

地涌金莲不同部位外植体多酚氧化酶活性及总酚含量分析

杨凯博¹, 舒清态^{1*}, 侯健华², 朱丹青³

(1. 西南林业大学林学院, 昆明 650224; 2. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 昆明 650233;

3. 昆明市呈贡区农林局, 昆明 650500)

摘要: 通过对比分析地涌金莲原变种与红苞变种外植体 PPO 活性及总酚含量的差异, 为组织培养适宜外植体的选择提供理论依据。结果表明, 地涌金莲原种与红苞变种不同部位总酚含量存在显著差异, 均表现为雄蕊最高, 其中原变种为 $21.42 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 红苞变种为 $20.64 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 且均显著高于其他部位; 红苞变种叶片及叶脉总酚含量分别为 $9.43 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $2.32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 显著高于原变种的 $4.67 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.72 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 而红苞变种雌花子房壁总酚含量为 $4.96 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 显著低于原变种的 $9.44 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 其余 8 个部位的总酚含量在 2 变种间无显著差异; 原变种叶片及叶脉的 PPO 活性分别为 971.5 和 $542.8 (0.01\Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$, 显著高于红苞变种的 277.2 和 $428.5 (0.01\Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$, 其他部位的 PPO 活性两者无显著差异。表明总酚含量及 PPO 活性均较低的花苞片、雄花子房是地涌金莲组织培养较理想外植体材料。

关键词: 地涌金莲; 组织培养; 褐化; 总酚; 多酚氧化酶

中图分类号: Q943.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)03-0487-05

Analysis of dynamic changes of phenols and PPO activity in tissue culture of *Musella lasiocarpa*

YANG Kaibo¹, SHU Qingtai¹, HOU Jianhua², ZHU Danqing³

(1. School of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224;

2. Research Institute of Resource Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650233;

3. Bureau of Agriculture and Forestry, Chenggong District, Kunming 650500)

Abstract: *Musella lasiocarpa*, which belongs to a monotypic genus, is endemic to southwest of China, including Yunnan and Sichuan province. It is a precious wild flower germplasm resource known for its dignified plant type and beautiful inflorescence. The differences in phenol content and PPO activity between explants of *M. lasiocarpa* var. *Lasiocarpa* and its mutant *M. lasiocarpa* var. *Rubribracteata* were quantified in order to provide some theoretical basis for selecting appropriate explants in tissue culture. The results showed that there was a significant difference in total phenol content among different parts of the two varieties, of which the total phenol content in the stamen was the highest with 21.42 and $20.64 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ in *Lasiocarpa* and *Rubribracteata*, respectively. The total phenol content in leaves and veins of *M. lasiocarpa* var. *Rubribracteata* was 9.43 and $2.32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively, which was significantly higher than that in *M. lasiocarpa* var. *Lasiocarpa* (4.67 and $0.72 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, correspondingly). Contrarily, the total phenol content in ovary walls of *M. lasiocarpa* var. *Rubribracteata* ($4.69 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) was significantly lower than that in *Lasiocarpa* ($9.44 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). There was no significant difference among the other eight parts. For the PPO activity, the leaves and veins of *M. lasiocarpa* var. *Lasiocarpa* were 971.5 and $542.8 (0.01\Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$, respectively, which was significantly higher than *Rubribracteata* (277.2 and 428.5 , correspondingly). There was no significant difference among the other parts of the two varieties in the aspect of PPO activity. It is suggested that bracts and male ovary which have relatively low total phenolic content and PPO activity are the ideal explants for tissue culture of *M. lasiocarpa*.

收稿日期: 2016-09-27

基金项目: 国家自然科学基金(31460194)和云南省林学一流学科建设经费共同资助。

作者简介: 杨凯博, 硕士研究生。E-mail: 3860677@163.com

* 通信作者: 舒清态, 博士, 副教授。E-mail: shuqt@163.com

Key words: *Musella lasiocarpa*; tissue culture; browning; total phenolic content; PPO

地涌金莲 (*Musella lasiocarpa*) 是中国特有的单种属植物, 为佛教“五树六花”之一, 具较高观赏价值及文化价值。地涌金莲观赏部位主要为苞片, 原变种苞片为纯黄色^[1], 随着红苞地涌金莲变种 (*M. lasiocarpa* var. *rubribracteata*) 的发现^[2], 红色苞片系列新品种培育已取得突破, 并已开始进行产业化开发^[3-5]。地涌金莲新品种主要采用组织培养方式进行种苗繁殖, 而在组培过程中发现, 在诱导、分化和增殖阶段都会发生严重的褐化现象^[6-8], 愈伤组织分化率极低, 且红苞变种褐化现象比原变种更为严重, 导致组织培养极为困难, 通过添加不同褐化抑制剂也只能使愈伤组织分化率从 3% 左右提高到 17.9%^[9], 严重制约了工厂化生产。

植物组织培养中的酶促褐变主要由多酚氧化酶 (PPO) 等作用于天然底物酚类物质而引起^[10]。外植体是褐化的主体, 是褐化产生的根本因素, 不同生长部位、不同生理状态的外植体材料, 酚类物质的含量及 PPO 的活性亦有所差异^[11-13], 从而导致组织培养中褐化程度也不相同。因此外植体的种类和状态很大程度决定了组培是否出现褐化以及褐化程度。

前人进行的地涌金莲组织培养主要限于吸芽及幼嫩花蕾为外植体, 对外植体多酚氧化酶活性及总酚含量的分析鲜有报道^[14-16]。本研究拟对地涌金莲原变种及红苞变种的叶片、苞片、雄蕊和胚珠等 11 个可能的外植体材料及用花蕾组织培养诱导出的愈伤组织及其分化出的芽等进行 PPO 活性及总酚含量测定, 通过对比分析原种与红苞变种不同部位外植体 PPO 活性及总酚含量的差异, 为组织培养适宜外植体的选择提供理论依据, 为揭示褐化与酚类物质和 PPO 活性的关系提供佐证, 并为其他植物组织培养褐化现象的研究提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为中国林业科学研究院资源昆虫研究所滇中高原试验站种植的地涌金莲原变种和红苞变种。选取立地条件、生长状态均一致, 花苞开放 2~3 轮的原变种和红苞变种各 3 株, 每株为 1 个重复。采取刚展开的第 2 片新叶和整个花苞迅速放置冰盒中, 立即带回实验室。取叶缘至叶中脉中间部位的叶片 (YP), 叶中脉中间处的叶脉 (YM), 未开放的最外层苞片中间部位 (HB), 未开放雌花的子房

壁 (CZ)、胚珠 (CP)、花瓣 (CB) 和花柱 (CT), 最外层雄花 (为功能性雄花, 具雌花结构, 但子房内无胚珠) 的子房 (XZ)、花瓣 (XB)、雄蕊 (XR) 和花柱 (XT)。取材时间为 2014 年 3 月。愈伤组织及分化芽取材于原变种和红苞变种用幼嫩花蕾同步组培的愈伤组织及其分化出的芽各 3 个。取材时间为 2014 年 12 月。

1.2 方法

1.2.1 总酚含量测定 总酚含量的测定采用 Folin-Cioaltea 比色法, 参照李静等^[17]测定水果中总酚含量的方法。

1.2.2 PPO 活性测定 PPO 活性测定采用比色法, 参照朱广廉等^[18]的方法。

2 结果与分析

2.1 外植体总酚含量差异分析

从同一变种不同部位的总酚含量 (表 1) 来看, 原变种总酚含量变幅为 0.72~21.42 mg·g⁻¹, 红苞变种总酚含量变幅为 1.57~20.64 mg·g⁻¹, 部位间有明显差异。2 变种总酚含量均表现为雄蕊最高, 其中原变种为 21.42 mg·g⁻¹, 红苞变种为 20.64 mg·g⁻¹, 均显著高于其他部位; 苞片、胚珠和叶中脉含量均种雄花花瓣和雌花花瓣总酚含量分别为 10.99 和 11.76 mg·g⁻¹, 差异不显著; 雄花花柱与雌较低, 且

表 1 地涌金莲不同部位总酚含量

Table 1 The phenols content in different explants of *M. lasiocarpa*.

部位 Parts of plants	总酚含量/mg·g ⁻¹ Content of total phenol	
	Y	R
HB	2.25±0.51 ^e	2.57±0.10 ^{fg}
YP	4.67±0.42 ^d	9.43±1.71 ^{cd}
YM	0.72±0.13 ^e	2.32±0.20 ^{fg}
XZ	4.28±1.10 ^d	4.44±1.44 ^{ef}
XB	10.99±0.60 ^b	8.85±1.77 ^d
XR	21.42±0.23 ^a	20.64±2.39 ^a
XT	9.16±0.54 ^c	9.42±0.57 ^{cd}
CZ	9.44±1.02 ^c	4.96±0.68 ^e
CP	1.71±0.63 ^e	1.57±0.67 ^g
CB	11.76±0.84 ^b	11.15±0.83 ^c
CT	10.50±2.13 ^{bc}	13.81±1.40 ^b

注: 数值为平均值±标准差 (n=3); 同一列不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。下同。Y: 原变种; R: 红苞变种。

Note: Values are means ± SD (n=3); values with different letter within the same column are significant difference at P<0.05 level. The same below. Y: *M. lasiocarpa* var. *lasiocarpa*; R: *M. lasiocarpa* var. *rubribracteata*

变种内部位间无显著性差异; 另外, 原变种花柱总酚含量分别为 $9.16 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $10.50 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 差异不显著; 但红苞变种雌花花瓣总酚含量比雄花花瓣以及雌花花柱总酚含量比雄花花柱分别高 25% 和 46%, 两者之间差异显著。

对 2 变种间总酚含量差异进行分析 (图 1), 红苞变种叶片总酚含量为 $9.43 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 显著高于原变种的 $4.67 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 红苞变种叶脉的总酚含量为 $2.32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 显著高于原变种的 $0.72 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 红苞变种的雌花子房壁总酚含量为 $4.96 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 显著低于原变种的 $9.44 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。花苞片、雄花子房等其余 8 个部位的总酚含量在 2 变种间差异均不显著。

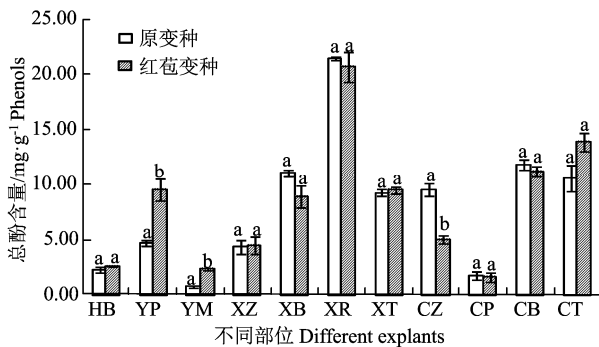


图 1 地涌金莲不同变种各部位总酚含量的差异

Figure 1 The difference of phenols content in different explants of *M. lasiocarpa* and *M. lasiocarpa* var. *rubribracteata*

2.2 外植体 PPO 活性差异分析

对同一变种不同部位 PPO 活性的差异 (表 2) 分析表明, 地涌金莲 2 个变种 11 个部位的 PPO 活性, 其中原变种变幅为 $0 \sim 971.5$ ($0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 红苞变种变幅为 $2 \sim 694.86$ ($0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 部位间差异显著。2 变种的叶片、叶脉和雌花胚珠的 PPO 活性均表现为较高的水平, 比其他部位高出 8 倍至数百倍, 而其他 8 个部位的 PPO 活性均无显著性差异, 且 2 变种均是雌花花柱 PPO 活性最低; 从表 2 还可以看出, 原变种 PPO 活性最高的前 3 个部位依次为叶片、雌花胚珠、叶脉, 三者间差异显著, 而红苞变种 PPO 活性最高的前 3 个部位依次为雌花胚珠、叶脉和叶片, 三者间差异也达显著水平。

对比 2 变种间 PPO 活性差异 (图 2) 可知, 原变种叶片的 PPO 活性为 971.5 ($0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 显著高于红苞变种的 277.2 ($0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$); 原变种叶脉的 PPO 活性为 542.8 ($0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 显著高于红苞变种的 428.5 ($0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$); 原变种和红苞变种的雌花胚珠 PPO 活性均较高, 分别

为 604.7 和 694.8 ($0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 但两者差异不显著; 原变种和红苞变种其他部位的 PPO 活性均极低, 且无显著性差异。

表 2 地涌金莲不同变种不同部位的 PPO 活性

Table 2 The PPO specific activity in different explants of *M. lasiocarpa*.

部位 Parts of plants	PPO 比活力/ $0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ PPO specific activity	
	Y	R
HB	23.7 ± 3.0^c	35.2 ± 10.9^d
YP	971.5 ± 58.3^a	277.2 ± 182.6^c
YM	542.8 ± 57.0^b	428.5 ± 26.4^b
XZ	8.0 ± 2.2^c	19.2 ± 5.2^d
XB	21.2 ± 1.6^c	16.4 ± 3.9^d
XR	74.6 ± 5.8^c	59.4 ± 22.3^d
XT	24.4 ± 9.2^c	44.1 ± 23.5^d
CZ	78.8 ± 53.6^c	9.2 ± 10.3^d
CP	604.7 ± 147.7^b	694.8 ± 59.4^a
CB	7.6 ± 10.1^c	10.7 ± 3.8^d
CT	0.0 ± 1.7^c	2.0 ± 3.6^d

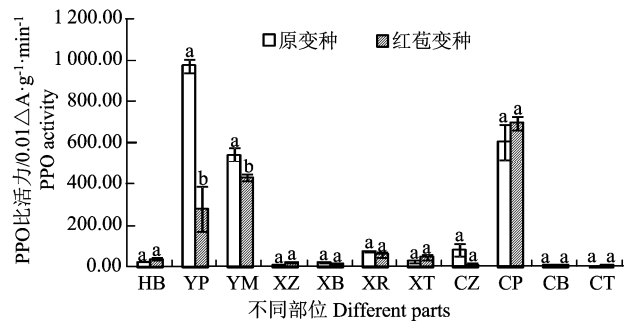


图 2 地涌金莲不同变种各部位 PPO 活性的差异

Figure 2 The difference of PPO activity in different explants of *M. lasiocarpa* and *M. lasiocarpa* var. *rubribracteata*

2.3 愈伤组织及其分化芽的总酚含量

表 3 表明, 同一愈伤组织块及其分化出的芽的总酚含量差异显著, 且原变种和红苞变种均是愈伤组织块的总酚含量显著高于分化芽的总酚含量。在 2 变种间进行比较, 红苞变种无论是愈伤组织块还是分化芽, 其总酚含量均显著高于原变种, 红苞变种和原变种愈伤组织总酚含量分别为 $3.91 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $2.84 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 分化芽的总酚含量分别为 $2.34 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.56 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

由于地涌金莲愈伤组织分化出的芽将来直接发育为地涌金莲的叶片, 因此将愈伤组织分化出的芽中总酚含量同母株叶片中的总酚含量作对比 (见图 3)。原变种地涌金莲的芽和母株叶片总酚含量分别

为 $0.56 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $4.67 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 红苞地涌金莲分化芽和母株叶片的总酚含量分别为 $2.34 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $9.43 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 分化出的芽中总酚含量显著低于相对应的母株叶片中的总酚含量。

表 3 地涌金莲愈伤组织不同部位总酚含量
Table 3 Phenols content in callus of *M. lasiocarpa*.

变种 Variants	总酚含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Content of total phenol	
	愈伤组织 Callus	分化芽 Split bud
Y	2.84 ± 0.23^a	0.56 ± 0.08^b
R	3.91 ± 0.28^a	2.34 ± 0.10^b

注: 同一行不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。
Note: Values with different letter within the same line are significant difference at $P<0.05$ level. The same below

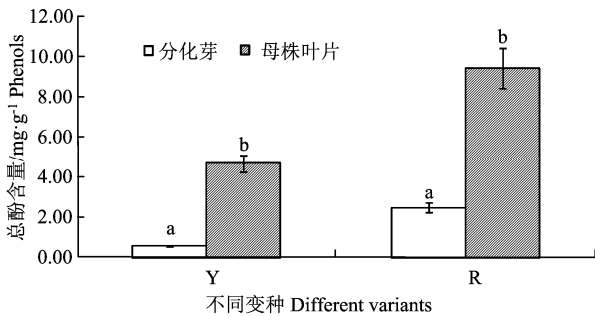


图 3 地涌金莲不同变种分化芽和母株叶片总多酚含量的差异

Figure 3 The difference of polyphenol content in bud and stock plant of *M. lasiocarpa* and *M. lasiocarpa* var. *rubribracteata*

2.4 愈伤组织及其分化芽的 PPO 活性

对地涌金莲愈伤组织及其分化芽的 PPO 活性检测结果 (表 4) 表明, 同一块愈伤组织及其分化出的芽的 PPO 活性差异显著, 原变种和红苞变种愈伤组织块的 PPO 活性均显著高于分化芽的 PPO 活性, 且愈伤组织块和分化芽的 PPO 活性在 2 变种间也有显著差异; 红苞变种愈伤组织块的 PPO 活性为 $2285.3 (0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$, 显著高于原变种地的 $1380.9 (0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$ 。相反的是, 红苞变种分化芽的 PPO 活性为 $363.7 (0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$, 显著低于原变种的 $772.4 (0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$ 。愈伤组织中的芽是从愈伤组织分化出来的, 但分化出的芽中其 PPO 活性却比母体的愈伤组织降低了很多, 原变种分化芽的 PPO 活性较愈伤组织降低 44%, 红苞变种分化芽的 PPO 活性更是较原变种降低 84%。

将愈伤组织分化出的芽中 PPO 活性同母株叶片中的 PPO 活性作对比 (图 4) 可知, 原变种的愈

伤组织分化芽和母株叶片 PPO 活性分别为 772.4 和 971.5 ($0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 红苞变种愈伤组织分化芽和母株叶片的 PPO 活性分别为 363.7 和 277.2 ($0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 2 个变种分化出的芽中 PPO 活性同相对应的母株叶片中的 PPO 活性差异均不显著, 说明芽在发育成叶片这个过程中其 PPO 活性的变化与总酚含量的变化不同, 在这一过程中 PPO 的活性变化不大。

表 4 地涌金莲愈伤组织不同部位 PPO 活性
Table 4 PPO activity in different explants of *M. lasiocarpa*.

变种 Variant	PPO 比活力 PPO activity/ $0.01 \Delta\text{A}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	
	愈伤组织 Callus	分化芽 Split bud
Y	1380.9 ± 52.5^a	772.4 ± 76.0^b
R	2285.3 ± 176^a	363.7 ± 92.1^b

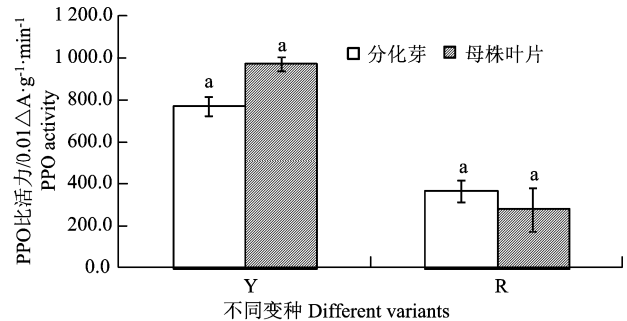


图 4 地涌金莲不同变种分化芽和母株叶片 PPO 活性的差异
Figure 4 The difference of PPO activity in bud and stock plant of *M. lasiocarpa* and *M. lasiocarpa* var. *rubribracteata*

3 讨论与结论

一些植物不同品种间的总酚含量差异显著, 同一品种不同部位总酚含量也差异较大^[19]。根据对地涌金莲植株不同部位总酚含量的测定得出, 不同的部位其总酚含量不尽相同, 其中雄蕊的总酚含量最高, 这可能与花粉中含有丰富的多酚类物质有关^[20]。在所测部位中, 雄花花瓣和雌花花瓣组织相似, 其总酚含量差异不显著, 雄花柱头和雌花柱头组织相似, 其总酚含量差异也不显著, 其他部位差异均为显著, 说明总酚的含量同组织的类型相关性高。

本研究测定的 11 个外植体部位总酚含量中, 有 8 个部位在 2 变种间无显著性差异, 在有显著差异的 3 个部位中, 红苞变种有 2 个部位 (叶脉和叶片) 总酚含量显著高于原变种, 这可能与红苞变种花苞片和叶脉呈现红色、原变种花苞片呈黄色而叶脉呈绿色相关。植物颜色的差异主要由花色素的种类和含量决定, 水溶性花色素作为类黄酮的酚类化合物易发生褐化反应。安佰义^[21]研究得出牡丹的花色差

异与叶片总酚存在相关性, 颜色越深, 总酚含量相应增加, 褐化也越严重。

地涌金莲不同部位中 PPO 活性有明显的区别。各部位中叶片、叶脉和雌花胚珠等 3 个部位中 PPO 活性较高, 且差异显著, 但在组织类型相似的部位中如雄花花瓣和雌花花瓣、雄花柱头和雌花柱头等部位中 PPO 活性差异不显著。此结果说明, 同总酚含量类似, PPO 活性也与组织的类型相关性高。

外植体是产生褐化主体, 而外植体中总酚含量和 PPO 活性则是导致褐化程度的决定性因素^[22-23]。因此, 从理论上讲, 总酚含量及 PPO 活性均较低的外植体应该褐化更轻, 更宜作为适合的外植体源。本研究发现, 地涌金莲原种与红苞变种花苞片、雄花子房、叶片、叶脉和雌花胚珠中总酚含量均较低, 其中叶片、叶脉和雌花胚珠中 PPO 活性均很高, 而花苞片、雄花子房中 PPO 活性很低, 由此推测花苞片、雄花子房是地涌金莲组织培养较理想的材料, 但这需要进一步的试验验证。

地涌金莲分化出芽的愈伤组织中其愈伤组织块和芽总酚含量和 PPO 活性差异显著。芽由愈伤组织分化而出, 但在愈伤组织分化成芽后, 原变种与红苞变种总酚含量分别由 $2.84 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 降至 0.56 和 $3.91 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 降低至 $2.34 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, PPO 活性分别由 $1380.9 (0.01 \Delta \text{A} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$ 降至 $772.4 (0.01 \Delta \text{A} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$ 和 $2285.3 (0.01 \Delta \text{A} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$ 降至 $363.7 (0.01 \Delta \text{A} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$, 说明地涌金莲在由愈伤组织这种非正常的组织状态转变为芽等正常组织状态时, 其总酚含量和 PPO 活性有显著的变化。红苞变种芽的总酚含量显著高于原变种, 而原变种芽的 PPO 活性显著高于红苞变种, 这与原变种和红苞变种叶片总酚含量和 PPO 活性的差异相一致。

将地涌金莲愈伤组织分化出的芽同其母株叶片作比较, 不同变种其芽和母株叶片的 PPO 活性变化不大, 但原变种和红苞变种总酚含量均显著增高, 分别由 $0.56 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增至 $4.67 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $2.34 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 增至 $9.43 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 说明在芽发育为叶片过程中, 总酚含量在不断增加, 这是由于植物在进一步生长中, 由于次生代谢产物不断积累, 总酚含量也相应升高^[24]。

参考文献:

- [1] 冯国楹, 李雅茹. 云南植物志: 第 2 卷[M]. 北京: 科学出版社. 1979: 725-727.
- [2] MA H, PAN Q J, WANG L, et al. *Musella lasiocarpa* var. *rubribracteata* (Musaceae), a New variety from Sichuan, China[J]. *Novon*, 2011, 21 (3): 349-353.
- [3] 万友名, 李正红, 马宏, 等. 地涌金莲新品种 ‘佛喜金莲’[J]. *园艺学报*, 2013, 40(4): 811-812.
- [4] 马宏, 李正红, 万友名, 等. 地涌金莲新品种 ‘佛悦金莲’[J]. *园艺学报*, 2013, 40(6): 1219-1220.
- [5] 马宏, 李正红, 万友名, 等. 地涌金莲新品种 ‘佛乐金莲’[J]. *园艺学报*, 2013, 40(8): 1625-1626.
- [6] 张树河, 林江波, 甘勇辉, 等. 地涌金莲组培快繁技术研究[J]. *亚热带植物科学*, 2004, 33(4): 35-36.
- [7] 王云波, 凌青, 李玉香, 等. 地涌金莲组培快繁技术研究[J]. *现代农业科技*, 2011 (6): 211-213.
- [8] 潘学峰, 赵强. 地涌金莲试管苗生产技术研究[J]. *热带生物学报*, 2011, 2(1): 53-58.
- [9] 侯健华, 李正红, 马宏, 等. 地涌金莲组织培养中的褐化抑制[J]. *林业科学研究*, 2015, 28(2): 217-221.
- [10] 李凤兰, 胡国富, 胡宝忠. 八种不同花色一串红组织培养快繁的研究[J]. *生物技术*, 2005, 15(4): 71-73.
- [11] DALAL M A, SHARMA B B, RAO M S. Studies on stock plant treatment and initiation culture mode in control of oxidative browning in in vitro cultures of grapevine[J]. *Sci Hortic-Amsterda*, 1992, 51(1/2): 35-41.
- [12] HIRIMBUREGAMA K, GAMAGE N. Cultivar specificity with respect to in vitro micropropagation of *Musa* spp. (banana and plantain)[J]. *J Hortic Sci Biotech*, 1997, 72(2): 205-211.
- [13] 邱璐, 陈善娜, 夏跃明, 等. 桑树组织培养中褐化问题的研究[J]. *云南大学学报 (自然科学版)*, 2000, 22(1): 76-78.
- [14] 刘秀贤, 潘庆杰, 李正红, 等. 地涌金莲的离体培养与快速繁殖技术研究[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(9): 4442-4444.
- [15] 关文灵. 地涌金莲吸芽的离体培养和植株再生[J]. *植物生理学通讯*, 2002, 38(4): 358.
- [16] 曾宋君, 吴坤林, 陈之林, 等. 珍稀药用和观赏植物地涌金莲的组织培养和快速繁殖[J]. *热带亚热带植物学报*, 2007, 15(1): 55-62.
- [17] 李静, 聂继云, 李海飞, 等. Folin-酚法测定水果及其制品中总多酚含量的条件[J]. *果树学报*, 2008, 25(1): 126-131.
- [18] 朱广廉, 钟诲文, 张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990: 37-40.
- [19] 刘会超, 贾文庆, 尤扬. 9 个牡丹品种叶片、叶柄中总酚含量及多酚氧化酶活性的测定[J]. *广东农业科学*, 2010(8): 170-171.
- [20] 田文礼, 孙丽萍, 董捷, 等. Folin-Ciocalciu 比色法测定蜂花粉中的总酚[J]. *食品科学*, 2007, 28(2): 258-260.
- [21] 安佰义. 牡丹组培离体再生系统的建立[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2005.
- [22] 晏本菊, 李焕秀. 梨外植体褐变与多酚氧化酶及酚类物质的关系[J]. *四川农业大学学报*, 1998, 16(3): 310-313.
- [23] 张振霞, 洪萍. 橄榄总多酚含量及多酚氧化酶活性与组培褐变的关系[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(22): 54-57.
- [24] CRANKSHAW D R, LANGENHEIM J H. Variation in terpenes and phenolics through leaf development in *Hymenaea* and its possible significance to herbivory[J]. *Biochem Syst Ecol*, 1981, 9(2/3): 115-124.