

刘桂伶,宋 平,杨瑞华,等. 蓝靛果忍冬抗氧化性能分析及组培体系建立[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):160-162.

蓝靛果忍冬抗氧化性能分析及组培体系建立

刘桂伶¹, 宋 平¹, 杨瑞华², 闫绍鹏¹

(1. 东北林业大学, 黑龙江哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省农业科学院园艺分院, 黑龙江哈尔滨 150060)

摘要:从 5 个不同品种蓝靛果忍冬 (*Lonicera edulis* Turcz.) 果实中提取酚类物质, 利用分光光度法进行抗氧化性能分析, 并对抗氧化性综合指标最高的品种建立组织培养体系。结果表明, 不同品种的蓝靛果忍冬果实中酚类物质对各种氧化自由基均有不同程度的清除能力, 其中选育品种 C0307 抗氧化能力最强。取蓝靛果忍冬的枝条进行水培, 长出的新芽作为外植体, 根据芽的分化率确定诱导形成愈伤组织最佳培养基与激素配比为 1/2MS + 0.2 mg/L IBA + 3.0 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L NAA, 芽分化率为 85%。

关键词:蓝靛果忍冬; 抗氧化性能; 组织培养; 酚类物质; 愈伤组织; 外植体

中图分类号: Q943.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0160-02

蓝靛果忍冬 (*Lonicera edulis*) 别称蓝靛果、蓝果忍冬, 是忍冬科忍冬属多年生落叶小灌木, 主要分布在我国东北 (吉林省长白山、黑龙江省大兴安岭东部山区以及内蒙古自治区)、华北、西北、西南 (四川省) 等地, 此外, 俄罗斯远东地区、日本及朝鲜北部等地也都有分布^[1]。蓝靛果忍冬具有较强的抗寒能力, 适应性好, 生命力强, 果实有很高的营养价值、保健价值, 是天然抗氧化剂的良好资源^[2]。本研究对不同品种蓝靛果忍冬果实的抗氧化性能进行分析, 建立了其优良品种组织培养体系, 以为开发利用蓝靛果忍冬资源提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2012 年 3 月从黑龙江省农业科学院园艺分院浆果园采集了野生品种 W0101 以及选育品种 C0102、C0305、C0307、C0407 等 5 个蓝靛果忍冬品种的枝条及果实。

1.2 方法

1.2.1 蓝靛果忍冬果实抗氧化性能测定 采用乙醇浸提法从 5 个蓝靛果品种的冻存果实中提取酚类物质, 参照徐建国等的方法^[3], 采用水杨酸钠络合法测定羟自由基清除能力。参照 Binsan 等的方法^[4], 测定 ABTS 自由基的清除能力。参照郭艳华等的方法^[5], 采用邻苯三酚自氧化法测定超氧阴离子清除能力。参照张建民等的方法^[6], 测定 DPPH· 的清除能力。羟自由基、ABTS 自由基、超氧阴离子自由基、DPPH· 清除率计算公式如下:

$$C = [1 - (D_1 - D_2) / D_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中: C 为自由基清除率; D_0 为未加果实酚类物质提取液的吸光度; D_1 为加入果实酚类物质提取液的吸光度; D_2 为空白试剂的吸光度。每个试样重复 3 次, 取平均值。

1.2.2 外植体的选择及材料灭菌 选取抗氧化性能较强的蓝靛果忍冬选育品种 C0307 为材料建立组培体系。将蓝靛果忍冬 C0307 枝条插在水中培养, 以萌发的嫩芽为外植体。将萌发芽用无菌水浸泡 3~5 min, 70% 乙醇冲洗 10 s, 无菌水冲洗 6 次, 0.1% $HgCl_2$ 浸泡 5 min, 无菌水冲洗 8~10 次, 用滤纸吸干多余水分。

1.2.3 组织培养体系的建立

1.2.3.1 诱导培养基的筛选 将经过表面消毒的外植体分别接种到 MS、1/2MS、WPM 培养基上, 用于诱导分化愈伤组织及继代培养^[7]。在培养基中分别添加不同浓度的 6-BA、NAA、IBA (表 1), 每处理重复 3 次, 每次重复接种 30 瓶, 30 d 后统计各处理蓝靛果忍冬芽的分化率, 并观察生长情况。

表 1 蓝靛果忍冬诱导培养基正交试验因素水平

水平	A: 培养基	B: IBA 浓度 (mg/L)	C: 6-BA 浓度 (mg/L)	D: NAA 浓度 (mg/L)
1	MS	0.1	1.0	0.05
2	1/2MS	0.2	2.0	0.10
3	WPM	0.3	3.0	0.15

1.2.3.2 生根培养 以 WPM + NAA 0.5 mg/L 为蓝靛果忍冬的生根培养基, 移栽前将试管苗放于温室中, 打开瓶口, 逐渐降低温度, 并逐渐增加光强, 随后移栽。

1.3 数据统计

采用 DPS7.05 软件进行方差分析及多重比较。

2 结果与分析

2.1 蓝靛果忍冬果实抗氧化性能

具有氧化性自由基的物质在特定波长处有最大吸收峰, 多酚类物质可以清除自由基, 从而使其在特定波长处的吸光度发生变化。因此, 可以通过测定吸光度来反映多酚类物质对自由基的清除能力, 进而测定蓝靛果忍冬果实中酚类物质的抗氧化能力。从表 2 可以看出, 不同品种的蓝靛果忍冬果实中的酚类物质均能一定程度上削弱邻苯三酚的自氧化, 对超氧阴离子都有一定的清除作用, 其中野生型品种 W0101、选育品种 C0370 对超氧阴离子清除能力较强, 清除率分别达

收稿日期: 2014-05-04

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (编号: 201103037)。

作者简介: 刘桂伶 (1990—), 女, 硕士, 从事园林植物研究。E-mail: 178571886@qq.com。

通信作者: 闫绍鹏, 博士, 高级工程师, 从事遗传育种研究。E-mail: ysp_4@126.com。

到 37.14%、31.48%。选育品种 C0307、野生型品种 W0101 对羟自由基清除能力也较强,清除率分别为 44.44%、39.07%。野生型品种 W0101、选育品种 C0307 对 DPPH·清除能力较强,清除率均达到 50% 以上;选育品种 C0102 对 DPPH·清除能力次之;选育品种 0305 对 DPPH·清除能力最弱。将蓝靛果忍冬冻存果实酚类物质提取液加入 DPPH·溶液中,DPPH·混合液的颜色逐渐变浅,颜色越浅意味着对 DPPH·清除能力越强。ABTS 是抗氧化试验中常用的自由基,不同品种蓝靛果忍冬冻存果实酚类物质提取液对 ABTS 自由基的抑制作用均在 50% 左右,选育品种 C0305、C0307 对 ABTS 自由基清除能力较强,清除率分别为 51.77%、50.36%。

表 2 不同品种蓝靛果忍冬果实抗氧化性

品种	清除率(%)			
	超氧阴离子	羟自由基	DPPH·	ABTS 自由基
W0101	37.14±0.79d	39.07±1.09c	50.21±2.34d	45.02±2.05a
C0402	20.72±1.04a	33.54±2.34a	40.25±0.87b	47.78±1.92b
C0102	24.24±2.39b	37.05±2.01b	48.55±1.98c	40.81±3.05a
C0307	31.48±3.21a	44.44±0.98d	51.94±2.03d	50.36±2.85c
C0305	28.99±1.03c	33.66±1.67a	33.47±1.03a	51.77±1.63c

注:同列数据后不同字母表示差异显著(P<0.05)。

2.2 蓝靛果忍冬组培体系建立

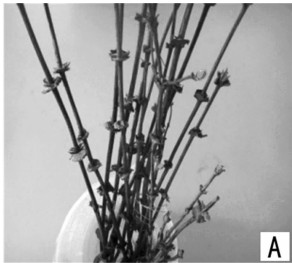
2.2.1 基本培养基及激素配比对于外植体诱导分化的影响
由表 3 可知,在其他组分条件相同、培养基条件不同的情况下,4~6 组分化率大于 1~3、7~9 组,说明 1/2 MS 培养基比 MS 培养基、WPM 培养基诱导分化形成愈伤组织效果好。在

培养基一致情况下,5 组的分化率最高,达 85%,增殖倍数为 7.8 倍,表明 1/2MS + 0.2 mg/L IBA + 3.0 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L NAA 诱导分化形成愈伤组织效果好,确定此为最佳诱导分化的培养基与激素配比。

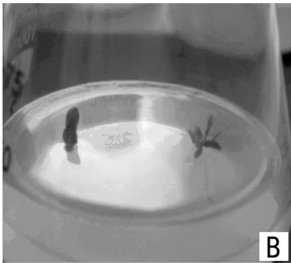
表 3 蓝靛果忍冬诱导分化培养试验

处理	培养基	IBA 浓度 (mg/L)	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	平均分化数 (个)	平均分化率 (%)	平均增殖倍数
1	MS	0.1	1.0	0.05	19.0	63.3	1.9
2	MS	0.2	2.0	0.10	21.9	73.0	2.1
3	MS	0.3	3.0	0.15	21.6	72.2	3.9
4	1/2MS	0.1	2.0	0.15	22.0	73.3	4.6
5	1/2MS	0.2	3.0	0.05	25.5	85.0	7.8
6	1/2MS	0.3	1.0	0.10	22.5	75.0	5.5
7	WPM	0.1	3.0	0.10	21.3	71.0	4.2
8	WPM	0.2	1.0	0.15	20.6	68.7	2.3
9	WPM	0.3	2.0	0.05	21.6	72.2	3.6

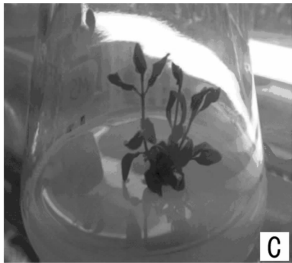
2.2.2 生根培养 当苗高 1.5~2.0 cm 时,切取单芽分别转接于生根培养基进行培养,培养 20 d 左右开始长出浅绿色的根,生根率达 95% 以上,说明控制蓝靛果忍冬试管苗生根的主要因素是 NAA,且 NAA 浓度为 0.5 mg/L 时,植株生根状况最好。由于根粗壮、生根数少,生根状况好的苗木较易成活,因此选择培养基 1/2MS + NAA 0.5 mg/L 为蓝靛果忍冬的生根培养基。图 1 为选育品种 C0307 蓝靛果忍冬的组培体系建立过程。



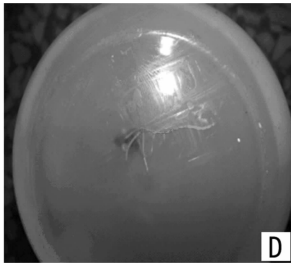
蓝靛果忍冬枝条水培



蓝靛果忍冬新芽接种到培养基



蓝靛果忍冬继代培养



蓝靛果忍冬生根培养

图1 蓝靛果忍冬组培过程

3 结论与讨论

不同品种的蓝靛果忍冬果实中酚类物质对各种自由基的清除能力不同。野生型品种 W0101、选育品种 C0370 对超氧阴离子清除能力较强,清除率分别达到 37.14%、31.48%。选育品种 C0307、野生型品种 W0101 对羟自由基清除能力也较强,清除率分别为 44.44%、39.07%。野生型品种 W0101、选育品种 C0307 对 DPPH·清除能力较强,清除率均达到 50% 以上;选育品种 C0102 对 DPPH·清除能力次之;选育品种 0305 对 DPPH·清除能力最弱。综合以上各项指标,确定选择选育品种 C0307 进行蓝靛果忍冬组培体系建立。根据芽分化率确定诱导形成愈伤组织最佳培养基与激素配比为 1/2MS + 0.2 mg/L IBA + 3.0 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L NAA,芽分化率为 85%。用 1/2MS + 0.5 mg/L NAA 作为蓝靛果忍冬的生根培养基,生根效果较好。

参考文献:

[1]周以良,董世林,聂绍荃. 黑龙江树木志[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1986:525.
[2]Wang H C, Prior R L. Total antioxidant capacity of fruits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44(3): 701-705.
[3]徐建国,胡青平. 决明子水提物体外清除自由基活性的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 73-76.
[4]Binsan W, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Antioxidative activity of Mungoong, an extract paste, from the cephalothorax of white shrimp (Litopenaeus vannamei)[J]. Food Chemistry, 2008, 106(1): 185-193.
[5]郭艳华,胡思前. 荸荠皮提取物的抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(10): 128-130.
[6]张建民,肖小年,易醒,等. 车前草可溶性膳食纤维的提取及其对自由基清除能力的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(4): 667-670.
[7]李桂君,李艳霞,卢慧颖,等. 俄罗斯耐寒蓝靛果忍冬组织培养技术研究[J]. 林业科技, 2012, 37(4): 4-6.

姚 岚,周 军,崔怀飞. 沙家浜湿地公园景观规划设计分析[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):162-167.

沙家浜湿地公园景观规划设计分析

姚 岚,周 军,崔怀飞

(苏州农业职业技术学院,江苏苏州 215008)

摘要:沙家浜湿地公园坚持绿色可持续发展的理念,合理规划功能与景观分区,彰显湿地景观的地域文化特色,形成了独特的芦苇荡风光湿地景观格局与“幽、野、秀、古”的景观风貌,创造了生态系统稳定、旅游特色鲜明、人与自然和谐相处的湿地环境。同时,根据功能定位和现场条件,因地制宜地设置休憩娱乐和科普教育项目,保证该公园真正发挥对湿地资源的有效保护和合理利用的作用。

关键词:沙家浜湿地公园;景观规划;生态保护

中图分类号: TU986.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0162-06

沙家浜国家湿地公园位于江苏省常熟市沙家浜镇,地处北亚热带沿海区域,季风气候明显,四季分明,日照充足,空气湿润,雨热同期。全年平均气温为 15.4℃,平均日照数为 2 130.2 h,平均降水量为 1 052.3 mm,全年平均雨日(日降水量 0.1 mm)为 127 d,全年平均无霜期 242 d。该公园始建于 1999 年,属于淡水沼泽地,初占地约 66.7 hm²,公园内大部分是水面,水网稠密,地势低洼,湖荡密布,湖荡水深多在 1~3 m,水浅处芦苇丛生,随风摇曳,自然风景极佳,素有“江南水乡”之称。沙家浜镇在抗日战争时期是新四军开展水乡游击战的重要场所,是新四军伤病员疗伤养病的“后方医院”,因而湿地公园先后被评为“全国爱国主义教育示范基地”“全国百家红色旅游经典景区”。2009 年,湿地公园逐渐向东、向北扩张,其中东扩工程占地 80 hm²,北扩工程占地 266.7 hm²,皆以水面为主,使公园总面积达 345 hm²,成为华东地区较大的生态湿地公园之一。2009 年 12 月,该公园被国家林业局批复为“国家湿地公园(试点)单位”;2013 年 10 月,正式被国家林业局授予“国家湿地公园”称号。

1 景观总体规划

1.1 规划理念与目标

沙家浜湿地公园根据自然状况和地理现状,坚持湿地资源保护、可持续发展与协调发展的理念,综合运用生态学和景观学基本理论,以“生态绿肺、栖息天堂、芦苇火种、田园风光、水乡记忆”为主题,努力创造生态系统稳定、旅游特色鲜明、人与自然和谐相处的湿地环境,实现现代城市空间与湿地公园协调发展,景观生态系统与历史人文景观资源自然过渡,形成鲜明独特的芦苇荡风光湿地景观格局与“幽、野、秀、古”的景观风貌,打造一个集生态资源保护与开发、科学研究与科

普教育、文化传承与旅游休闲等功能于一体的、十分典型的生态型国家城市湿地公园。

1.2 规划思路与原则

以“生态优先、科学修复、适度开放、合理利用”为原则,协调规划区域内部与外部生态系统的有机联系,注重整理场地肌理,强化场地水陆相依的自然地形结构骨架,大力营造稳定的生态群落,建立健全不同层次的沙家浜生态系统,完善区域生态结构,增强物种的多样性,保证资源的可持续发展与湿地各项功能的发挥;坚持湿地景观多样性,大力创造沼、泽、滩、湖、溪等多样的湿地景观;协调景源之间的发展关系,自然景观与人文景观互为补充;错位发掘其历史人文渊源,延续继承沙家浜历史文化脉络,利用沙家浜资源优势塑造特色环境,强调空间和景观的乡土性、趣味性、艺术性;充分发挥湿地公园的科普功能,注重现代科技应用,借助科技手段和先进设备,通过构思沙家浜新颖的现代景观与自然环境的有机结合,创造全新的具有科技含量的景观,体现时代特征。

1.3 功能分区

城市湿地公园对城市公众具有较强的吸引力,除具有生态环境保护、游憩等基本功能外,还具有其他类型公园所不具有的优点。一方面具有自然生态特质,蕴含自然特色浓郁、景观丰富多样、生物多样性丰富、生态效益显著、功能复合全面特性,另一方面具有社会效益特质,蕴含游憩活动性质明确、历史文化内涵丰富和教育功能突出以及经济效益特性^[1]。因此,沙家浜在规划理念的指导下,充分考虑自然生态与旅游文化开发的需要,将湿地公园划分六大功能区域,即湿地保护保育区、水绿植被恢复区、宣传教育展示区、革命文化传承区、拓展休闲游览区、绿色服务接待区(图 1)。

1.3.1 湿地保护保育区 该区位于湿地公园的东扩区域以及部分北扩区域,是沙家浜湿地完整呈现的生态区域。在保护基地原有自然生态系统的基础上,种植大片的多样林地,建立完善的湿地构架生态系统结构。该区东部保证成规模的滩湿地的存在,为鸟类提供良好的栖息环境,结合沙家浜数十种鸟类的栖息,成为沙家浜湿地公园的鸟类天堂。西部结合浅滩湿地局部设置栈道、棚架,提供观鸟设施、构筑,成为一处科普观鸟基地,同时也是湿地科普、水生生物科普以及水体环境科普等的基地。

收稿日期:2014-04-10

基金项目:江苏省大学生创新创业训练计划(编号:201312808010Y);苏州农业职业技术学院青年提升计划(编号:PPN201313)。

作者简介:姚 岚(1980—),女,江苏苏州人,硕士,工程师、农艺师、讲师,从事风景园林、城市园林规划设计研究及教学工作。
E-mail:30314691@qq.com。