

石刁柏组织培养中根诱导的研究

范双喜 解淑贞

(北京农学院园艺系, 北京 102208)

摘 要 对石刁柏组织培养中生根难、发根慢、畸形根多的原因及其影响因子进行了研究。结果表明, 根系诱导与材料的异质性、外植体生长状况、激素浓度及配比以及继代繁殖代数等条件关系密切。同一品种茎端直接生根较愈伤组织根诱导率高, 正常根数亦多。2~3cm 长的粗壮幼芽最宜作根诱导材料, 细弱幼芽则须进一步复壮。适宜生根培养基为 $1/2MS + VB_1 0.3mg/L + IBA 2.5mg/L + BA 0.25mg/L$, 生根率为 86%, 平均根数达 9.26 条, 畸形根率仅 8%。继代次数宜控制在 16 代内。

关键词 石刁柏 组织培养 根诱导 畸形根

石刁柏 (*Asparagus officinalis* L) 为百合科天门冬属多年生草本植物, 雌雄异株, 雄株高产优质。但种子繁殖实生群体中性别分化约为 1:1^[3], 开花前从外观形态上又难以区分雌雄性别。因此, 快速繁育优良雄株已成为生产上亟待解决的问题。早在 40 年代国外即开始石刁柏组织培养研究, 60 年代获得显著进展^[7]。我国在此方面起步较晚, 80 年代曾有一些报道^[4,5,9], 但仅限于不同组织或器官诱导获得少量再生植株, 并未建立一个快速繁育优良种株体系。其主要原因是石刁柏生根难, 移栽成活率低^[1,2]。许多学者虽就激素种类, 浓度及配比作了反复研究, 但收效甚微, 根诱导率仅 44.4%^[6]。迄今, 对移栽成活有直接影响的每株根数及畸型根比例未见报道。为此, 对石刁柏花药培养及茎尖无性繁殖中发根问题进行系统研究, 以期将石刁柏组织培养应用于生产。

1 材料和方法

选北京农学院蔬菜试验站采集的 UC72 五年生雄株经茎尖培养获得的愈伤组织及幼芽作供试材料。将已分化 3cm 长幼芽的愈伤组织切成 0.5cm 左右, 置于生根培养基。选粗、中、细幼芽按上、中、下不同部位分别切取 1~5cm 长, 垂直接于生根培养基上。茎芽继代培养为 45 天一次, 连续培养 20 代, 追踪观察对根诱导的影响。生根培养 35 天统计分析根诱导率, 发根数及畸根率。

生根培养基以 $1/2MS + VB_1 0.3mg/L$ 为基本培养基, 附加 IBA (0.5~2.5mg/L) 及 BA

(0.05~0.25mg/L), IBA/BA 为 10:1。蔗糖浓度为 2.5%, 琼脂 0.65%, 培养基 pH 调至 5.8~6.0。培养温度为 $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 每天光照时间 12h, 光照强度 2000lx。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合与浓度对根诱导的影响

几年来对外源激素筛选结果表明, 以 IBA 和 BA 配合对根诱导效果最好, IBA/BA (浓度比) 以 10:1 最佳, 二者不同浓度组合对根诱导的影响如表 1。

表 1 不同激素组合及浓度对根诱导的影响

激素水平(mg/L)		接 种 幼芽数	根诱导率 (%)	平均正常 根数	畸型根比率 * (%)				根长 (cm)
IBA	BA				I	II	III	合计	
2.5	0.25	100	86	9.26	0	4.97	3.01	7.98	2.89
2.0	0.20	100	82	6.70	11.8	5.85	0	17.65	2.18
1.5	0.15	100	84	6.36	19.6	5.51	5.80	30.91	1.30
1.0	0.10	100	73	5.02	27.7	1.02	10.03	38.75	0.96
0.5	0.05	100	60	2.47	44.04	12.18	5.44	61.66	0.53

* 畸型根: I 半透明短根; II 半透明长根; III 贮藏根状粗根

根诱导需要较高浓度的 IBA 及相应浓度的 BA。当 IBA 2.5+BA 0.25mg/L 时, 根诱导率最高, 平均根数也最多, 且接种后二周左右即有根形成。随着 IBA 及 BA 浓度降低, 根出现时间推后, 相应生长速度减慢, 根诱导率及根数降低。五种激素组合均有畸型根发生, 特别是 IBA 水平较低时, 畸根率高达 60% 以上, 尤以半透明短根比例最高。由于半透明短根属毛状气生根, 一般最多长至 0.5cm 即停止生长, 而半透明长根及贮藏根状粗根在培养过程中尚有部分可转化为正常根。因此, 在提高根诱导率的同时, 须增加每株正常根数, 降低畸根率。

2.2 根诱导途径的差异

将已分化幼芽的愈伤组织及 3cm 长的幼芽分别接种于 $1/2\text{MS} + \text{VB}_1 0.3\text{mg/L} + \text{IBA} 1.5\text{mg/L} + \text{BA} 0.15\text{mg/L}$ 培养基, 试验结果列于表 2。

表 2 愈伤组织及幼芽分化根的差异

材 料	接种数	根诱导率(%)	平均正常根数	畸 型 根 数		
				I	II	III
愈伤组织	100	74	4.43	2.12	0	0.58
幼 芽	100	87	6.36	1.52	0.43	0.45

石刁柏既可由愈伤组织直接生根, 又可从茎基部生根而长成小植株。接种后 25 天陆续从愈伤组织分化半透明毛状气生根, 30 天左右则开始形成正常根及夹杂少量贮藏根状粗根。而茎基部 20 天左右即可形成正常根, 且根诱导率较高, 正常根数亦较多。一般根分化可持续 30 天左右, 之后几乎不再分化。

2.3 幼芽生长状况对根诱导的影响

试验结果表明, 幼芽生长状况, 特别是幼芽粗壮与否, 以及取材部位和作为外植体的适宜长度, 对根形成的早晚, 根数的多少, 根诱导率的高低及成苗植株的生长等均有一定的影响。

表3 幼芽生长状况对根诱导的影响

	幼芽	调查数	发根率(%)	畸根率(%)	正常根数	平均根长(cm)
长度(cm)	1	50	72		5.9	1.75
	2	50	82		9.2	2.16
	3	50	84		9.8	2.31
	4	50	78		7.5	2.02
	5	50	68		4.3	1.49
粗度(cm)	0.2~0.3	60	88.3	15.3	9.4	
	0.12~0.19	60	80	14.8	8.6	
	<0.11	60	61.7	16.7	3.2	
部位	上部	50	78	11	8.9	
	中部	50	74	13	8.1	
	下部	50	84	17	10.2	

由表3看出,接种幼芽长度首先影响根形成的时间,2~3cm 幼芽发根最快,根最长。5cm 的幼芽生根慢,且初期植株轻度萎蔫,一周后才能恢复。其次,2~3cm 幼芽不但根诱导率高,根数也多。选择粗壮幼芽能显著提高根诱导率及正常根数,而细弱幼芽则需复壮或作为扩大繁殖用。取材部位对根诱导率影响不大,但以茎基部为材料的根数最多,而上部茎段在根形成过程中由于茎生长较快,当根长达适宜移栽值时,亦成为正常小植株,便于移栽。

2.4 继代培养对生根的影响

将分化的芽丛切割下来,接种到幼芽分化培养基进行继代扩大繁殖或复壮。连续培养0、4、8、12、16、20代,根诱导率依次为82%、80%、78%、70%、64%和56%;每株平均根数分别为9.2、6.4、5.7、4.8、4.5和2.6条;最早出现根的时间推后,分别为15、16、18、22、27和31天。由此看出,随着继代培养的进行,生根变得更加困难。因此,无论是扩大繁殖,或是更新复壮,继代培养不宜超过16代,以保证较高的根诱导率和成苗率。

3 讨论

石刁柏在植物组织培养中属难生根植物^[8]。早在1945年,罗士韦首次进行石刁柏茎尖培养发现,继代培养35代仍未生根,但幼芽却可正常生长。其后许多学者对诱导生根进行了探索,均未得到满意的结果,生根率仅11.1%~44.4%。因此,石刁柏生根难,移栽成活率低成为试管苗进一步得到广泛应用的主要障碍。

与其他难以生根的植物类似,石刁柏不定根分化也是一复杂的生理生化过程。不同品种不同生根途径所需诱导条件不同,其影响因素多种多样。前人^[4,6,9]的研究多侧重于外源激素的种类、浓度及配比对生根的效应,而未探索其他环节的作用。首先,本研究在前人研究的基础上,将愈伤组织诱导、茎芽分化及根诱导紧密结合在一起,围绕生根这一难题,在促进愈伤组织形成及幼芽分化的前提下,选作用力稍弱的IBA,并提高其浓度,以保证幼芽适应根诱导过程中高水平的IBA。这是由于生长素作用过弱,不能适应根诱导的需求;生长素作用过强,对根生长似乎有利,但易使芽徒长,难以适应外界环境,不利移栽。其次,选择生长粗壮且均匀的幼芽作为根诱导材料,并保持适宜的长度以满足成苗的需要。试验中还发现,石刁柏发根差与无机盐、蔗糖浓度过高,有机成份中VB₁含量偏低有关。采用大量元素、微量元素减半的1/2MS附

加 VB_1 0.3mg/L 作基本培养基较 MS 培养基根诱导率高,降低蔗糖浓度,可显著缩短发根时间。在确定 IBA 和 BA 为根诱导主要外源激素后,确定了其最佳比值,其间曾添加 2,4-D、KT 等外源激素,未发现对生根有促进作用。

石刁柏生根率的高低只是其能否顺利成苗的标准之一,并不能完全衡量试管苗的优劣。因此,尚须从生根时间、适宜根长、每株平均根数以及降低畸型根比率,提高正常根率等方面综合分析,才能真正使试管植株顺利移栽成活。迄今尚未见有此方面的报道。至于影响石刁柏根系诱导的内在原因及生理生化变化过程有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 李素珍. 影响石刁柏无性繁殖因素的试验. 浙江农业科学, 1983(5): 161~164
- 2 李素珍. 芦笋试管苗移栽成活率的探讨. 浙江农业科学, 1985(1): 47~48
- 3 安彩泰. 植物的性别决定和遗传. 遗传, 1983, 5(3): 44~46
- 4 刘淑琼, 桂耀林, 颜淑荣等. 石刁柏胚乳愈伤组织的诱导及植株再生. 植物学报, 1987, 29(4): 373~376
- 5 严仁玲, 张磊, 张存金等. 石刁柏花药离体培养及单倍体植株再生的研究. 华北农学报, 1992, 7(1): 75~82
- 6 周维燕. 石刁柏离体腋芽快速繁殖的研究. 北京农业大学学报, 1981, 7(4): 89~93
- 7 周荣仁. 蔬菜作物的组织培养. 植物生理学通讯, 1981(2): 8~11
- 8 奚惕. 组织培养中不定根的分化. 植物生理生化研究进展, 1987(5): 54~64
- 9 彭晓果. 芦笋幼茎组织培养及无性系的建立. 农业现代化研究, 1987(3): 57~59

Studies on Root-induction in Tissue Culture of *Asparagus officinalis* L.

Fan Shuangxi Xie Shuzhen

(Department of Horticulture, Beijing Agricultural College, Beijing)

Abstract Some primary factors causing hard and slow rooting and high abnormal root percentage in tissue culture of *Asparagus officinalis* L. were studied. Results indicated that rooting induction was closely related to the heterogeneity of materials, the growth state of explant, growth regulators and their concentrations, and generations of subculture, etc. In a same variety, rooting directly from apexes showed a higher rate than that from callus. A similar trend was observed in the case of normal root percent. The healthy bud lengthening 2—3cm is optimum for inducing, while a weak one needs rejuvenating before induction. The medium suitable for rooting is $1/2MS + VB_1$ 0.3mg/L + IBA 2.5mg/L + BA 0.25mg/L, which results in rooting rate as high as 86% (the mean root number 9.26) and reduces the abnormal root to 8%. It is best that the subculture is confined within 16 generations.

Key words: *Asparagus officinalis* L.; Tissue culture; Rooting induction; Abnormal roots