

矿质元素对蝴蝶兰组培褐变的影响

印芳^{1,2}, 彭克勤¹, 葛红², 赵伶俐^{2,3}

(1. 湖南农业大学植物激素重点实验室, 长沙 410128; 2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; 3. 西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨陵 712100)

摘要:研究了蝴蝶兰初代培养过程中, 不同浓度 Fe、K、Ca、Zn、Cu 等矿质元素对其褐变的影响。结果表明: 培养基中 Fe、Cu 浓度越高, 褐化越严重; 培养基中 K、Ca、Zn 随浓度升高褐变越轻。

关键词:蝴蝶兰; 褐变; 矿质元素

中图分类号:S682.31; S603.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2006)06-0137-03

蝴蝶兰 (*Phalaenopsis*) 是兰科蝴蝶兰属多年生常绿附生草本植物, 为单茎气生兰, 组织培养为其主要的繁殖方式^[1], 而褐化一直制约着其组培成活率, 也是蝴蝶兰工厂化繁殖的难题之一^[2]。研究表明导致褐化的主要原因是由氧化酶作用于天然底物酚类物质形成醌而引起的。其影响因素很多, 矿质元素是其中一个很重要的原因。培养基中无机盐的浓度过高, 可使酚类物质大量产生, 导致细胞褐变, 降低无机盐的浓度可以减少酚类外溢, 从而减轻褐变^[3,4]。张妙霞等发现在柿树组织培养中, 与改良 MS 培养基相比, 在 MS 培养基中, 休眠芽的褐变死亡率提高了 9 倍, 增殖倍数和有效新梢率分别降低 67% 和 55%^[5]。梅兴国证实无机盐越低褐变强度越低^[6]。目前关于无机盐对褐变的影响报道不少, 但具体到某一种矿质元素的研究较少, 以蝴蝶兰为外植体的报道目前尚未见报道。本试验以蝴蝶兰为外植体, 研究了培养基中 Fe、K、Ca、Zn、Cu 等对其褐变的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

中国农业科学院蔬菜花卉所组培室蝴蝶兰品种 R1。

1.2 方法

1.2.1 矿质营养液的配制 分别用 FeSO_4 、 KNO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 ZnSO_4 和 CuSO_4 配制成浓度为 0.3% 的 Fe、K、Ca、Zn 和 Cu 矿质元素溶液, 每种矿质溶液按浓度为 50、100、150、200、250 mL/L 做 5 个培养基处理, 每个处理接种 40 瓶, 每瓶 3 个叶片, 外植体大小为 0.8 cm × 0.8 cm, 基础培养基为 MS, 温度 25 ℃, 定期观察统计。

1.2.2 褐变程度统计方法 用褐化率和褐化指数表示外植体褐化的程度。参照顾之中水稻愈伤组织褐化指数的方法^[7]。将外植体的褐化程度定为以下四级标准记载统计: 一级: 褐化部分在 25% 以上至 50% 以下; 二级: 褐化部分在 50% 以上至 75% 以下; 三级: 褐化部分在 75% 以上, 但未全部褐化; 四级: 全部或近于全部褐化。

$$\text{褐化指数} = \frac{\sum \text{褐化级别的外植体数} \times \text{该褐化级别}}{\text{调查的外植体数} \times \text{最高褐化级别}} \times 100\%$$

100%

2 结果与分析

2.1 Fe 对蝴蝶兰褐变的影响

在各种不同浓度的 Fe 盐处理中, 除浓度 50 mL/L 的外植体没有明显的变化外, 其余处理外植体边缘在接种后第 2 d 都变成褐色; 在接种后的第 15 d, 所有浓度处理外植体边缘都变成褐色, 且褐化面积随处理浓度的增高而增大 (图版)。

在整个培养过程中, 其褐变指数随 Fe 浓度的增加和培养时间的增长而呈上升的趋势 (图 1)。除在培养的第 2 d 和第 5 d 浓度为 50 mL/L 的处理与对照差异不显著外, 其余浓度处理与对照均达极显著水平 (表)。

Fe 浓度高的处理其褐变指数极显著高于浓度低的处理; 同一种浓度随培养时间的加长, 褐变越严重 (图 1, 表)。

Fe 对褐化指数的影响

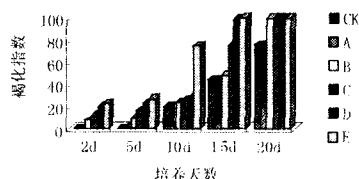


图 1 Fe 对褐变指数的影响

2.2 Ca 对蝴蝶兰褐变的影响

Ca 处理中, 各浓度处理之间外植体在接种初没有太大区别, 且随着培养时间的增长, 外植体边缘的褐色部分没有太大差异, 但褐色部分面积明显小于对照 (图版)。在培养过程中其外植体在培养一段时间后, 各处理的绿色比对照更深。

在整个培养过程中, 除在接种的第 2 d 和第 5 d 各处理的褐变指数与对照差异不显著外, 其余时间均低于对照, 其差异达极显著水平 (表)。

在培养过程中, 除浓度为 50 mL/L 的处理外, 褐变指数随浓度的增加而大体呈下降趋势 (图 3), 处理间差异达显著水平 (表); 同一浓度随培养时间的增长褐变指数升高 (图 2, 表)。

2.3 K 对蝴蝶兰褐变的影响

在 K 盐的处理中, 各浓度处理之间外植体在接种初没有太大区别, 且随着培养时间的增长, 外植体边缘的褐色部分没有太大差异, 但褐色部分面积明显小于对照 (图版)。但在培

* 基金项目: 国家 863 资助项目 (编号: 2004AA241200), 国家科技攻关计划资助项目 (编号: 2004BA521B02)

收稿日期: 2006-07-03

养一段时间后,外植体绿色比对照浅,有些甚至失绿死亡。

在整个培养过程中,除在接种的第2 d和第5 d各处理的褐变指数与对照差异不显著外,其余时间均低于对照,其差异达极显著水平(表)。

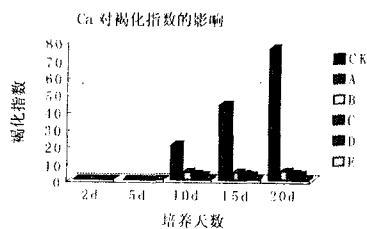


图2 Ca对褐变指数的影响

在培养过程中,浓度为50 mL/L的处理外植体的褐化指数最高,与其他浓度的处理差异达极显著水平,随着浓度的增加,其褐变指数降低,处理间差异不显著(表);同一浓度随培养时间的增长褐变指数升高。

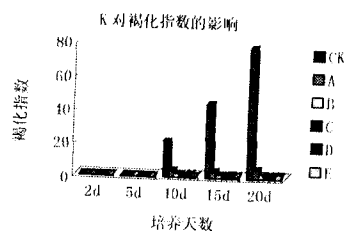


图3 K对褐变指数的影响

2.4 Zn对蝴蝶兰褐变指数的影响

从图版可以看出,Zn的各处理在整个培养过程中外植体边缘未见明显的褐色,外植体褐变程度明显低于对照,但是随培养时间的增长,外植体失绿严重。

在整个培养过程中,除在接种的第2 d和第5 d各处理的褐变指数与对照差异不显著外,其余时间均极显著低于对照(表)。随着浓度的增加,其褐变指数降低(图4,表)。各浓度处理间差异不显著(表);同一浓度随培养时间的增长褐变指数略微升高,其差异不显著。

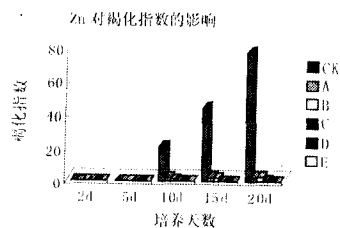


图4 Zn对褐变指数的影响

2.5 Cu对蝴蝶兰褐变指数的影响

各浓度的Cu处理在接种的第2 d外植体边缘出现褐色,褐色随浓度的升高而加深。到培养的第15 d,外植体全部褐化,在浓度高的处理中,外植体除了褐化外,还呈现出像开水烫过的状态(图版)。

在整个培养过程中,其褐变指数随Cu浓度的增加和培养时间的增长而呈上升的趋势(图5)。除在培养的第2 d浓

度为50 mL/L的处理与对照差异不显著外,其余浓度处理与对照均达极显著水平(表)。

浓度高的处理其褐变指数极显著高于浓度低的处理;同一种浓度随培养时间的加长,褐变越严重(图版,表)。

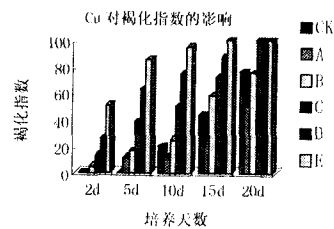


图5 Cu对褐变指数的影响

不同浓度矿质元素对褐变指数的影响表

矿质元素	处理	2d	5d	10d	15d	20d
Fe	CK	0I	0Jl	20gG	43.6hH	76.6bB
	50	0I	1.3I	1.9jklmJKL	5jJ	21eE
	100	7.1gG	8.6hH	23.3fF	48.3gG	100aA
	150	11.2fF	16.3fF	25.6eE	75dD	100aA
	200	19.3dD	22.7eE	28.3dD	98.3bB	100aA
Ca	250	21.9cC	26.3dD	75bB	100aA	100aA
	50	0I	0Jl	0.4lML	0.6mnN	1.3ijklHIJ
	100	0I	0Jl	4.6I	4.7	5.2fF
	150	0I	0Jl	3.1ijkIJK	3.1kKL	3.9ghFG
	200	0I	0Jl	2.3jklIJKL	2.5klKLM	2.7hJH
K	250	0I	0Jl	0.6lmKL	0.6mnN	0.6klIJ
	50	0I	0Jl	3.2ijIJ	3.5kJK	4.8gF
	100	0I	0Jl	1.1lmJKL	1.3lmnMN	1.9ijkGHIJ
	150	0I	0Jl	0.4lML	0.6mnN	1.1jklHIJ
	200	0I	0Jl	0.6lmKL	1.5lmLMN	2.1ijlHI
Zn	250	0I	0Jl	0.4lML	0.6mnN	1.9ijkGHIJ
	50	0I	0Jl	1.3klmJKL	1.7lmLMN	1.7jklHIJ
	100	0I	0Jl	0.8lmJKL	1.3lmnMN	2.3jGHI
	150	0I	0Jl	0mL	0nN	0.6klIJ
	200	0I	0Jl	0mL	0nN	0IJ
Cu	250	0I	0Jl	0mL	0nN	0IJ
	50	0I	11.5gG	12.3hH	25I	50dD
	100	5hH	16.5fF	25eEF	58.6fF	75.4cC
	150	12.5eE	37.9cC	50cC	72.3eE	100aA
	200	25.4bB	63.3bB	75bB	87.3cC	100aA
	250	50.6aA	85.5aA	95aA	100aA	100aA

3 讨论

在果实储藏加工过程中,李宝江认为苹果贮藏品质与果实Ca、K含量呈正相关,与Mn、Cu含量呈负相关,并且发现富士苹果中Ca、K含量很高,Mn、Cu含量低,褐变低,耐藏性很好。在研究水心病与Ca的关系时,有报告认为患病果Ca含量明显低于健康果。杨增军认为采后浸Ca能明显增加雪梨果肉Ca含量,使其在一定贮藏期内能抑制果肉褐变的发生。龚云池等认为梨果肉中Ca含量越高,黑心病愈轻或不感病,N/Ca值越大,黑心病显著加重。但对抑制富士苹果果肉褐变来说,Ca含量是否越高越好或N/Ca比值越小越好,尚需进一步探讨^[8]。土施钙、锌能明显抑制蜜桃果肉褐变^[9]。郁志芳等人也发现,Zn能明显的抑制鲜切山药酶促褐变^[10]。在植物组织培养过程中,梅兴国发现Cu的细微增加便可加重红豆杉在继代培养过程中的褐变^[6]。

本试验在对蝴蝶兰的研究中,Cu和Fe对外植体褐化影

大花萱草—金娃娃组培苗继代增殖因素的研究

路 光,王 岩,涂传炜

(吉林省长春市园林科学研究所,130062)

中图分类号:S682.1⁺9;S603.6 文献标识码:B 文章编号:1001-0009(2006)06-00139-02

大花萱草金娃娃为百合科(Liliaceae)萱草属(Hemerocallis L.)多年生草本植物。是从多倍体萱草(Hemerocallis fulva Var. flore pleno)后代中选育出的矮生优良品种^[1]。其花色金黄艳丽宜人。萌芽早、枯黄晚。6月初开花,可持续到10月上旬,花期长达4个月。具有抗寒、抗旱、抗病虫害、耐盐碱、花期长和绿色期长等特点,是优秀的园林绿化新材料。

金娃娃结实率低,种子萌芽率低,利用植物组织培养微繁殖技术是解决多倍体萱草金娃娃种苗大量繁殖的最有效途径。大花萱草金娃娃组培苗增殖与继代培养是组培微繁殖的关键技术。因此我们对影响金娃娃组培苗增殖与继代培养的因素进行了研究与探讨。

1 材料与方法

1.1 试验材料

金娃娃(Stelladaoro)试材取自长春市园林科学研究所花卉研究室实验基地。该品种是长春市园林科学研究所2001年从沈阳市农科院引入。试验时间为2002年6月至2004年4月末。试验地点在长春市园林科学研究所实验室。采用MS为基本培养基,pH5.8,除了研究光照和温度对组培苗的影响外,其他试验处理中的培养温度为22~24℃,光照强度1200~1600 Lx,每天光照时间12~14 h,光源为白色日光灯管。

1.2 试验设计与方法

收稿日期:2006-08-20

响也最大,伤害最严重,加重褐化的发生,这与前人的研究结果一致;通过本试验发现,Zn、K和Ca能一定程度减轻褐化的发生,三种元素Zn处理的褐化指数最低。但在这三种矿质元素中,除Ca以外,其他两处理的外植体都出现不同程度的失绿,所以在培养过程中,培养基中减少Cu和Fe的含量,适当增加Zn、K和Ca的含量可以减轻褐变。

参考文献:

- [1] 周志宏,梁小敏,吴森生.蝴蝶兰试管生根试验研究[J].江西园艺,2003,(4):37-38.
- [2] Hildebrandt V, Hamey PM. Factor affecting the release of phenolic exudates from explant of Pelargonium hortorum Bailey 'Sprinter Scarlet'. J. Hort Sci,1998,63(4):651-657.
- [3] Loomis WD, Battaile J. Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. Phytochem,1966,5:423-438.

1.2.1 光照强度 设置4种光照强度,黑暗(0 Lx)、500、1000、2000 Lx,测量的光强以瓶顶为准。将诱导的丛生芽适当分割,转接到继代培养基中。继代培养均用MS+BA 1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L,蔗糖30 g/L,琼脂6.5 g/L,其他条件与前期培养相同。每个处理接种10瓶,每瓶4株,30 d后调查。

1.2.2 蔗糖和琼脂 试验所用的培养基为MS+BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L,蔗糖用食用糖代替,浓度为:10,20,30,40 mg/L;琼脂浓度为:6,8,10 mg/L。采用拉丁方试验设计,以上各试验继代培养2~3次,每个处理接种10瓶,每瓶3株。

1.2.3 低温保存 转接分化的不定芽苗20瓶,每瓶3株接于MS+BA1.0+NAA0.1 mg/L中。取其中10瓶,在0~4℃冰箱内保存,30 d后取出,在培养室内培养,蔗糖30 g/L、琼脂6.5 g/L,另外10瓶作为对照,30 d后进行正常继代培养,然后与冰箱内保存材料,共同放置在培养室内培养,30 d后调查记录。

2 结果与分析

2.1 光照强度对芽增殖的影响

光照是植物生长过程中不可缺少的因素,光照强度是指在特定的时间内植物所接触到的光能的量,光强对光合作用的影响最大^[2]。本试验结果表明(表1),增殖系数与光照强度变化有密切关系。当光照强度为0 Lx时,增殖系数为1.5,光照强度2000 Lx时,增殖系数为3.0,增加了100%;光照

[4] 周俊辉,周家容,曾浩森.园艺植物组织培养中的褐化现象及抗褐化研究进展[J].园艺学报,2002,27(增刊):481-486.

[5] 张妙霞,孔祥生,郭秀璞,等.柿树组织培养防止外植体褐变的实验[J].河南农业大学学报,1999,33(1):87-91.

[6] 梅兴国,董妍玲,潘学武.红豆杉细胞继代培养防褐变措施的研究[J].天然产物研究与开发,2001,(13):8-12.

[7] 顾之中,江绍玫.水稻愈伤组织发生褐变的影响因素研究[J].江西农业大学学报,1992,14(3):206-211.

[8] 寇莉苹,刘兴华,薛惠岚.富士苹果果肉褐变研究现状[J].西北农林科技大学学报(自然科学版)增刊,2001,29(1).

[9] 丁学义,黄林生.钙锌硼抑制油桃果肉褐变的效应[J].中国果树,1997,(3):28-29.

[10] 郁志芳,彭贵霞,夏志华.鲜切山药酶促褐变机理的研究[J].食品科学,2003,(24):44-50.