

文章编号: 1001-3776 (2007) 05-0041-02

紫枝玫瑰组织培养中抑制褐化措施的研究

于守超, 张秀省, 杨重军

(聊城大学农学院, 山东 聊城 252059)

摘要: 研究探讨了不同取材时间、不同抗褐化剂及低温处理对紫枝玫瑰外植体褐变的影响, 结果表明: ①取材时间尽量避免高温季节, 以3~5月为宜; ②在培养基中分别添加PVP、Vc、AC三种抗褐化剂, 其中AC可有效抑制紫枝玫瑰茎段的褐化, 同时促进了外植体的生长; ③对外植体进行适当时间的低温处理可减轻外植体的褐变。

关键词: 紫枝玫瑰; 组织培养; 褐化

中国分类号: S685.12

文献标识码: B

紫枝玫瑰 (*Rosa rugosa* 'Purple Branch') 是平阴玫瑰研究所科研人员培育出的园林绿化及香料生产兼用的优良新品种, 因而急需探索出一条利用组织培养技术提高其繁殖系数的新路子, 而紫枝玫瑰组织培养中褐化现象非常严重, 常导致外植体褐化死亡。本研究旨在探讨减轻外植体褐变的有关措施, 以及这些措施对外植体生长情况的影响, 从而为实际生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

于3月下旬至7月下旬的晴天中午, 在山东省平阴玫瑰研究所, 取紫枝玫瑰的当年生半木质化枝条的中上部茎段, 保存于冰壶中, 在1h内带回试验室。接种时切成约1cm长并至少带有1个腋芽的茎段。

1.2 褐变抑制剂

本实验用的褐变抑制剂包括两类: 抗氧化剂和吸附剂。

① 抗氧化剂: 抗坏血酸 (Vc); ② 吸附剂: 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)、活性炭 (AC)。

1.3 培养基 (pH 5.8)

MS + 6-BA (6-苄基腺嘌呤) 0.2 mg/L + NAA (萘乙酸) 0.05 mg/L + 30 g/l 蔗糖 + 8 g/l 琼脂 (下文均缩写为 MSC)。

1.4 方法

采用单因子试验, 每组试验均设对照并重复3次, 接种于MSC上, 在光照强度1000~2000 lx, 光照时间12 h/d, 温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 下培养, 20 d后按照下列公式统计计算外植体的褐化率、启动率、生长量等相关数据。

$$\text{启动率} = \frac{\text{启动数}}{\text{未污染且未褐化致死总瓶数}}$$

$$\text{褐化率} = \frac{\text{褐化数}}{\text{未污染总瓶数}}$$

$$\text{平均生长量} = \frac{\text{启动芽的长度和}}{\text{启动数}}$$

2 结果与分析

2.1 不同取材时间对外植体褐化的影响 (图1)

由图1可以看出, 3~7月, 外植体褐化现象愈来愈严重, 具体表现为3~5月接种, 外植体的褐化率均低

收稿日期: 2007-05-15; 修回日期: 2007-07-17

作者简介: 于守超 (1979-), 男, 山东青岛人, 助教, 硕士, 从事植物造景及种质资源研究。

于 12%，而 6~7 月外植体的褐化率达 30%，甚至高达 50%。因而建议在生产上，取材时间宜选在春季初夏。实验表明，此时接种，外植体污染率较低。

2.2 不同抗褐化剂对外植体的影响(图 2)

从图 2 中可以看出，培养基中加入不同的抗褐化剂进行培养，外植体的褐化率、启动率、生长量不尽相同，存在一定差异。对于使用同一种抗褐化剂，随着浓度的升高，褐化率都有下降的趋势，但浓度过高，也会降低外植体的启动率、生长量，因而使用抗褐化剂的剂量要适中。在参试的三种抗褐化剂中，Vc 的抗褐化效果最好，但启动率，生长速率偏低，综合生长速率、启动率等，在 MS 培养基中添加 AC 效果最好。具体表现在：褐化率均低于 25%，明显比另外两种培养基中材料褐化率低；而且材料的启动率均匀，一般在 60% 以上；另外，培养基分别加入如图 2 的三种抗褐化剂后，启动率情况 AC>PVP>Vc。就外植体的生长量来说，也是 AC 培养基最好，另两种差别不明显。综合以上分析可知，AC 培养基对紫枝玫瑰组织培养的效果最好，其中又以 MS + AC 2 (即：MSC + AC 2.0 g/l) 效果为佳。

2.3 低温处理对外植体的影响(图 3)

将实验材料置于 4℃ 条件下，分别处理 1、2、3、4、5、6、7 d，进行对比试验。从图 3 可看出，随着低温处理时间的加长，外植体褐化率呈下降趋势，至处理 5 d 时，褐化率达到最低(由 53.6% 降至 6.6%)。但同时随着处理时间的加长，其活力也下降，表现为外植体的启动率，生长率呈下降趋势。低温处理 2 d、3 d 时外植体的启动率、生长量出现反常，这可能是操作等主观因素造成的。因而综合褐化率、启动率、生长量等各指标，对紫枝玫瑰茎段低温处理 5 d 为宜。

3 讨论

(1) 组织培养过程中外植体的褐化与植物材料的生理状态有密切关系，材料本身的生理状态不同，接种后的褐变程度也不同。从图 2 可以看出，在 3~5 月取材褐变较轻，而在 6~7 月取材褐变较严重，这与 Cherve 在欧洲栗中的研究一致^[1]，因而应尽量避免在高温季节取材。其主要原因与多酚氧化酶活性有关，多酚氧化酶活性愈高，褐变愈严重。

(2) 在抑制外植体褐变的措施中，加入抗氧化剂或酚类物质吸附剂是目前常用的方法^[2]。张妙霞等发现，

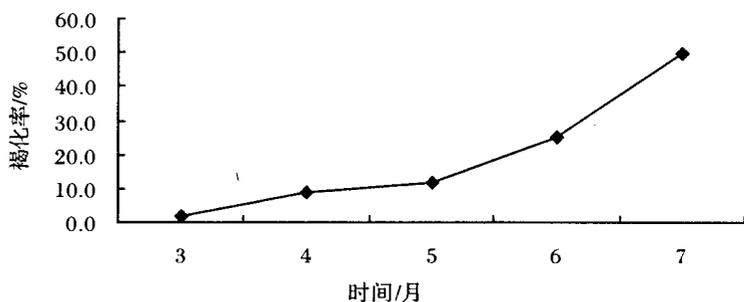


图1 取材时间对外植体褐化的影响

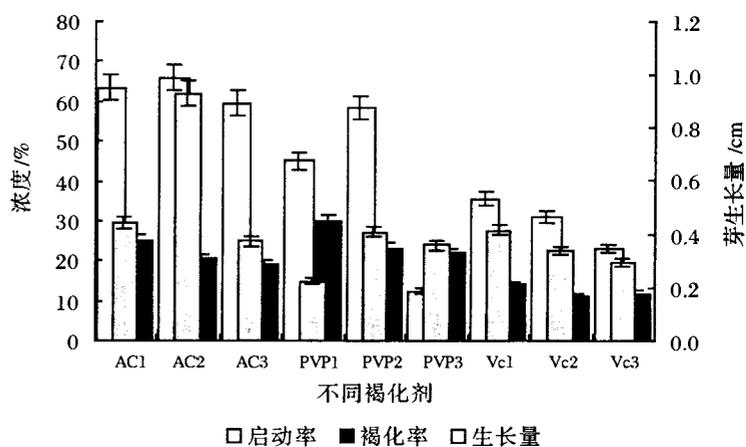


图2 不同抗褐化剂对外植体的影响

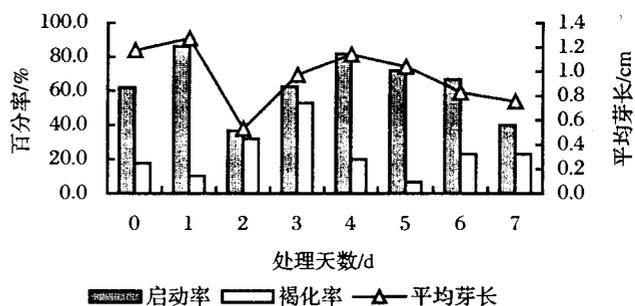


图3 低温处理对外植体的影响

500 mg/l 的 PVP 可有效抑制柿树组织培养中外植体的氧化褐变, 其抗褐效果远远好于 AC 和 Vc^[3]。据何琼英报道, 在香蕉的组织培养中, 培养基中加入 10 ~ 20 mg/L 5 ml, 对减轻褐化提高成功率上作用很大^[4]。但从图 2 可看出, 无论是从抗褐化效果上还是从外植体生长量、启动率上看, 都是 AC 作用好于 PVP、Vc。这说明, 抑制组织培养中外植体的褐变, 没有固定的模式, 外植体不同, 采用的抗褐化剂及剂量是不一样的^[5]。

(3) 在抑制外植体褐变的措施中, 除了利用常规的抗褐化剂外, 还尝试性的对外植体进行不同时间的低温处理, 结果表明适当时间的低温处理, 在基本不影响外植体启动率的基础上, 有效地抑制了外植体的褐化, 这可能是低温处理降低了 PPO 的活性, 一定程度上减少了酚类物质的氧化, 其具体原因有待于进一步作研究探讨。

参考文献:

- [1] Cherve AM. In vitro vegetative multiplication of chestnut[J]. Journal of Horticultural Science, 1983, 58 (1): 23 - 25.
- [2] Walkey D G A. Production of apple plantlets from an axillary-bud meristems[J]. Canadiam Journal of Plant Science, 1972, 52(6): 1 085 - 1 091.
- [3] 张妙霞, 孔祥生, 郭秀璞, 等. 柿树组织培养防止外植体褐变的研究[J]. 河南农业大学学报, 1999, 33 (1): 87 - 91.
- [4] 何琼英, 张东方, 何润华. 抗坏血酸预处理阻止香蕉吸芽外植体褐变的研究初报[J]. 华南农业大学学报, 1995, 16 (3): 79 - 82.
- [5] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 中国林业出版社, 2000. 8.

Measure for Browning Inhibition of *Rosa rugosa* 'Purple Branch' in Tissue Culture

YU Shou-chao, ZHANG Xiu-sheng, YANG Chong-jun
(Liaocheng University College of Agronomy, Liaocheng 252059, China)

Abstract: Experiment was made on effect of different stem collected seasons, treatment by different inhibitors and low temperature on browning of *Rosa rugosa* 'Purple Branch' explant. The result showed that the suitable stem collect season was from March to May. Activated carbon supplemented in culture medium could effectively inhibit browning of the stem, and promote the growth of explant. Treatment of low temperature of explant could reduce browning.

Key words: *Rosa rugosa* 'Purple Branch'; tissue culture; browning