维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:1002-2724(2007)02-0034-02

平阴玫瑰组织培养褐变控制研究

卢绪娟,招雪晴,邵大伟,赵兰勇*
(山东农业大学林学院,泰安 271018)

摘要:以5个代表性的平阴玫瑰品种为试材,对不同芽位外植体的褐变度以及不同的褐变抑制剂的抗褐变效果进行了研究。结果表明,平阴玫瑰不同品种、同一品种不同芽位的外植体在组培中褐变发生情况不同,但5个品种各芽位的平均褐变度均呈单峰型变化,且峰值均在第4芽;1.5g/L的活性碳(Ac)是初代培养和生根培养的最佳褐变抑制剂,0.2g/L的抗坏血酸(Vc)是增殖培养的最佳褐变抑制剂。

关键词:玫瑰;组织培养;褐变
中图分类号:S722.3 **文献标识码**:A

玫瑰 *Rosa rugosa* Thunb.是蔷薇科蔷薇属落叶灌木,具有广泛的用途。作为"中国传统玫瑰代表"的平阴玫瑰,以其色艳、花大、香气浓郁而驰名中外。传统繁殖方式已不能满足市场的需要,而组培容易发生褐变,又严重制约着快繁的速度。鉴于此因,本文对其组织培养的褐变问题进行了探讨,以期为平阴玫瑰微体快繁和工厂化生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以山东农业大学花卉试验站的平阴玫瑰代表性品种为试验材料,品种有:'紫枝玫瑰'、'紫霞点翠'、'锦绣江山'、'重瓣玫瑰'、'唐紫'。试材培养条件:培养基MS+BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L,pH为5.5,温度(24±1)℃,光照12h/d,光照强度3000lx,培养周期30d。

1.2 试验方法

1.2.1 不同品种、同一品种不同芽位的外植体褐变度测定

试验材料按照常规方法消毒。从第一枚展开的幼嫩复叶开始,将枝条由上到下依次分为第1芽、第2芽、第3芽、第4芽、第5芽和第6芽,将5个玫瑰品种的外植体按照不用芽位分别接种在上述培养基中,每品种接种30瓶,每瓶接种外植体3个,重复3次。30d统计各外植体的平均褐变度。

1.2.2 褐变控制试验

以Ac、PVP、Vc和PA为抗褐变添加物,外植体为混合芽位的茎段,30d统计平均褐变度、平均分化芽数和平均芽长。每处理接种30瓶,每个品种接一个外植体于同一瓶中,重复3次。

2 结果与分析

2.1 不同品种、同一品种不同芽位的外植体的褐变变化

由图1可知:平阴玫瑰不同品种、同一品种不同芽位的外植体在组培过程中褐变发生情况不同,但从第1芽至第6芽各品种的平均褐变度均呈单峰型变化,峰值在第4芽处。各品种第1芽的平均褐变度在同品种各芽位间均最高,随着芽位的增加平均褐变度均急剧下降,在第4芽处平均褐变度均达最低值,随着芽位的继续增加平均褐变度又呈上升趋势,因此在平阴玫瑰组培中可利用褐变度的这一变化规律合理的选取外植体,以达到降低褐变死亡率,提高组培成活率的目的。试验中所选用的玫瑰品种均是平阴玫瑰的代表性品种,但不同品种的组培褐变度却不同。多酚氧化酶作用于多酚是导致外植体褐变的根本原因,不同植物材料或相同植物材料的不同部位其多酚氧化酶和多酚的含量不同,导致了组培材料不同品种、同一品种不同芽位的外植体褐变度不同[1,2]。

2.2 褐变抑制物质对外植体褐变的影响

褐变抑制物质的不同浓度、不同种类对外植体褐变度、分化数、芽长的影响情况如表1所示。

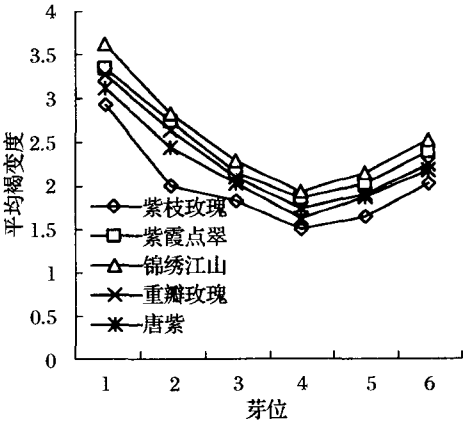

图1 不同品种、不同芽位的外植体对褐变的影响

与对照相比,本试验的各种抑制剂对褐变都有显著的效果,Ac的3个处理及0.2g/L Vc控制褐变效果较好,1.5g/L Ac在所有处理中抗褐变效果最佳。试验中观察到,加入Vc的各处理在培养时间长于30d时,随着培养时间的延长,抗褐

收稿日期:2007-01-28
*通讯作者

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1　褐变抑制物质对外植体褐化的影响

处	理	平均褐变度	平均分化芽数(个)	平均芽长(cm)
	0.5		3.02E	3.56
Ac(g/L)	1.5		2.71F	A
	2.5	1.20	2.54G	3.57
	1.0	H	3.73A	A
PVP(g/L)	2.0	1.01I	3.74A	3.32
	5.0	1.69F	3.72A	B
	0.1	2.01	3.72A	2.30E
	0.2	C	3.74A	F
Vc(g/L)	0.5	1.99	3.73A	2.32
	0.5	C	3.69B	DE
	1.5	2.21	3.61C	2.30E
PA(mg/L)	2.5	B	3.42D	F
	0	1.82E	3.74A	2.35
		1.55		C
CK		G		2.37
		1.67F		C
		1.88		2.34
		DE		CD
		1.91		2.30E
		D		F
		1.91		2.19
		DE		G
		2.59		1.96
		A		H
				2.34
				CD

注:Dunman 显著性检验,不同字母表示在 0.01 水平下差异显著。

变效果逐渐降低,这是因为 Vc 对褐变的抑制作用是消耗性的,它参与到醌类物质的还原反应中,在此过程中 Vc 逐渐被氧化[3],因此在组织培养中若用 Vc 做褐变抑制剂则应适当的缩短转接时间。PVP 和 PA 对褐变有一定的抑制作用,但效果次于 Ac 和 Vc。综合分析表 1 可以看出:褐变抑制物质虽对褐变有显著的抑制效果但当其用量超过某一阀值后,褐变却均呈加重趋势,因而在组织培养中需合理添加褐变抑制剂才能真正达到控制褐变的目的。

与对照相比,Ac 的各处理对分化均起到抑制作用,且在所有处理中抑制作用最明显,因此认为 Ac 不适于增殖培养,Ac 是非选择性吸附剂,它除了能从培养基中吸附酚类物质外,还会吸附激素、无机盐等对植物生长有益的物质,所以会对外植体的分化起到不良的影响[4],但添加 Ac 的各处理中试管苗的长势均比对照强,平均芽长远大于对照,且试管苗叶色油绿,光泽好,因而可用于试管苗的壮苗生根培养。PA 对分化的抑制作用次于 Ac,对芽长有极显著的抑制作用 ,PA 对金属离子具有螯合作用,配制培养基的过程中观察到随着 PA 浓度的升高,培养基中的沉淀物急剧增多,添加 PA 后,培养基中的许多营养物质被螯合沉淀,从而使试管苗生长和分化受到抑制,而试验中所设置的 Vc 的各处理对分化和芽长均无明显影响。PVP 是酚类物质的专一吸附剂,所有处理对分化和芽长均无明显的影响。

3　结论

综合考虑平均褐变度、平均分化芽数和平均芽长 3 个因素,在平阴玫瑰组织培养中,初代接种外置体应选取第 4 芽。1.5g/L 的 Ac 是优良的初代培养褐变抑制剂,因其对分化有一定的影响,因而不适于平阴玫瑰试管苗的增殖培养,但添加 Ac 的各处理起到了壮苗和控制褐变的作用,因而可用于平阴玫瑰试管苗的生根培养。0.2g/L 的 Vc 对褐变有较好的抑制作用,且对试管苗的分化和芽长无明显的影响,是平阴玫瑰试管苗增殖培养的最佳褐变抑制剂。

参考文献:

[1] Oktay M, Kufrevioglu I, Kocacaliskan. Ploy phenol oxidase from Amasya Apple. J. Food Sci., 1995, 60(3):494 ~ 496

[2] 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. 四川农业大学学报, 1998, 16(3):311 ~ 313

[3] 何琼英, 张东方等. 抗坏血酸预处理组织香蕉吸芽外植体褐变的研究初报. 华南农业大学学报, 1995, 16(3):79 ~ 82

[4] 刘真华,葛红等.蝴蝶兰组织培养中的褐化控制研究. 园艺学报, 2005, 32(4):732 ~ 734