

李雨晴,杨嘉伟,王康才,等.白芨种子无菌萌发特性[J].江苏农业科学,2015,43(4):253-255.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.092

白芨种子无菌萌发特性

李雨晴,杨嘉伟,王康才,梁永富,陈红丽,徐益祥,夏天爽

(南京农业大学园艺学院,江苏南京 210095)

摘要:为探讨白芨 [*B. striata* (Thunb.) Teichb. f.] 种子无菌萌发适宜条件,采用 1/2 MS、MS 添加不同激素、生物添加剂,以及光暗处理进行白芨种子萌发试验。结果表明:1/2 MS + 1.0 mg/L NAA + 1.6 mg/L 6-BA 有利于种子萌发;1/2 MS + 30 g/L 蔗糖 + 20% 椰汁有利于诱导原球茎;暗培养降低白芨种子萌发率,白芨种子萌发后,其幼苗在光照条件下生长缓慢。

关键词:白芨;无菌萌发;发芽势;

中图分类号: S567.23+9.04 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0253-02

白芨 [*Bletilla striata* (Thunb.) Teichb. f.] 为兰科白芨属多年生草本植物,以干燥块茎入药,性微寒,味苦、甘、涩,具有补肺、止血、散风除湿、通窍止痛、消肿排脓、生肌、敛疮等功效,主治咳血吐血、外伤出血、疮疡肿毒、皮肤皲裂、肺结核咳血、溃疡病出血等症^[1]。白芨种子细小、无胚,在野生条件下很难萌发。人工采挖导致白芨野生资源紧缺,迫切需要进行人工栽培。白芨蒴果包含上万粒种子,利用组织培养技术对白芨进行无菌萌发,可以提高其萌发率,得到大量组培苗,是解决传统分株繁殖效率低的重要手段^[2-5]。为进一步优化白芨种子的发芽条件,本研究探讨白芨无菌萌发条件及幼苗生长特性,以期对白芨快速繁殖提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

白芨于 2013 年 8 月采自南京农业大学中药材试验大棚,经南京农业大学中药材研究所王康才教授鉴定为白芨的蒴果。

1.2 方法

白芨蒴果采集后,先用洗涤剂漂洗蒴果表面,再用流水冲洗 30 min。在超净工作台上用 75% 乙醇浸洗 30 s,无菌水冲洗后经 HgCl₂ 消毒 15 min,其间不停摇动,无菌水冲洗 3~4 遍,用无菌滤纸吸干白芨蒴果表面水分。蒴果纵剖,将种子均匀抖落在培养基表面。基本培养基为 1/2 MS,均添加蔗糖 30 g/L、琼脂粉 6 g/L (除特殊说明而外)。培养基灭菌前加入不同生物添加剂 (马铃薯提取液、椰汁) 以及不同浓度激素 (NAA, 6-BA), 设置 5×5 完全随机区组。培养基高温灭菌前调节 pH 值至 5.6, 121 ℃ 下灭菌 30 min, 每处理接种 5 瓶, 每瓶 300~400 粒种子。暗培养以黑暗条件下培养 30 d 后置于

光下,其余处理为 12 h/12 h 光暗培养,照度 2 000~2 500 lx,培养温度均为 (25±1) ℃。统计各处理白芨种子发芽率、发芽势,原球茎诱导率及株高。发芽势以培养 20 d 时的萌发率计,幼苗株高以培养 50 d 时计。

1.3 数据分析

用 SPSS 软件处理数据。

2 结果与分析

2.1 不同处理下白芨种子萌发、幼苗发育过程

白芨种子接种至各不同培养基上 1 周后开始膨大,颜色由灰白转绿。2 周后可见叶芽从膨大的种胚一端顶出,添加高浓度激素的培养基上叶芽粗壮。3 周后,叶芽变绿。数周后叶片展开。添加椰汁的培养基上叶芽生长缓慢,种胚持续膨大形成原球茎。培养 50 d,原球茎诱导率分别达 87.3%、92.3%,未见叶片展开 (图 1)。培养 60 d,添加激素的培养基中白芨幼苗茎基粗壮,叶片向上展开,未见生根。1/2 MS 培养基上白芨叶片自基部展开,叶片向四周展开,叶尖微垂,少数植株生根。暗培养白芨种子萌发率低,种胚膨大后不形成原球茎,直接萌发为细弱的幼苗;幼苗移至光下后,生长十分缓慢。

2.2 基本培养基、生物添加剂及光周期对白芨种子萌发的影响

由表 1 可见,培养 40 d,除暗培养处理外,各培养基上白芨种子发芽率均可达到 90% 以上。与 1/2 MS 相比,添加 1.0 mg/L NAA 能明显提高白芨种子发芽率并促进幼苗生长。以 1/2 MS 为基本培养基时,白芨种子发芽势高,生活力更旺盛。以 MS 为基本培养基有利于提高白芨幼苗株高,促进其生长。马铃薯提取液对白芨萌发促进作用较小,甚至抑制了幼苗的生长。

2.3 激素对白芨种子无菌萌发的影响

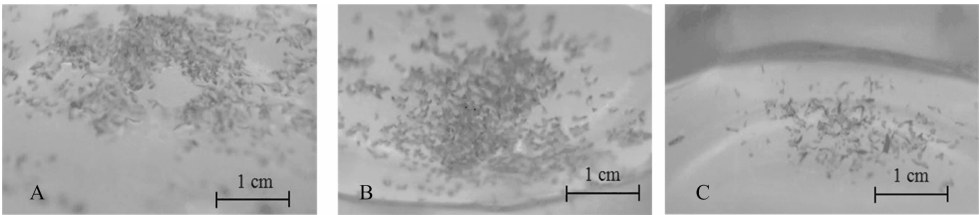
不同浓度激素处理对白芨种子萌发有显著影响。添加 1.0 mg/L NAA、1.6 mg/L 6-BA 的培养基上,白芨种子发芽势较高 (94.4%),幼苗株高达 1.190 cm;添加 0.2 mg/L NAA 及 1.2 mg/L 6-BA 的培养基上,白芨种子发芽势最低 (18.6%),幼苗较矮 (0.104 cm) (表 2、表 3)。

收稿日期:2014-05-22

基金项目:江苏省镇江市农业项目 (编号: R0201100292)。

作者简介:李雨晴 (1991—),女,硕士研究生,主要从事药用植物栽培与生理研究。E-mail: 2013804133@njau.edu.cn。

通信作者:王康才,教授,主要从事药用植物栽培与生理研究。E-mail: wangkc@njau.edu.cn。



A—1/2 MS+20%椰汁；B—1/2 MS+30 g/L 蔗糖+20%椰汁；C—1/2 MS

图1 椰汁对白芡种子诱导原球茎的影响

表 1 不同处理对白芡种子萌发的影响

培养基	发芽率(%)			株高 (cm)
	20 d	30 d	40 d	
1/2 MS + 1.0 mg/L NAA	88.2 ± 1.924ab	95.4 ± 1.673a	97.0 ± 2.449a	0.348 ± 0.015b
MS + 1.0 mg/L NAA	78.4 ± 2.074c	96.6 ± 3.209a	97.6 ± 1.140a	0.398 ± 0.016a
1/2 MS + 马铃薯提取液	65.0 ± 1.581d	83.4 ± 2.510b	91.4 ± 1.140b	0.252 ± 0.036c
1/2 MS + 20% 椰汁	86.6 ± 2.702b	96.8 ± 1.304a	97.6 ± 1.517a	0.206 ± 0.021d
1/2 MS + 30 g/L 蔗糖 + 20% 椰汁	89.8 ± 1.304a	95.6 ± 1.517a	96.2 ± 2.168a	0.352 ± 0.041b
1/2 MS 暗培养	27.4 ± 1.817f	45.8 ± 1.095d	46.4 ± 3.435c	0.112 ± 0.013e
1/2 MS	60.8 ± 1.924e	79.4 ± 3.715c	90.2 ± 0.837b	0.368 ± 0.036ab

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

表 2 不同激素对白芡种子发芽势的影响

6-BA 浓度 (mg/L)	发芽势(%)				
	NAA 浓度 0.2 mg/L	NAA 浓度 0.4 mg/L	NAA 浓度 0.6 mg/L	NAA 浓度 0.8 mg/L	NAA 浓度 1.0 mg/L
0.4	44.2 ± 4.970k	60.2 ± 3.421i	42.0 ± 3.606k	81.2 ± 6.496cd	87.2 ± 3.563b
0.8	35.2 ± 4.764l	42.2 ± 3.271k	53.0 ± 4.301j	71.2 ± 4.970fg	82.0 ± 2.828cd
1.2	18.6 ± 1.517n	24.6 ± 2.302m	31.2 ± 1.483l	44.4 ± 2.074k	59.6 ± 2.966i
1.6	74.6 ± 2.702f	79.8 ± 2.774de	84.6 ± 3.782bc	89.0 ± 2.915b	94.4 ± 1.673a
2.0	64.8 ± 2.280h	69.8 ± 2.775g	75.6 ± 2.966ef	73.0 ± 3.240fg	79.6 ± 5.030de

注:所有数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

表 3 不同激素对白芡幼苗株高的影响

6-BA 浓度 (mg/L)	株高(cm)				
	NAA 浓度 0.2 mg/L	NAA 浓度 0.4 mg/L	NAA 浓度 0.6 mg/L	NAA 浓度 0.8 mg/L	NAA 浓度 1.0 mg/L
0.4	0.094 ± 0.038j	0.232 ± 0.029ghi	0.386 ± 0.058f	0.436 ± 0.047f	1.050 ± 0.156b
0.8	0.296 ± 0.028g	0.312 ± 0.038g	0.392 ± 0.071f	0.448 ± 0.048f	0.812 ± 0.061d
1.2	0.104 ± 0.011j	0.198 ± 0.037i	0.292 ± 0.026gh	0.712 ± 0.037e	0.874 ± 0.113d
1.6	0.212 ± 0.026hi	0.242 ± 0.038ghi	0.272 ± 0.029ghi	0.970 ± 0.051c	1.190 ± 0.042a
2.0	0.242 ± 0.018ghi	0.402 ± 0.026f	0.806 ± 0.111d	0.834 ± 0.043d	1.000 ± 0.066bc

注:所有数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.4 不同激素对白芡萌发影响的多重比较

由表 4 可知,白芡种子发芽势、幼苗株高在一定范围内随着 6-BA、NAA 浓度的增大而升高。6-BA 浓度达 1.6 mg/L 时,白芡种子发芽势最大。与添加 NAA 的培养基相比,添加 6-BA 白芡种子发芽势极差较高,但幼苗株高极差偏低,表明 NAA 对白芡种子发芽势影响较 6-BA 小,但对幼苗生长促进作用较强。

3 结论与讨论

兰科植物种子细小,成熟时种皮细胞质、细胞器退化消失,成为死细胞^[6]。胚发育不完全,缺乏供给营养成分的胚乳,自然条件下难以萌发。白芡为陆生兰类,陆生兰为适应其生长环境,其种子具有厚种皮及含有抑制萌发的物质性质^[7],其种子发芽较气生兰更困难。无菌培养白芡种子,必须提供其萌发所需的各种物质,椰汁、马铃薯提取液等生物添加剂能提高发芽率、发芽速度^[6],这与本研究结果基本相符。本试验发现,椰汁能诱导白芡种子直接形成原球茎,且抑制幼苗生

表 4 6-BA、NAA 浓度对白芡萌发的影响

激素	浓度(mg/L)	发芽势(%)	株高(cm)
6-BA	0.4	62.96 ± 19.379c	0.435 ± 0.347b
	0.8	56.72 ± 18.281d	0.452 ± 0.198b
	1.2	35.68 ± 15.146e	0.436 ± 0.312b
	1.6	84.48 ± 7.512a	0.577 ± 0.427a
	2.0	72.56 ± 6.001b	0.657 ± 0.297a
	极差	48.80 百分点	0.222
NAA	0.2	47.48 ± 20.821d	0.185 ± 0.089e
	0.4	55.32 ± 20.326c	0.277 ± 0.080d
	0.6	57.28 ± 20.713c	0.430 ± 0.207c
	0.8	71.76 ± 15.870b	0.680 ± 0.219b
	1.0	80.56 ± 12.282a	0.985 ± 0.162a
	极差	33.08 百分点	0.800

注:同一激素处理同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

长,这可能与椰汁含有的激素种类和浓度有关。生长素、细胞分裂素在种子萌发过程中起着重要作用,尤以后者作用更为明显^[8]。本研究发现,6-BA 对白芡种子发芽的促进作用较 NAA 更为明显,这与前人研究相符。MS是成分比较完全的

王 英,梁红云,黄自苏,等. 储存过程中黑莓果酒品质变化及相关性分析[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):255-257.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.093

储存过程中黑莓果酒品质变化及相关性分析

王 英,梁红云,黄自苏,周剑忠,李 清,李 莹,张丽霞

(江苏省农业科学研究院农产品加工研究所,江苏南京 210014)

摘要:研究不同储存时间下黑莓果酒的蛋白质含量、总糖含量、总酚含量以及果酒的澄清度变化情况,并对其品质变化的相关性进行分析。结果表明,随着储存时间的延长,黑莓果酒中蛋白质含量、总酚含量、澄清度显著下降,多糖含量变化不显著;相关性分析结果显示,澄清度的变化与蛋白质和总酚含量的变化成显著正相关,与多糖含量变化的相关性不显著。

关键词:黑莓果酒;品质变化;储存期

中图分类号: TS262.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0255-03

随着人们生活水平的提高及保健意识的增强,以葡萄酒为代表的果酒得到广泛推崇。果酒是以新鲜水果为原料,在保持水果原有营养成分的前提下,利用自然发酵或人工添加酵母菌经发酵酿制出的具有保健功能的营养型酒。黑莓(*Rubus alleghniensis*)果实柔嫩多汁、营养丰富,富含锌、硒等多种矿物质,氨基酸种类齐全,且花色苷、总酚含量较其他浆果高,被誉为第 3 代“黄金水果”,其所含的多酚类化合物可以降低心脏病、癌症及其他慢性病的发生率^[1-2]。黑莓为高酸型水果,有较强的加工属性。澄清度是决定果酒品质的重要指标,也是给消费者的第一印象,澄清透明、颜色清亮的果酒容易吸引消费者。虽然浑浊或带有沉淀的果酒对人体健康

没有影响,但会降低消费者的购买欲,进而影响销售,因此,果酒必须保持较高的澄清度、稳定性^[3]。研究人员把引起果酒沉淀的因素分为生物因素与非生物因素,非生物因素是引起果酒浑浊及沉淀的主要原因,也是技术难点^[4],主要包括蛋白质、酚类物质、多糖等大分子物质及一些小分子物质^[5-8]。本研究探讨黑莓果酒在储藏过程中蛋白质含量、总酚含量、总糖含量、澄清度等指标的变化,并对蛋白质含量、总酚含量、总糖含量变化与澄清度变化的相关性进行研究,旨在为开发利用黑莓资源、提高黑莓的经济附加值提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以储存 0、1、2、3、5、9、12、18、24 个月的黑莓果酒为研究材料,黑莓果酒发酵结束后陈酿 2 个月,经硅藻土过滤后所得,未经澄清剂处理。浓硫酸、蒸馏酚、Folin-酚试剂、无水碳酸钠、考马斯亮蓝 G-250、磷酸、无水乙醇等均为分析纯。UV-1600PC 紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公

收稿日期:2014-05-27

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号: CX(12)5026]。

作者简介:王 英(1978—),女,安徽濉溪人,硕士,助理研究员,主要从事食品生物技术研究。Tel:(025)84391571;E-mail:wy116009@126.com。

培养基,1/2 MS 虽与之成分相同,但大量元素减半。本研究结果表明,1/2 MS 作为种子萌发培养基可以提高其发芽势,猜测高浓度盐离子影响细胞渗透势导致发芽势降低。发芽后应尽快将幼苗转接至 MS 培养基上壮苗,添加激素辅助其幼苗继续生长。光是影响种子萌发的重要因素之一,本研究发现,白芨种子萌发初期需光,暗培养的白芨种子萌发率低,转至光下萌发率未见显著增长,但可在无激素培养基上维持幼苗期长达数月,直至添加激素打破其生长停滞。这一发现对保存白芨种质及人工调控温室白芨苗生长期具有重大意义。综上所述,在 12 h/12 h 光周期下,考虑以 1/2 MS + 1.0 mg/L NAA + 1.6 mg/L 6-BA 为萌发培养基较为适宜;以 1/2 MS + 20% 椰汁为培养基获得白芨原球茎。白芨种子萌芽初期细小,不宜转接,因此对于种子萌发培养基不仅要评价其提高种子活力的能力,而且要考虑其促进幼苗生长的作用。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出

版社,2009.

[2] 周至明,黄程生,彭丽丽,等. 白芨人工种植初步研究[J]. 中药材,2006,29(1):7-8.

[3] 张亦诚. 白芨的生物特性及栽培技术[J]. 农业科技与信息,2007(11):45.

[4] 韩学俭. 白芨药用及其栽培技术[J]. 农村经济与科技,2004,15(10):31-32.

[5] 陆善旦. 白芨种植技术[J]. 农村新技术,2008(19):4-5.

[6] 郭顺星,徐锦堂. 兰科植物种子无菌萌发的研究[J]. 种子,1990(5):36-37,58.

[7] Plant B, Shrestha S, Prandhan S. *In vitro* seed germination and seedling development of *Phaius tancarvilleae* (L'Her.) Blum[J]. Sci World, 2011, 9(9):50-52.

[8] Thompson D I, Edwards T J, Staden J V. Evaluating asymbiotic seed culture methods and establishing *Disa* (Orchidaceae) germinability *in vitro*; relationships, requirements and first-time reports[J]. Plant Growth Regul, 2006, 49(2/3):269-284.