

黑穗醋栗‘寒丰’离体快繁影响因素研究

李金英, 赵春莉, 张志东

(吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130118)

摘要:以黑穗醋栗‘寒丰’植株不同组织部位为外植体, 研究分析了离体快繁过程中的一些影响因素。结果表明:‘寒丰’茎尖消毒时间以 0.1% 升汞(HgCl_2)消毒 7 min, 带腋芽的茎段 9 min 为宜, 嫩茎以手摇消毒效果较好, 其它辅助材料以 0.1% 升汞+2 滴吐温消毒 8 min 效果更佳;‘寒丰’组培苗在 $\text{MS}+\text{BA}$ 1.0 mg/L+ IBA 0.1 mg/L+ GA_3 1.0~2.0 mg/L 培养基上能分化出大量丛生芽, 且长势较好。

关键词:黑穗醋栗;‘寒丰’;离体快繁

中图分类号:S 663.903.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)22-0119-03

黑穗醋栗(*Ribes nigrum* L.)为虎耳草科醋栗属或称茶藨属(*Ribes* L.)小灌木^[1], 又名黑加仑, 它是东北地区栽培的小浆果, 为第三代新兴果树^[2]。黑穗醋栗属于经济林木树种, 观赏、食药价值都很高。‘寒丰’具有易栽植、好管理、收益大之特点^[3]。‘寒丰’是黑龙江省农业科学院牡丹江农业科学所采用远缘杂交方法, 以“亮叶厚皮”为母本, “野生兴安茶藨”为父本杂交育成的黑穗醋栗新品种^[4]。‘寒丰’具有很强的抗寒性, 在黑龙江、吉林、内蒙古高寒地区无需任何防寒措施均可安全越冬, 深受果农的欢迎^[5]。‘寒丰’果实的加工品营养丰富、污染少等优点, 是真正的绿色食品^[6]。鉴于黑穗醋栗具有很高的营养价值, 应用前景较广, 因此, 培育大量苗木就显得尤为重要, 而组织培养快速繁殖是一个有效的繁殖苗木途径。

关于黑穗醋栗的组培快繁的研究仅有少数相关报道, 但研究的不够系统, 基于不同外植体以及材料的老嫩程度不同, 最适宜的消毒时间不同^[7], 以及有许多因素直接影响植物组培成败。该试验以黑穗醋栗‘寒丰’的茎尖、茎段为外植体, 对其初代培养物的建立及增殖培养的影响因素进行了研究, 旨在建立‘寒丰’组培无性系, 为其它栽培品种黑穗醋栗组培快繁提供借鉴, 为进一步快速工厂化育苗提供科学参考, 同时为进一步利用组培苗进行下一步相关研究打下基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为采自吉林农业大学小浆果基地的黑穗醋栗‘寒丰’。

1.2 试验方法

每个处理接种 30 瓶(除消毒时间所接种外植体不同外), 每瓶接种 1 个外植体。每个调查项目的数据均取平均值, 以 MS 为基本培养基, 附加激素 BA 1.0 mg/L+ IBA 0.1 mg/L。30 d 后调查统计污染率、成活率和死亡率等指标。

增殖培养试验均以 $\text{MS}+\text{BA}$ 1.0 mg/L+ IBA 0.1 mg/L 为基本培养基。采用的组培苗高度大于 0.5 cm, 生长状态基本一致。随时观察组培苗的生长变化情况, 30 d 后调查和统计增殖倍数、污染率、死亡率等指标。

2 结果与分析

2.1 影响‘寒丰’离体初代培养的因素

2.1.1 消毒时间对‘寒丰’离体初代培养的影响 由表 1 可知, 虽然随着升汞消毒时间的加长, 组培苗的污染率明显降低, 但死亡率也明显升高, 成活率下降。在相同的消毒时间处理条件下, 嫩梢顶部比嫩茎的污染率低, 但死亡率高。说明嫩梢顶部带菌较少, 耐药性较差。从材料的污染率、死亡率和成活率综合考虑, ‘寒丰’茎尖以 0.1% 升汞消毒 7 min, 茎段消毒时间 9 min 为宜。

2.1.2 消毒方式对‘寒丰’离体初代培养的影响 由表 2 对‘寒丰’嫩茎进行 3 种方式消毒的研究结果可知, 在进行表面消毒时, 手摇效果最佳, 材料的污染率与死亡率最低, 容器静止时污染率最高。搅拌时虽然污染较低, 但死亡率最高, 其原因可能是在搅拌时玻璃棒使外植体表面受损, 药液渗入组织而使材料发生药害致死。

第一作者简介:李金英(1978-), 女, 吉林长春人, 在读博士, 实验师, 研究方向为果树生物技术。E-mail:li_jy78@163.com.

责任作者:张志东(1962-), 男, 黑龙江肇源人, 硕士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为果树生物技术。

基金项目:吉林省教育厅资助项目(吉教科合字[2011]第 45 号)。

收稿日期:2012-07-30

表 1 消毒时间对‘寒丰’外植体初代培养的影响

Table 1 Effect of sterilization time on initial culture of ‘Hanfeng’ explants

时间	污染率	Infection rate/%	死亡率	Death rate/%	成活率	Survival rate/%
Time/min	茎尖	茎段	茎尖	茎段	茎尖	茎段
7	25	67	0	0	75	33
9	20	40	60	0	20	60
12	17	43	67	0	16	57
16	0	38	75	10	25	52
20	0	0	100	60	0	40

表 2 消毒方式对‘寒丰’离体初代培养的影响

Table 2 Effect of sterilization methods on initial culture of ‘Hanfeng’ explants

灭菌方式 Methods of sterilization	污染率 Infection rate/%	死亡率 Death rate/%	成活率 Survival rate/%
静止浸泡	26.7	20.0	53.3
玻璃棒搅拌	24.5	35.5	40.0
手摇消毒容器	22.2	5.0	72.8

2.1.3 消毒药剂种类及浓度对‘寒丰’离体初代培养的影响 由表 3 升汞和其它辅助试剂进行材料表面消毒的结果可知,0.1%升汞加入 2 滴吐温消毒 8 min 的效果相对较好,污染率为 55%,成活率最高为 45%;单独使用 0.1%升汞水溶液浸泡 8 min 的消毒效果最差,污染率为 84.2%。70%酒精 30 s+升汞消毒 8 min 的材料死亡率最高,原因是酒精具有很强的穿透作用,致使材料死亡,说明离体培养材料不宜用酒精进行消毒。

表 3 消毒药剂对‘寒丰’外植体初代培养的影响

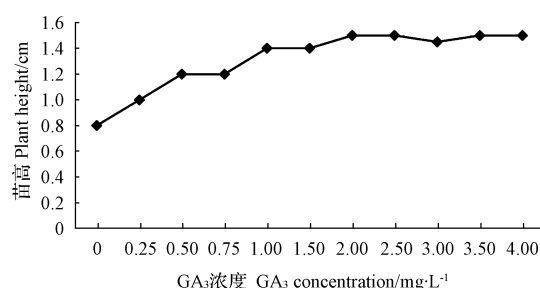
Table 3 Effect of chemicals for sterilization on initial culture of ‘Hanfeng’ explants

处理 Treatments	污染率 Infection rate/%	死亡率 Death rate/%	成活率 Survival rate/%
70%酒精 30 s+0.1%升汞 消毒 8 min	60.0	36.0	4.0
0.1%升汞消毒 8 min	84.2	0	15.8
2 滴吐温+0.1%升汞消毒 8 min	55.0	0	45.0

2.2 影响‘寒丰’组培苗增殖培养的因素

2.2.1 GA_3 对‘寒丰’组培苗增殖的影响 针对组培苗在 MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 培养基中节间短、生长缓慢等问题,采用在原培养基中加入不同浓度的 GA_3 处理,研究了 GA_3 对组培苗生长的影响。由图 1 可知,在添加了 GA_3 后,苗高均高于对照,平均苗高可达 1.0~1.5 cm,苗高呈大幅度上升趋势,而后 GA_3 浓度继续增加,苗高也没有明显增高趋势,且芽苗较细弱,不利于继代培养。由此看来,在适宜浓度(1.0~2.0 mg/L)赤霉素作用下, GA_3 能有效促进‘寒丰’组培苗节间伸长生长的作用。

2.2.2 培养基大量元素含量对‘寒丰’组培苗增殖的影响 由图 2 可知,增殖倍数总体随大量元素含量的降低

图 1 GA_3 对组培苗苗高的影响Fig. 1 Effect of GA_3 on the height of plantlet

而降低,死亡率仅在 1/4 培养基中出现少量死亡。说明大量元素的多少对组培苗生长的影响很大,组培苗较适合在含有全量大量元素的 MS 培养基中生长。

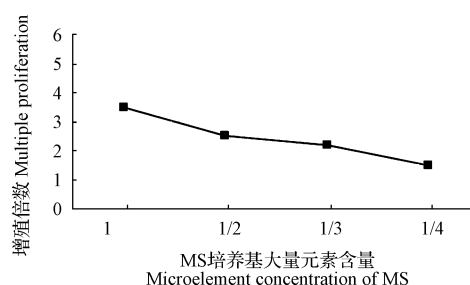


图 2 大量元素对‘寒丰’组培苗增殖的影响

Fig. 2 Effect of microelement concentration on propagation of ‘Hanfeng’ plantlet *in vitro*

2.2.3 培养基中维生素类物质对‘寒丰’组培苗增殖的影响 ‘寒丰’组培苗在含有不同倍数维生素类物质的 MS 培养基中,其增殖倍数以正常量(1.0)时最高,以 1.0 倍为中心呈递减趋势(图 3)。“寒丰”组培苗在不含维生素的培养基中出现少量死亡。从结果看来,维生素类物质的减少对于组培苗的生长有不利影响,增加量也并未起积极作用,组培苗反而出现脆硬或黄化现象,还有少量玻璃化苗出现,说明 MS 培养基中全量维生素类含量适宜组培苗正常生长。

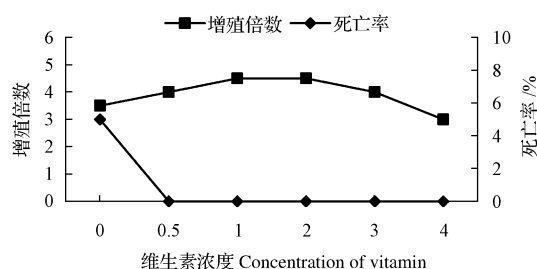


图 3 维生素对‘寒丰’组培苗增殖的影响

Fig. 3 Effect of vitamin on propagation and death rate of ‘Hanfeng’ plantlet *in vitro*

2.2.4 活性炭对‘寒丰’组培苗增殖过程中褐化程度的影响 由表 4 可知,随着活性炭浓度的增加,组培苗的

褐化程度逐渐降低,但增殖倍数降低,死亡率增高。综合考虑,活性炭不适宜作为‘寒丰’组培苗褐变防止的介质。

表4 活性炭对‘寒丰’组培苗褐化及生长的影响

Table 4 Effect of AC on browning and growth of

‘Hanfeng’ plantlet *in vitro*

活性炭 AC/g · L ⁻¹	褐化率 Browning rate/ %	增殖倍数 Multiple of proliferation	死亡率 Death rate/ %
0(CK)	5	4.0	0
0.5	50	2.0	0
1.0	50	1.5	0
1.5	25	1.0	5
2.0	25	1.0	10

3 结论与讨论

控制污染率是植物无性繁殖体系建立的关键因素。外植体来源不同,其所带的菌类多少也不同,进而影响组培苗初代培养污染率的大小。污染率的高低与外植体消毒时间也密切相关,同时接种季节的选择也是决定污染率高低的重要因素。该试验以室内水培新梢为外植体,经不同的处理及消毒方法:用0.1%的升汞+2滴吐温手摇消毒8 min效果较好,但接种时间不宜在6和9月份进行。

GA₃是促进丛生芽苗生长的重要因素。该试验结果表明,在基本培养基中组培苗丛生芽生长缓慢,节间较短,不利于扩繁。添加了GA₃后,发现GA₃对组培苗的节间伸长起到了很重要的作用,但GA₃的浓度过高,

丛生芽过于细弱,不利于转接。由此看来,组培苗增殖培养中,培养基的选择和植物激素的适宜配比至关重要。同时对于‘寒丰’组培苗,MS培养基营养成分不宜增减,以全量最佳。

组培苗褐化现象在植物组培中也是需要解决的问题。有报道称活性炭可以降低组培苗褐化。该试验中发现,活性炭用以降低组培苗褐化现象因植物而异。因为试验中活性炭的确能不同程度降低‘寒丰’组培苗褐化率,但增殖倍数降低,死亡率增高,因而活性炭不适宜作为‘寒丰’组培苗防止褐变的手段,降低褐化率还需探寻其它途径。

参考文献

- [1] 张志东,李亚东,吴林. 英国黑加仑的栽培与研究及我国黑加仑发展策略[J]. 吉林农业大学学报,2003,25(3):296-300.
- [2] 刘洪章,文连奎,郝瑞,等. 黑穗醋栗果实营养成分研究[J]. 吉林农业大学学报,1998,20(3):1-4.
- [3] 赵锦,陈瑜,薛陈心,等. 波兰黑穗醋栗的组织培养[J]. 河北林果研究,2006,21(4):419-421.
- [4] 滕树明,宋钟伍,齐凤莲,等. 黑穗醋栗新品种-寒丰[J]. 中国果树,1997(3):6,10.
- [5] 宋钟伍,齐凤莲,周文志,等. 寒丰黑穗醋栗的修剪技术[J]. 中国果树,2000(3):38.
- [6] 周文志. 寒丰黑穗醋栗与薄皮黑穗醋栗主要性状比较试验[J]. 中国林副特产,2000,52(1):15.
- [7] 张彦妮,李博,安勇,等. 婆婆纳组织培养再生体系的建立[J]. 东北林业大学学报,2010,38(12):46-18.

Study on the Factors Influencing Rapid Propagation *in vitro* of *Ribes nigrum* L. ‘Hanfeng’

LI Jin-ying, ZHAO Chun-li, ZHANG Zhi-dong

(College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: Taking different part of *Ribes nigrum* L. ‘Hanfeng’ as materials, the factors that influencing culture *in vitro* of ‘Hanfeng’ were studied by *in vitro* culture of different parts of organs, including stem tip and stem with auxiliary bud. The results showed that the optimal sterilization time of stem tip was 7 minutes with 0.1% HgCl₂ and 9 minutes of auxiliary bud, tender stem with hand shelce had the better sterilize effect, 0.1 HgCl₂ plus two drops of Twain 8 min had betler effect. The cluster buds could be induced in MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+GA₃ 1.0~2.0 mg/L, and the plants grew well.

Key words: ‘Hanfeng’; rapid propagation *in vitro*