

黑果腺肋花楸组培苗增殖的初步研究

高 晔 华, 郭 朋 伟, 吴 荣 哲

(延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002)

摘 要:以黑果腺肋花楸带侧芽的茎段为外植体,研究了培养基种类、激素种类及浓度、糖源种类、外植体类型及光照强度对组培苗增殖的影响。结果表明:MS 为适合黑果腺肋花楸组培苗生长的基本培养基;激素处理为 BA 0.5 mg/L, NAA 0.3 mg/L 时植株生长健壮,鲜重、干重分别达到最大值,增殖系数达到 8.0;糖源为白糖时鲜重、干重分别达到 926.6、182.1 mg,植株生长健壮,增殖系数达 8.4;外植体宜选取茎尖部(2.0 ± 0.1) cm,增殖系数可达 8.8;光照强度在 1 600~2 600 lx 条件下有利于增殖及生长。

关键词:增殖;培养基;激素;外植体;光照强度

中图分类号:S 793.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)17-0119-03

黑果腺肋花楸(*Aronia melanocarpa*)属蔷薇科腺肋花楸属落叶灌木^[1]。原产于美国东北部,欧洲已有 100 a 的引种栽培历史,20 世纪 90 年代初引入我国^[2]。其果实富含多种营养物质,花色苷、黄酮类化合物、多酚类物质,此外还含有多种维生素、有机酸、三萜类化合物等,果实及其提取物对心脏病、高血压等心脑血管疾病及糖尿病均具特殊疗效^[3-5]。由于花楸种子收集困难、处理难,因此有性繁殖较困难^[6-7]。扦插繁殖方面由于花楸木质化程度高,对生长条件要求也高,因此生长缓慢,生根困难^[8-9]。近几年由于组织培养育种周期短,便于植株脱毒,因此现以带侧芽的茎段为外植体进行组培快繁的试验研究,以期探索大量繁育黑果腺肋花楸的方法与技术。

1 材料与方法

1.1 试验材料

将采集于吉林省图们市凉水镇的黑果腺肋花楸 1 a 生嫩枝枝条保留 1~2 个芽眼剪成 2 cm 小茎段,消毒灭菌后接种于培养基 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+30 g/L 蔗糖+0.5 g/L 活性炭+7 g/L 琼脂(pH 5.8)的培养基上。

1.2 试验方法

1.2.1 基本培养基种类对黑果腺肋花楸增殖的影响 将黑果腺肋花楸组培苗分别接种在含有 BA 1.0 mg/L +

NAA 0.5 mg/L+30 g/L 蔗糖+7 g/L 的琼脂的 MS、WPM、White、B₅ 培养基中,pH 调为 5.8。柱形瓶(110 mL)中培养基各 35 mL,高压灭菌后冷凝,无菌条件下每瓶接入长约 1.5 cm 的 4 个茎段。培养温度(25 ± 2)°C,相对湿度 70%,光照强度 1 600 lx,光照时间 16 h/d。每处理 3 次重复,40 d 后调查组培苗增殖及生长情况。增殖系数=增殖的植株数/接入的茎段数。

1.2.2 BA 浓度对其增殖的影响 培养基为 MS+NAA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.0 g/L,BA 浓度设置为 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.1 mg/L,其它培养条件与方法同试验 1.2.1(下同)。

1.2.3 NAA 浓度对其增殖的影响 培养基为 MS+BA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.0 g/L,NAA 浓度设置为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/L。

1.2.4 糖源种类对其增殖的影响 培养基为 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L+琼脂 7.0 g/L,分别加入果糖、白糖、蔗糖、葡萄糖,浓度均 30 g/L。

1.2.5 外植体取材部位及长度对其增殖的影响 将植株的茎尖(T)、茎中(M)、茎基(F)分别切成(1.0 ± 0.1)cm、(1.5 ± 0.1)cm、(2.0 ± 0.1)cm、(2.5 ± 0.1)cm 4 种长度,并标记为 1、2、3、4 号,共计 12 个处理。接种在 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L+30 g/L 白糖+7 g/L 的琼脂的培养基上。

1.2.6 光照强度对其增殖的影响 将长度为(2.0 ± 0.1)cm 组培苗茎尖部接种在 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L+30 g/L 白糖+7 g/L 琼脂的培养基。接种后组培苗分别放置在光照强度为 0、800、1 600、2 400、3 200 lx 条件下培养。

第一作者简介:高晔华(1987-),女,在读硕士,现主要从事生物工程方面的研究工作。

责任作者:吴荣哲(1966-),男,博士,副教授,现主要从事生物工程及栽培生理等研究工作。E-mail:wurzh@ybu.edu.cn。

收稿日期:2012-04-27

1.3 数据分析

试验数据使用 SPSS 11.5 软件 Duncan 检验和方差分析进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 基本培养基种类对黑果腺肋花楸增殖的影响

由表 1 可知,MS 培养基植株鲜重 892.6 mg,干重 152.2 mg,增殖系数 12.8,均显著高于其它处理。 B_5 培养基株高高于其它处理,但增殖不如 MS 培养基。MS 培养基的组培苗,叶色嫩绿,植株生长旺盛,有部分玻璃化现象。WPM 和 B_5 培养基中幼苗叶片小且狭长,透明或卷曲,出现较多玻璃化苗,White 培养基幼苗叶片较大,叶色绿色,玻璃化程度较低但增殖最少。

表 1 培养基种类对黑果腺肋花楸增殖的影响

培养基	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	增殖系数	生长势
MS	892.6 a ^z	152.2 a	5.9 b	12.8 a	+++
WPM	555.4 b	83.9 b	5.6 b	9.3 b	++
White	403.7 b	63.7 c	4.3 c	1.6 c	+
B_5	571.9 b	86.5 b	6.5 a	6.0 bc	++

注:“+”:生长缓慢,生根较长,但生根数少;“++”:生长较快,较多玻璃化苗;“+++”:生长旺盛,有玻璃化苗;“^z”为 0.05 显著水平的多重比较结果。下同。

2.2 BA 浓度对黑果腺肋花楸增殖生长的影响

由表 2 可知,随着 BA 浓度的增加,组培苗的增殖系数越高,BA 浓度为 0.9 mg/L 时,增殖系数最高为 8.4,但同时玻璃化现象也越明显,植株长势随 BA 浓度的增加呈先增后降趋势(图 1)。当 BA 浓度为 0.5 mg/L 时,鲜重、干重均达到显著水平,植株整体长势相比最好,BA 浓度为 0.7 mg/L 时开始出现玻璃化现象。

表 2 BA 浓度对黑果腺肋花楸增殖的影响

BA 浓度/mg · L ⁻¹	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	增殖系数	生长势
0.1	244.7 c ^z	35.0 d	2.6 bc	1.4 c	+
0.3	697.7 ab	92.0 bc	2.8 bc	4.4 b	++
0.5	800.3 a	132.3 a	5.4 a	7.8 a	+++
0.7	731.0 a	121.3 b	4.6 ab	8.2 a	+++
0.9	449.3 bc	67.3 c	4.4 ab	8.4 a	+++
1.1	379.3 c	45.0 c	3.2 b	6.9 ab	+++

注:“+”:生长缓慢,植株矮小,分化慢;“++”:生长较快,分化较多;“+++”:生长快,分化快,植株健壮;“+++”:生长快,分化快,出现少许玻璃化苗;“+++”:生长快,分化快,玻璃化苗较多。



图 1 BA 浓度对黑果腺肋花楸增殖的影响

2.3 NAA 浓度对黑果腺肋花楸增殖生长的影响

由表 3 可知,随 NAA 浓度的增加增殖情况呈先升

后降的趋势,同时愈伤组织却随 NAA 的增加而增多、变硬。当 NAA 为 0.3 mg/L 时,鲜重、干重及增殖系数均达到最大值。

表 3 NAA 浓度对黑果腺肋花楸增殖的影响

NAA 浓度/mg · L ⁻¹	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	增殖系数	生长势
0	530.3 bc ^z	85.3 b	4.3 b	4.3 bc	+
0.1	617.0 abc	96.7 b	3.9 b	5.3 bc	+
0.2	660.7 ab	98.0 b	5.2 a	6.7 b	++
0.3	840.7 a	142.7 a	5.6 a	8.0 a	++
0.4	407.7 bc	81.0 b	5.8 a	4.0 bc	+-
0.5	360.0 c	63.3 c	3.1 bc	1.6 c	+-

注:“+”:生长缓慢;“++”:生长较快,增殖快;“+-”:产生愈伤组织,抑制生长。

2.4 糖源种类对黑果腺肋花楸增殖的影响

由表 4 可知,4 种糖源的植株鲜重无差异,但白糖和蔗糖干重(182.1、190.1 mg)显著高于果糖和葡萄糖,且白糖增殖系数高于蔗糖,从成本考虑,选择白糖。

表 4 糖源种类对黑果腺肋花楸增殖的影响

糖源种类	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	增殖系数	生长势
果糖	932.2 a ^z	163.4 b	4.5 b	12.0 a	+-
白糖	926.6 a	182.1 a	5.1 a	8.4 b	++
蔗糖	992.3 a	190.1 a	5.3 a	7.2 b	++
葡萄糖	891.9 a	149.7 b	5.5 a	11.3 a	+-

注:“+-”:增殖较快,但出现较多玻璃化苗;“++”:生长较快,植株健壮。

2.5 外植体取材部位及长度对黑果腺肋花楸增殖的影响

由表 5 可知,当外植体取材部位为茎尖时,测量指标均高于同等长度的茎中、茎基部。当长度达到 4 号长度(2.5±0.1)cm 时,茎尖、茎中、茎基的增殖系数均不超过 3。1 号长度,玻璃化现象较明显;2 号、3 号增殖系数分别达到 7.0、8.6。因此对于外植体部位而言,茎尖生长最好,茎中次之,茎基部较差。以不同长度外植体接种,所取材料越长,玻璃化现象越少,植株越健壮,但是增殖越少。

表 5 外植体取材部位及长度对黑果腺肋花楸增殖的影响

外植体类型	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	增殖系数	生长势
T1	598.3 ab ^z	106.0 bc	3.9 cd	5.6 bc	+-
T2	797.3 a	140.3 ab	4.1 c	7.0 b	++
T3	862.0 a	164.6 a	4.4 b	8.6 a	+++
T4	680.3 ab	119.6 b	5.7 a	4.8 c	++
M1	487.3 b	82.3 d	3.3 d	6.8 b	+-
M2	607.3 ab	95.3 c	4.5 b	5.6 bc	++
M3	744.0 ab	128.0 b	5.2 ab	2.8 d	+++
M4	696.0 ab	108.6 bc	5.5 a	2.2 d	++
F1	624.7 ab	93.6 c	3.9 cd	5.4 bc	+-
F2	646.7 ab	105.3 bc	4.4 b	4.4 c	+-
F3	487.7 b	85.0 d	5.7 a	2.8 d	++
F4	529.3 b	87.6 d	5.8 a	2.4 d	+

注:“+-”:增殖较快,出现玻璃化苗;“+”:增殖较慢,生长健壮;“++”:生长较快;“+++”:生长健壮,增殖较快。

2.6 光照强度对黑果腺肋花楸增殖的影响

随着光照强度增加,增殖系数呈先增后降趋势(表

6)。暗培养条件下,植株徒长,叶片极小且少(图2)。随着光照强度的增加玻璃化程度逐渐变轻,同时增殖越多,植株越健壮,茎逐渐变粗变红,叶片逐渐变大,但同时叶表水分较少,所以在3 200 lx条件下,植株叶片为墨绿,叶片较干,增殖系数只有3.7。2 400 lx条件下,鲜重(784.0 mg)、干重(165.0 mg)分别为最大值。1 600 lx条件下,增殖系数也达7.5,因此,在1 600~2 400 lx条件下对增殖有利。

表6 光照强度对黑果腺肋花楸增殖的影响

光照强度/lx	鲜重/mg	干重/mg	株高/cm	增殖系数	生长势
0	212.0 c ^a	43.0 c	4.7 a	3.0 c	+
800	224.3 c	48.3 c	3.2 a	4.8 b	++
1 600	583.0 b	95.3 bc	4.0 a	7.5 a	+++
2 400	784.0 a	165.0 a	4.6 a	8.8 a	+++
3 200	463.3 b	121.3 ab	4.5 a	3.7 bc	++-

注:“+”:完全玻璃化,叶片少且极小;“++”:叶片较小,为浅绿色;“+++”:增殖较多,植株生长健壮;“++-”:植株生长健壮,叶片为深绿色,增殖较少。

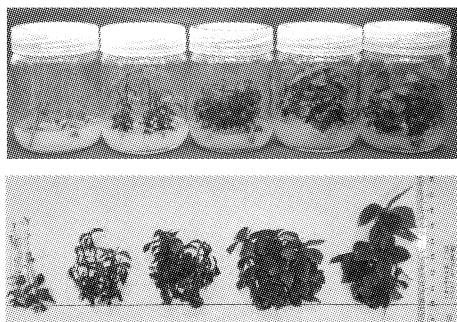


图2 光照强度对黑果腺肋花楸增殖的影响

3 讨论与结论

基本培养基筛选时,均出现不同程度玻璃化现象,玻璃化苗在一定条件下可发生逆转,成为正常苗^[10],逆转机理有待进一步研究。适宜的BA浓度,既可以促进增殖,也有利于植株生长。NAA浓度的增加,愈伤组织变多、变硬,将抑制植株正常生长。糖作为碳源,不仅为细胞提供合成新化合物的碳骨架和能源,还可维持一

定渗透压^[11]。该研究中适宜的糖源可促进增殖,降低玻璃化现象发生。试验选取(2.0±0.1)cm茎尖为外植体增殖系数较高,植株健壮,可能是由于茎尖分化能力强而茎基部老化的结果。适宜的光照会促进细胞叶绿体的形成,促进光合作用,有利于细胞壁、细胞器的形态建成,从而促进植株的增殖^[12],该试验较强的光照可有效促进植株增殖生长。综上所述,适宜黑果腺肋花楸增殖的培养方法为外植体选取(2.0±0.1)cm茎尖部,培养基为MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L+30 g/L白糖+7 g/L琼脂,光照强度宜为1 600~2 400 lx。

参考文献

- [1] 孔繁斌. 黑果腺肋花楸的开发与栽培[J]. 中国花卉园艺, 2006(10): 38-39.
- [2] 韩文忠,姜镇荣,马兴华,等. 国内外腺肋花楸产业和技术发展概况[J]. 防护林科技, 2007(3): 57-58.
- [3] 玄永浩,金英善. 黑果腺肋花楸化学成分及药理活性研究进展[J]. 现代农业科技, 2009(20): 101-104.
- [4] 于明,李锐. 黑果腺肋花楸幼苗的化学成份[J]. 沈阳医科大学学报, 2006, 23(7): 425-427.
- [5] Valcheva-Kuzmanova S, Borisova P, Galunska 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.
- [6] 韩彩萍,潘伟,余治家,等. 沙藏处理对欧洲花楸种子的催芽作用[J]. 吉林农业大学学报, 2009, 31(5): 595-599, 606.
- [7] 陈昕,曹珊珊,张红星. 黄山花楸种子休眠影响因素[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(7): 5-7.
- [8] 郭晓凡. 黑果腺肋花楸扦插试验[J]. 中国林副特产, 2009(6): 31-32.
- [9] 龙忠伟. 黑果腺肋花楸全光照喷雾嫩枝扦插育苗技术[J]. 科技创新导报, 2008(11): 254.
- [10] 王爱芝,沈海龙,张鹏,等. 花楸组织培养中玻璃化现象的发生与防治[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(10): 18-22.
- [11] 吕亚凤. 厚荚相思试管苗玻璃化现象研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2007.
- [12] 谷艾素,张欢,崔瑾. 光调控在植物组织培养中的应用研究进展[J]. 西北植物学报, 2011, 31(11): 201-206.

Primary Study on Tissue Culture Proliferation of *Aronia melanocarpa*

GAO Ye-hua, GUO Peng-wei, WU Rong-zhe

(College of Agricultural, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002)

Abstract: Taking stems with lateral buds of *Aronia melanocarpa* as explants, the effects of culture media, hormone types and concentrations, sugar types, explant types and illumination intensities on tissue culture proliferation were studied. The results showed that MS was the suitable basic medium. The hormone treatment of BA 0.5 mg/L, NAA 0.3 mg/L was better for growth and proliferation, resulting in fresh weight and dry weight reaching the maximum respectively with a proliferation index of 8.0. White sugar was considered as the suitable source for *Aronia melanocarpa*, with fresh weight 926.6 mg and dry weight 182.1 mg. The stem tip of (2.0±0.1)cm was the best part for explant, leading the proliferation up to 8.8 cm and the beneficial illumination intensity was 1 600~2 600 lx.

Key words: proliferation; culture medium; hormone; explant; illumination intensity