

DOI:10.11937/bfyy.201505030

# 黑果腺肋花楸组织培养和快繁体系的优化研究

刘 青, 刘 颖, 李冬杰, 闫素红, 张冠华, 魏景芳

(河北科技大学 生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050000)

**摘 要:**以黑果腺肋花楸带芽茎段为试验材料,采用组织培养的方法,研究不同激素含量和配比对其组织培养和快速繁殖的影响。结果表明:茎段在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基上诱导芽最快最好,KT 能诱导愈伤组织,但对试管苗的芽诱导无明显影响;在 MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L 培养基上继代 1 次,增殖系数就能达 6 倍以上;生根培养基 1/2MS+IBA 0.5 mg/L 效果最好,生根率近 100%;移栽基质以草炭土:营养土:蛭石=1:2:1 的基质中最好,成活率达 100%。

**关键词:**黑果腺肋花楸;组织培养;优化;快速繁殖

**中图分类号:**S 687.603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0096-04

黑果腺肋花楸(*Aronia melanocarpa*)属蔷薇科腺肋花楸属落叶灌木。树高 1.5~3.0 m。羽状单叶,复伞状花序,入秋叶色变红,抗旱抗病耐寒。浆果,果实为紫黑色球形,直径 1.5 cm 左右。根系属浅根性,水平根发达<sup>[1]</sup>。该树种在欧美和东亚地区园林绿化方面应用广泛。黑果腺肋花楸果实中的花青素和黄酮能够维持人的心脏和机体的健康,多酚类物质能够抑制人体内低密度蛋白和脂质体的氧化,对于预防心脏疾病和癌症、保持人体健康具有显著效果<sup>[2-3]</sup>。由其果实加工的药品、保健饮料和食品在市场上非常普及和流行<sup>[4]</sup>。因此,为满足庞大的市场需求,需要对其进行大规模的栽培。目前,有关其组织培养的研究已有报道,但仍有不少问题需深入研究<sup>[5-8]</sup>。该试验主要对黑果腺肋花楸组织培养和快速繁殖体系的进行了一系列的优化研究,以期整体提高组培的效率,实现其长期工厂化快速繁育的目的。

**第一作者简介:**刘青(1989-),女,河北石家庄人,硕士研究生,研究方向为生物工程。E-mail:906459401@qq.com.

**责任作者:**魏景芳(1957-),男,河北沧州人,博士,教授,现主要从事植物细胞工程等教学与科研工作。E-mail:wjfang@126.com.

**基金项目:**河北省科技厅资助项目(14230910D)。

**收稿日期:**2014-11-10

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料采集于河北科技大学生物科学与工程学院植物组织培养实验室苗圃基地,以含有 1~2 个芽眼的黑果腺肋花楸 2 cm 幼嫩茎段为外植体。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体处理** 取 2 cm 带顶芽或腋芽的幼嫩茎段用流水冲洗 60 min,75%酒精浸泡消毒 40 s,0.1%升汞溶液消毒 4 min,无菌水冲洗 4~5 次,用滤纸吸去水分,将消毒后的外植体接种于不同的培养基上。每瓶接种 4 个茎段,每个编号接种 20 瓶,培养基中蔗糖浓度为 3%,琼脂浓度为 0.8%,pH 5.8。培养温度(25±2)℃,光照时间 10 h/d,光照强度 1 700 lx 左右。

**1.2.2 培养基配方** 试验所用培养基的具体配方见表 1。

**1.2.3 练苗** 当生根苗长至 5 cm 时,置于温室中逐渐揭去瓶盖练苗 4 d。然后用镊子将苗取出用流水洗去根部培养基。再用稀释 800 倍的多菌灵溶液浸过后,然后栽入苗床上,苗床基质分 4 个处理:营养土、草炭土、草炭土+营养土+蛭石(1:2:1)以及营养土+蛭石(2:1),定期浇以营养液,观察黑果腺肋花楸的生长状况,统计其成活率,并进行比较。

**Abstract:** The regenerations of *Nandina domestica* was investigated by using *in vitro* stem sections by the orthogonal experimental design. Stem sections were cultured on different basic medium supplemented different concentrations of benzyladenine (BA) in combination with different concentrations of  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid (NAA) and sugar, the experiment was to select the optimum combination, to improve callus formation. The results showed significant differences in the percentage of callus formation were observed among the basic medium, sugar, BA and NAA. The highest percentage of callus formation (74.4%) was obtained on MS medium with 1.0 mg/L BA, 0.2 mg/L NAA and 20 g/L sugar.

**Keywords:** *Nandina domestica* Thunb.; *in vitro*; primary culture; the orthogonal experimental design; the percentage of induction

表 1 培养基配方

Table 1 Medium formula

编号 Number	基本培养基 The basic culture medium	IBA /(mg · L <sup>-1</sup> )	NAA /(mg · L <sup>-1</sup> )	KT /(mg · L <sup>-1</sup> )	6-BA /(mg · L <sup>-1</sup> )
A1	MS			0.2	0.5
A2	MS			0.5	0.5
A3	MS		0.2		0.5
A4	MS		0.5		0.5
B1	MS	0.2			0.2
B2	MS	0.2			0.5
B3	MS	0.2			1.0
B4	MS	0.5			0.2
B5	MS	0.5			0.5
B6	MS	0.5			1.0
C1	1/2MS	0.2			
C2	1/2MS	0.5			
C3	1/2MS	0.8			
C4	1/2MS		0.2		
C5	1/2MS		0.5		
C6	1/2MS		0.8		

1.3 项目测定

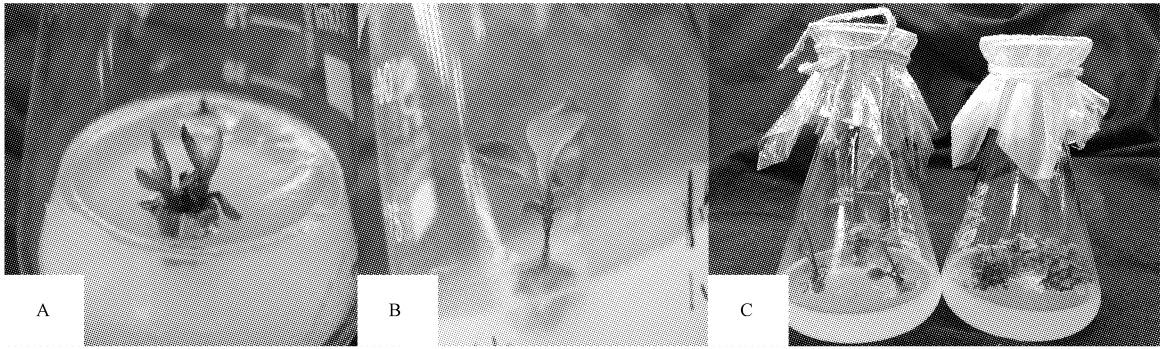
观测组培苗的生长、叶片边缘颜色变化、丛生芽增

殖、根的萌发及生长状况,20 d 后,统计分析株高、增殖系数、生根率、根长等<sup>[4-5]</sup>。

2 结果与分析

2.1 外植体芽诱导优化培养

外植体茎段接于芽诱导培养基上培养 5 d 左右顶芽萌发,10 d 左右,在 A1、A2、A3、A4 号培养基中均有侧芽萌发并逐渐伸长生长,15 d 左右在 A1、A2 号培养基中茎段基部开始逐渐膨大,形成深绿色致密的愈伤组织,茎段和叶片无明显生长,如图 1A、B 所示。30 d 左右,在 A3 号培养基中基部形成丛生芽小但数量多,如图 1C 右所示,在 A4 号培养基中试管苗生长旺盛但丛生芽数量少,如图 1C 左所示。而 A1、A2 号培养基中的组培苗叶片颜色边缘变红,茎段基部愈伤组织生长迅速,无从生芽长出。说明 KT 能诱导愈伤组织但对试管苗的芽诱导无明显影响。综上所述,用 A3 号培养基进行诱导培养较为理想,一般在 30 d 即能诱导出丛生芽。



注:A,A1 培养基;B,A2 培养基;C,左为 A4 培养基,右为 A3 培养基。

Note:A,A1 culture medium;B,A2 culture medium;C,left A4 culture medium,right A3 culture medium.

图 1 外植体芽诱导优化培养

Fig. 1 Optimized culture on of test-tube plantlet

2.2 试管苗增殖优化培养

切取 1 cm 长诱导的单苗转接于增殖培养基上,观察试管苗的生长情况,比较 6-BA、IBA 相对浓度对试管苗增殖生长的影响。结果表明,在增殖培养基上接种的茎段约 7 d 茎尖伸长,长出小叶片,茎段腋芽萌发,15 d 后,茎段长至 1.5 cm,茎基部产生绿色愈伤组织,并出现许多芽苞;20 d 以后产生不定芽并逐渐形成丛生芽,随后分化出苗。由表 2 可知,试管苗的增殖主要受 6-BA 与 IBA 相对浓度的影响。6-BA 与 IBA 相对浓度越大芽分化率越大芽分化数越多,但新苗长势较矮。在培养基 B4、B5、B6 中即 IBA 相对浓度大时会诱导生根,但增殖系数偏低,不适于试管苗增殖培养。在培养基 B3 中,丛生芽的增殖系数最高,继代 20 d 后,平均每个带芽茎段可产芽 6.22 个,但苗长势差、弱小,并出现玻璃化现象;在培养基 B2 即 6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L 中增殖

表 2 不同激素浓度对试管苗增殖的影响

Table 2 Effect of different hormone concentrations on proliferation of test-tube plantlet

处理 Treatment	增殖系数 Propagation coefficient	株高 Plant height/cm	生长状况 Growth status
B1	3.61a	1.43a	分化出苗,壮,矮
B2	5.87a	3.88b	分化出苗,壮
B3	6.22b	4.02b	分化出苗,壮
B4	2.04c	2.03b	分化出苗,已生根
B5	2.84b	4.02a	分化出苗,已生根
B6	3.62b	4.12a	分化出苗,已生根

效果较好,如图 2B 所示,此时芽全部分化,单芽茎段平均分化芽数 5.87 个。虽然培养基 B2 增殖效果略低于培养基 B3,但丛生苗的高度适中,健壮,适宜生根培养;培养基 B1 苗长势好、健壮,但增殖率低,单芽茎段平均分化芽数 3.61 个,不适合快繁体系。综上所述,培养基 B2 的增殖效果好于其它组合。





注:A,B1 培养基;B,B2 培养基。

Note:A,B1 culture medium;B,B2 culture medium.

图 2 试管苗增殖优化培养

Fig. 2 Optimized culture on proliferation of test-tube plantlet

### 2.3 诱导生根优化培养

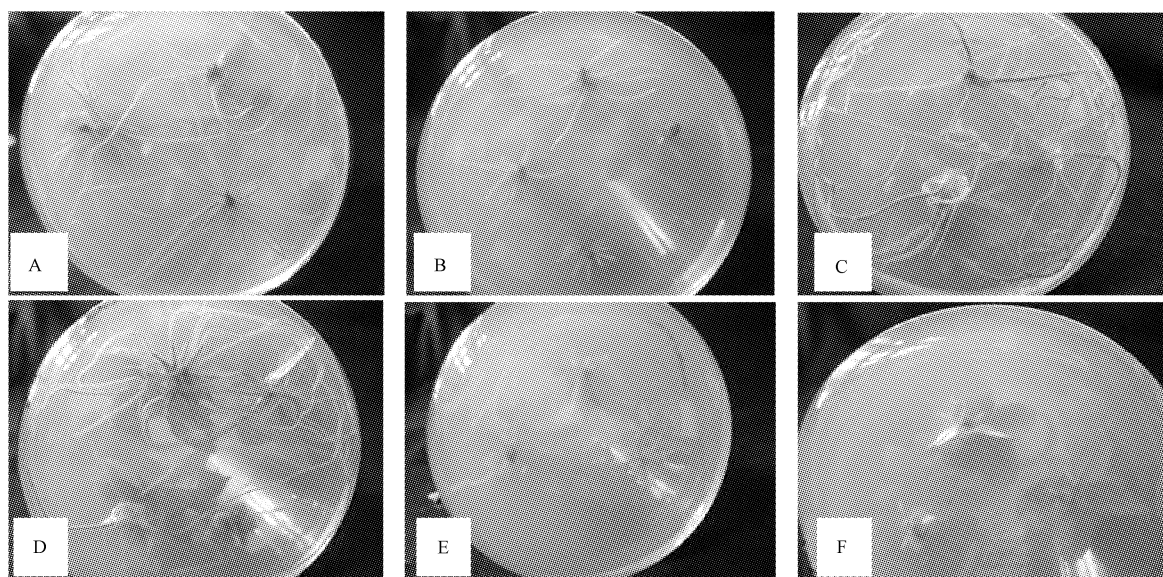
在无菌状态下,选择健壮,长势相似的分化苗接种于不同生根培养基中进行生根培养,最快 7 d 可见根长出,20 d 左右根长可达 2.5 cm,根数最多可达 7 条,单芽长高变大,长成苗。从表 3 可以看出,适宜浓度的 IBA 和 NAA 均有利于诱导生根,但整体来说 IBA 的效果优于 NAA。添加 NAA 的培养基,生根培养基 C1 生根速度最快,但生根率较低,并且根颜色偏白,如图 3A 所示,脆弱易断;培养基 C3 生根速度较慢,如图 3B 所示,根粗短,生根率低。培养基 C2 生根效果最好,生根率达 94.6%,根多而长,并且粗细适中,生根速度较快,如图 3C 所示,有的根颜色成熟变红而非其它培养基中的嫩白色根;C3、C4、C5 培养基相对于添加 IBA 的培养基生根

较晚,生根率低,根粗短。综上所述,培养基 C2 的诱导生根效果优于其它生根培养基。

表 3 不同激素浓度对试管苗生根的影响

Table 3 Effect of different hormone concentrations on rooting of test-tube plantlet

处理 Treatment	生根时间 The rooting time/d	平均生根数 Average rooting number/条	生根率 The rooting rate/%
C1	5	5.92a	87.3a
C2	6	6.51b	94.6b
C3	10	3.68a	85.7b
C4	10	4.13a	80.8b
C5	12	5.23b	90.6a
C6	18	2.87c	82.6c



注:A,C1 培养基;B,C4 培养基;C,C2 培养基;D,C5 培养基;E,C3 培养基;F,C6 培养基。

Note:A,C1 culture medium;B,C4 culture medium;C,C2 culture medium;D,C5 culture medium;E,C3 culture medium;F,C6 culture medium.

图 3 诱导生根优化培养

Fig. 3 Optimized culture on rooting of test-tube plantlet

## 2.4 组培苗练苗移栽的优化

组培苗移栽是组培快繁的重要环节,由于苗木生长环境发生改变,因此要进行练苗使组培苗逐渐适应外部

环境。由表4可知,移栽基质以草炭土:营养土:蛭石=1:2:1的基质中最好,成活率达100%。练苗40 d左右幼苗株高长至17 cm时,可移栽于大田。

表4 不同基质对组培苗移栽的影响

Table 4 Effect of different stroma on cultivation of test-tube plantlet

不同基质 Different stroma	基质配比 Substrate ratio	移栽数 Transplant number/棵	成活数 Number of survival/棵	成活率 Survival rate/%	生长状况 Growth status
草炭土	1	30	24	80	叶片发黄,根脆弱不易活
营养土	1	30	26	85	叶片较薄,前期生长较慢
营养土+蛭石	2:1	30	28	95	总体生长良好
草炭土+营养土+蛭石	1:2:1	30	30	100	根较长,叶片多较大

## 3 讨论与结论

该研究通过生长调节物质的配比试验,获得了黑果腺肋花楸试管苗适宜芽诱导培养基:MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L,增殖培养基为:MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L。但外植体取材部位及基本培养基种类对黑果腺肋花楸增殖的影响有待进一步研究<sup>[7]</sup>。生根培养属组培快繁的第3个阶段,关系到试管苗能否在移栽后健壮生长。因此,通过对比试验得出IBA在生根率、生根条数、生根速度上都优于NAA,这与王志等<sup>[4]</sup>的研究结果相同。生根培养以培养基1/2MS+IBA 0.5 mg/L效果最好,生根率达100%,且每株试管苗可生6~8条根。通过不同基质的配比试验得出练苗后的植株栽入草炭土:营养土:蛭石=1:2:1的基质中最好,成活率最高,达100%。

## 参考文献

- [1] 孔繁弢. 黑果腺肋花楸的开发与栽培[J]. 中国花卉园艺, 2006(5):15.
- [2] de Pascual-teresa S. Anthocyanins: from plant to health[J]. Phytochem Rev, 2008(7):281-299.
- [3] Valcheva-Kuzmanova S, Borisova P, Oalunska B. Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from *Aronia melanocarpa* on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats[J]. Experimental and Toxicologic Pathology, 2004, 56:195-201.
- [4] 王志, 王淑华, 李鑫, 等. 黑果腺肋花楸的组织培养繁殖[J]. 北方果树, 2002(1):10-11.
- [5] 徐启江, 李玉花, 陈典. 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.
- [6] 袁维凤, 金万梅, 尹淑萍. 生长调节物质对草莓叶片再生不定芽的影响[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(4):447-449.
- [7] 李冬杰, 张进献, 魏景芳. 生长调节物质对黑果腺肋花楸试管苗增殖和生根的影响[J]. 河北农业大学学报, 2006, 29(4):41-43.
- [8] 高晔华, 郭朋伟, 吴荣哲. 黑果腺肋花楸组培苗增殖的初步研究[J]. 北方园艺, 2012(17):119-121.

Optimized Study on Tissue Culture and Rapid Propagation System of *Aronia melanocarpa*

LIU Qing, LIU Ying, LI Dong-jie, YAN Su-hong, ZHANG Guan-hua, WEI Jing-fang

(College of Biological Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050000)

**Abstract:** Taking *Aronia melanocarpa in vitro* as the experiment materias, and the optimal tissue culture and rapid propagation system were studied by using the method of tissue culture, the effects of different hormone contents and proportion on the tissue culture rapid propagation was researched. The results showed that MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L was the best culture medium to induce budlet from its tuber, KT could induce callus, but it had no effect on test-tube plantlets' buds inducing. MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L was the best culture medium to induce proliferation buds from its tuber, and the propagation coefficient was six times or above. The best culture medium for multiplication of cluster shoots was 1/2MS+IBA 0.5 mg/L, the rooting rate achieved 100%. The best transplanted matrix was turf soil: nutrition soil: vermiculite=1:2:1, and the survival rate approximated 100%.

**Keywords:** *Aronia melanocarpa*; tissue culture; optimize; rapid propagation