal plant, the quality of proliferous bud affect the rooting quality remarkably, suppose that proliferating result equals product of two measuring index; proliferating coefficient and rooting rate. Use eigenvalue of proliferating result to compare and appraise the three manners. Gain that the proliferating result of second manner was 3.617 which was significant higher than first manner 2.337 and third manner 2.611. This research had significant guidance in practical production of *Crateagus pinnatifid*.

Key words: Proliferating manner; Proliferating result; *Crateagus pinnatifid*; Micropropagation