

几种因素对大樱桃“明珠”组培苗增殖生长的影响

丁 遥¹, 李金蓉¹, 姜利建¹, 曲盈媛¹, 李美兰², 朴炫春¹

(1. 延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002; 2. 延边朝鲜族自治州农业科学院, 吉林 龙井 133400)

摘 要:以大连栽植的大樱桃品种“明珠”茎段为外植体, 采用组织培养方式, 研究了 BA、BA 与生长素组合、培养瓶透气滤膜有无、不同培养方法对“明珠”组培苗增殖生长的影响。结果表明: 在 BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L 处理中, 大樱桃组培苗增殖生长效果最好, 分化数量最多, 为 9.0 个/株; 在培养瓶盖无透气滤膜的培养瓶中, 大樱桃组培苗生长健壮, 丛生苗数最多, 为 6.4 个/株; 接触式生物反应器培养方法最适合大樱桃的增殖生长, 丛生苗数量可达到 8.2 个/株。

关键词:大樱桃; 组织培养; 增殖; 生物反应器

中图分类号:S 662.503.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)22-0103-03

大樱桃(*Prunus avium* L.) 属蔷薇科(Rosaceae)李属(*Prunus*)樱桃亚属(*Cerasus* Pers.)落叶乔木果树, 又名甜樱桃、欧洲甜樱桃、西洋樱桃等, 是我国北方落叶果树中果实成熟最早的果树树种, 素有“北方春果第一枝”的美誉^[1]。大樱桃富含蛋白质、脂肪、氨基酸, 抗坏血酸和微量元素等营养物质, 特别是铁的含量居诸水果之首^[2-3], 并具有降血压、降血糖、降血脂、抗心律失常、抗氧化和清除自由基等作用^[4], 常食用大樱桃可健脑益智, 增强体质, 还能养颜驻容, 去皱消斑, 由于其医疗和食用价值极高, 越来越受到人们的关注与喜爱。

大樱桃的繁殖方法有很多, 但繁殖速度慢、苗质差、易感染病毒、遭受病害, 常出现死树现象, 且人工栽培管理技术落后。而利用组培快繁技术繁殖速度快, 且能保持品种的优良种性和经济性状, 培养出无病毒苗, 是满足当前大樱桃栽培及推广优良品种需求的主要方法之一。该试验研究了 BA、BA 与生长素组合、培养瓶有无透气滤膜、不同培养方法对“明珠”组培苗增殖生长的影响, 以期为大樱桃优良品种选育及无病毒栽培发展与规模化生产提供材料来源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

将在 MS+蔗糖 30 g/L+琼脂 8 g/L, pH 5.8 的培

养基中以 30 d 为一个周期进行继代培养的大樱桃“明珠”组培苗作为供试材料。

1.2 试验方法

1.2.1 BA 浓度对“明珠”组培苗增殖生长的影响 将在无菌条件下初代培养获得的组培苗, 随机挑选 2 株生长状况相似且健壮的“明珠”组培苗分别接种于含不同浓度 BA 的 MS 培养基中, BA 浓度分别设置为 0、0.25、0.50、0.75、1.00 mg/L, 培养基中加入 30 g/L 蔗糖和 8 g/L 琼脂, pH 5.8, 培养温度 (25±2)℃, 相对湿度 70%, 光照强度 1 600 lx, 光照时间 16 h/d, 培养 30 d 后, 调查丛生苗数以及丛生苗鲜重和干重。

1.2.2 BA 与生长素组合对“明珠”组培苗增殖生长的影响 在 BA 浓度固定为 0.5 mg/L 的 MS 培养基中分别加入不同浓度的 IAA、IBA 和 NAA, 其浓度分别设置为 0、0.1、0.3 mg/L。加入 30 g/L 的蔗糖和 8 g/L 的琼脂粉, pH 5.8。灭菌后, 每瓶接种 2 株生长较相似的组培苗。培养条件如上。培养 30 d 后, 调查其丛生苗数以及丛生苗鲜重和干重。

1.2.3 培养瓶透气滤膜有无对“明珠”组培苗增殖生长的影响 由上述试验所得试验结果, 将“明珠”组培苗接种于含有 50 mL 培养基(MS+BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8 g/L)的体积为 250 mL 培养瓶中。培养瓶盖分别设置为无透气滤膜孔和有直径为 0.6 cm 和 1.2 cm 的透气滤膜孔 2 种, 其它培养条件同上, 培养 30 d 后, 调查大樱桃丛生苗数、丛生苗鲜重和干重。

1.2.4 培养方法对“明珠”组培苗增殖生长的影响 为筛选适当的培养方式, 将生长势较均匀的“明珠”组培苗分别接种于固体培养瓶和 3 L 的生物反应器中, 所用的培养基为上述试验筛选出的最佳增殖培养基。每个培养瓶接种 2 株组培苗, 共接种 5 瓶。每个反应器接种“明

第一作者简介:丁遥(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物组织培养。E-mail:lianmeilan2001@163.com.

责任作者:朴炫春(1963-), 男, 博士, 教授, 现主要从事植物组织培养及生物反应器应用等研究工作。E-mail:nyypxc@ybu.edu.cn.

基金项目:延边大学大学生创新创业训练计划资助项目(ydbksky2015389)。

收稿日期:2015-06-16

珠”组培苗 30 株。反应器内部空气注入量为 $0.5 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ 。反应器培养方式设置为接触式培养与间歇浸没式培养。接触式培养:在 3 L 生物反应器中固定一个直径 16 cm 的圆形铝网,使液体培养基与其接种在圆形铝网上的组培苗相接触。间歇浸没式培养:同样在 3 L 生物反应器中固定一个直径为 16 cm 的圆形铝网,通过电磁阀控制供给液体培养基的时间和频率,该试验设置为每 40 min 供给培养基 20 min。培养 30 d 后,调查其丛生苗数、丛生苗鲜重和干重。

1.3 数据分析

试验的每个处理均设 5 次重复,数据利用 SPSS 11.5 统计软件对试验数据进行分析,采用邓肯氏新复极差法进行比较,显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 BA 浓度对“明珠”组培苗增殖生长的影响

将大樱桃“明珠”组培苗接种于含有不同浓度 BA 的 MS 培养基中,培养 30 d 后发现,添加 BA,显著增加了丛生苗的分化数量。如图 1 所示,BA 浓度越大,分化的丛生苗数量越多;且 BA 在 $0 \sim 1.00 \text{ mg/L}$ 的范围随着浓度的增加,丛生苗的鲜物重和干物重呈现先升高后降低的趋势,当 BA 浓度为 0.50 mg/L 时,丛生苗鲜物重和干物重均达到最大值,分别为 390 mg 和 51 mg。

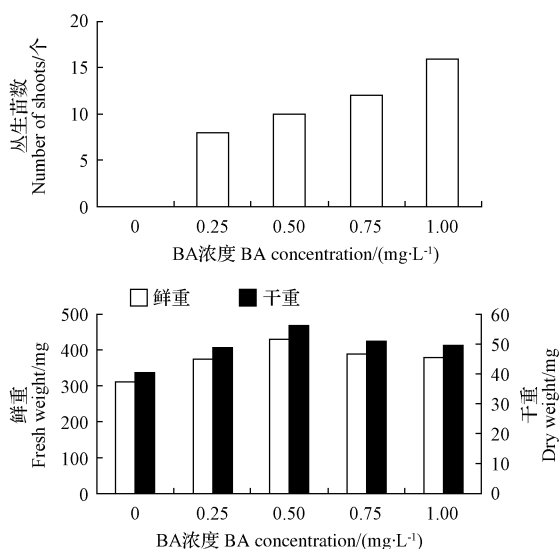


图 1 BA 浓度对大樱桃组培苗增殖生长的影响

2.2 BA 与生长素组合对“明珠”组培苗增殖生长的影响

植物增殖生长与分裂素和生长素的配比关系密切相关,增殖培养基中附加的生长素种类、浓度不同,组培苗的增殖率与长势也存在显著差异。在该试验中,当 BA 浓度设定为 0.50 mg/L 时,添加不同种类、浓度的生长素对于大樱桃“明珠”的增殖生长有不同程度的影响,如表 1 所示。当生长素种类为 IBA 时,大樱桃“明珠”获

得的丛生苗数较多,增殖效果最好,且在 IBA 浓度为 0.1 mg/L 时,分化丛生苗数最多,达到 9.0 个,其鲜物重和干物重也达到最大值,分别为 689.4 mg 和 89.7 mg,显著优于其它处理。而在所有处理中,BA 与 NAA 组合的各处理中分化的丛生苗数量较少,鲜物重和干物重也较低,在 BA 和 NAA 0.3 mg/L 组合时尤其显著。

表 1 BA 与生长素浓度组合对大樱桃组培苗增殖生长的影响

生长素种类	生长素浓度 $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	丛生苗数 /个	丛生苗生物量/mg 鲜重	干重
IAA	0	6.7 bc	542.8 d	73.9 b
	0.1	7.3 b	586.0 c	69.0 bc
	0.3	6.0 bc	497.7 e	61.9 cd
IBA	0.1	9.0 a	689.4 a	87.9 a
	0.3	6.0 bc	631.6 b	72.0 b
NAA	0.1	6.0 bc	583.1 c	68.8 bc
	0.3	5.3 c	471.3 e	60.8 d

注:小写字母为 0.05 显著水平的多重比较结果。

2.3 培养瓶透气滤膜有无对“明珠”组培苗增殖的影响

在研究无菌培养瓶瓶盖上透气滤膜的有无对于大樱桃增殖生长影响的过程中发现,培养瓶盖上透气滤膜的大小对大樱桃“明珠”增殖生长的影响较大。由表 2 可以看出,透气滤膜的直径越大,越不利于大樱桃的增殖生长,而在无透气滤膜的培养瓶中,“明珠”组培苗生长健壮,叶片颜色深绿,显著好于有透气滤膜的处理,同时分化丛生苗数最多,为 6.4 株,以及丛生苗的鲜物重、干物重均达到最大值,分别为 207.6、30.0 mg。

表 2 培养瓶透气滤膜有无对大樱桃组培苗增殖生长的影响

透气滤膜直径/cm	丛生苗数/外植体	丛生苗生物量/mg 鲜重	干重
0	6.4 a	207.6 a	30.0 a
0.6	4.5 b	188.6 ab	27.8 ab
1.2	2.5 c	148.7 c	23.5 c

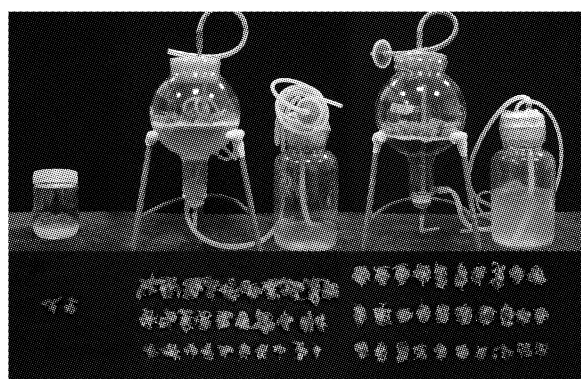
2.4 培养方法对“明珠”组培苗增殖的影响

将大樱桃“明珠”组培苗分别接种于固体培养瓶,接触式生物反应器与间歇浸没式生物反应器中培养。在培养 30 d 后进行“明珠”组培苗增殖情况的调查。结果发现,在生物反应器中大樱桃丛生苗的分化数量要远好于在固体培养瓶中培养,并且生长速度快,生长良好。由表 3 可知,固体培养可分化出 6.1 个丛生苗,而反应器接触式培养和间歇浸没式培养分化的丛生苗数高达 8.2 个和 11.8 个。在生物量上,生物反应器接触式和间歇浸没式培养也明显优于固体培养。

表 3 培养方法对大樱桃组培苗增殖生长的影响

培养方法	丛生苗数/个	丛生苗生物量/mg 鲜重	干重
固体培养	6.1 b	252 c	29.0 c
接触式生物反应器培养	8.2 b	1 063 b	112.5 b
间歇浸没式反应器培养	11.8 a	1 976 a	193.2 a

从图2可以看出,在间歇浸没式反应器培养中,虽然分化的丛生苗数最多,生物量最大,但是在调查中发现,间歇浸没式反应器培养得到的大樱桃植株叶片不舒展,有颜色变褐色,出现腐烂,甚至死亡的现象,且看似生长健壮的苗却极其脆弱,容易断碎,不易再次继代利用。在接触式反应器培养过程中,“明珠”组培苗一直保持旺盛的增殖生长,虽然丛生苗数量、鲜物重和干物重低于间歇浸没式反应器培养,但其组培苗增殖数量较多,植株叶片较大,叶片多、颜色翠绿,且生长健壮,可以再次利用。在固体培养瓶中培养时,虽然大樱桃生长健壮,但是生长缓慢,增殖速度较慢,分化丛生苗数量少,植株叶片较小,叶片少,明显不如2种反应器培养。因此,总的来说生物反应器接触式培养方式最适宜大樱桃的增殖生长。



固体培养 接触式反应器培养 间歇浸没式反应器培养

图2 培养方法对大樱桃组培苗增殖生长的影响

3 结论与讨论

在植物组织培养中,激素的种类和浓度,以及不同种类激素间的配比关系对植株分化、形态发生起着重要的调节作用。在植株的增殖与分化过程中,单独使用BA可以促使植株增殖生长,但不能使植株分化达到最好,合理搭配使用BA与生长素可促进组培苗的增殖与分化达到最佳效果^[5]。试验中,在BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L处理中,大樱桃组培苗增殖效果最好,分化数量最多,与王侠礼等^[6]的研究结果一致。大樱桃品

种不同,其生长素种类及浓度的影响也随之不同,该研究与前人研究结果有一些差异,可能是由于材料来源不同所致。此外,研究发现瓶盖上无透气滤膜的处理增殖生长情况要好于滤膜直径为0.6、1.2 cm的处理,这说明,过多的气体交换会加快瓶内水分的流失,导致培养基营养供应不足,不利于大樱桃的增殖生长。李铁军等^[7]研究结果证实利用瓶盖具有透气滤膜的培养瓶培养效果优于无透气滤膜的情况。这与该试验的结果不同,表明了虽然植物的生长发育需要进行气体交换的有氧新陈代谢的过程,但是过多的换气可能不利于植物的生长,且不同的植物需要的水分等营养情况也不同。

通常情况下,在植物组织培养中液体培养比固体培养生长速度快、生长量大、成活率较高。在该试验中,利用间歇浸没式反应器培养大樱桃“明珠”组培苗时,组培苗能充分接触到培养基,且拥有良好的气体条件促使组培苗生长良好,可诱导分化出大量丛生苗,其生物量也均大于其它2种培养方式。这同时也表明在接触式反应器中扩繁大樱桃苗是一种可行的方法,既可以降低生产成本,又可以缩短生产周期。已有研究表明葡萄^[8]、蓝莓^[9]在接触式生物反应器中培养适合其生长,这与该试验的结果类似。

参考文献

- [1] 郭兴贵. 成县大樱桃产业开发资源优势[J]. 农业科技与信息, 2013(1): 33-34.
- [2] KAPPEL F, TOIVONEN P, MCKENZIE D L, et al. Storage characteristics of new sweet cherry cultivars[J]. Hort Science, 2002, 37(1): 139-143.
- [3] 唐卫平. 樱桃的食疗与药用[J]. 家庭医学, 1998(14): 53.
- [4] 耿敬章, 冯君琪. 黄酮类化合物的生理功能与应用研究[J]. 中国食品添加剂, 2007(4): 62-65.
- [5] 杨帆, 张万博, 郎贤波, 等. 植物生长调节剂对树莓组培苗增殖生长的影响[J]. 延边大学农学报, 2014(1): 12-15.
- [6] 王侠礼, 钟士传, 郑亚琴, 等. 大樱桃矮化砧吉塞拉(Gisela)的快繁技术研究[J]. 山西果树, 2003(6): 8-9.
- [7] 李铁军, 康美兰, 于丹, 等. 几种因素对悬浮培养人参细胞生长和皂苷积累的影响[J]. 中国中药杂志, 2013, 23(38): 4047-4051.
- [8] 金美玉. 葡萄茎段培养生物反应器微环境调控[D]. 延吉: 延边大学, 2011.
- [9] 廉家盛. 蓝莓品种“美登”组培快繁体系建立研究[D]. 延吉: 延边大学, 2011.

Effect of Several Factors on Proliferation and Growth of *Prunus avium* ‘Mingzhu’ in vitro

DING Yao¹, LI Jinrong¹, JIANG Lijian¹, QU Yingyuan¹, LI Meilan², PIAO Xuanchun¹

(1. Agricultural College, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002; 2. Yanbian Academy of Agricultural Sciences, Longjing, Jilin 133400)

Abstract: The effect of BA, BA/auxin, ventilated filter and culture methods on proliferation and growth of ‘Mingzhu’ by the stems of *Prunus avium* ‘Mingzhu’ as explants for tissue culture were studied. The results showed that 0.5 mg/L BA and 0.1 mg/L IBA were combined in the medium, the proliferation effect was the best, and the differentiation number reached 9.0. ‘Mingzhu’ seedlings grew strongly in the bottle without ventilating filter membrane with 6.4 cluster seedlings per plant. The contact bioreactor culture method was the most suitable for the growth of the proliferation of ‘Mingzhu’, the number of clusters could reach 8.2 per plants.

Keywords: *Prunus avium*; tissue culture; proliferation; bioreactor