

芍药组织培养研究进展

常婧

(辽宁省森林经营研究所, 辽宁 丹东 118000)

摘要 利用组织培养技术进行繁育是芍药商品化及产业化发展的必然趋势。本文从外植体选择与处理、培养基选择、植物调节物质以及目前组培中存在的问题(主要是褐化和玻璃化)等方面,综述了芍药组织培养研究现状,并对今后的发展进行了展望,旨在为芍药的种质资源的保存以及新品种选育等研究提供参考。

关键词 芍药;组织培养;外植体;植物调节剂

中图分类号:S682.12

文献标识码:A

doi: 10.13601/j.issn.1005-5215.2017.08.027

芍药(*Peonia lactiflora* Pall.)隶属于芍药科芍药属,是我国著名花卉。芍药在中国栽培历史悠久,长达三千多年^[1]。芍药以其花态妩媚,花色艳丽,花形硕大等特点备受人们的青睐,与牡丹齐名。芍药的繁殖方法有播种、分株、嫁接、扦插、压条等,其中分株法和播种法是常见的繁殖方法,分株方法简便,可行性高,但成活率低;播种法后代易产生变异,不能保留亲本的优良性状^[2]。作为植物快繁最有效的方法,组织培养具有繁殖周期短、系数高、优良性状保存良好,便于大规模生产等优势。因此,组培方法可代替常规方法对芍药进行繁殖,是芍药大规模生产以及推广的技术基础。

本文旨在对当前芍药组培技术的综述,为芍药快繁生产技术提供科学的理论指导,并为芍药种质资源的保存提供技术支持。

1 芍药生物学特性

芍药茎丛生,具粗长肉质根,呈纺锤形;叶全缘或浅裂,枝端部着生单花,花径8~11 cm,有些品种可达15~20 cm,花期5—6月,8月为果实成熟期;芍药品种繁多,花色丰富且花型多变。

芍药属典型温带适生型植物,短日照季节有利于花芽分化,长日照则适宜花苞展开。因其温度适应跨度较大,低至-46℃,高至42℃,均可保证芍药的稳定生长,因而芍药地理分布较为广泛。

2 外植体的选择和处理

根据组培的目的不同外植体的选择也不同。在

组培中常选用茎尖、茎切段、叶片、胚等作为外植体材料^[3]。

2.1 外植体的选择

外植体的选择是植物组织培养成功与否的关键。不同的取材部位、时间以及生理状态,其诱导以及分化再生能力也不尽相同^[4]。通常来说,较大外植体再生能力强于较小外植体^[5]。种子、胚、上胚轴、茎段、芽、叶片等是芍药组织培养常见的外植体。黄凤兰、潘瞳等人选用茎段,叶柄以及叶片做外植体材料对芍药愈伤组织进行诱导,通过对比发现不同部位的材料诱导率略有差异,茎段的效果好于叶片^[6,7]。王吉凤等人研究了不同外植体材料的愈伤组织诱导及分化,发现胚轴诱导率比其他3种外植体的诱导率高,并且能够分化出不定根^[8],这与前人研究结果相同。

此外,取材时间也可影响组培结果。金飏等人研究发现取材过早属于休眠期,苗弱且生长缓慢,过晚芽已分化,不利于灭菌。最适合取材的时间为1月份^[9]。11—12月上中旬和春季3月份是母代芽取材的最佳时期,这样有助于芽的萌动和分化;9—10月取地下芽培养,效果不佳^[10]。

2.2 外植体的灭菌

灭菌是植物组培工作中不可或缺的环节之一。需要注意两点:一是将微生物全部杀死,二是尽可能地减小对植物组织以及表层细胞的损伤^[11]。研究表明,芍药外植体消毒最佳药剂为0.1% HgCl₂^[7,12]。外植体取材的不同,消毒时间也有所不同,叶片,叶柄,休眠芽以及茎段的最适消毒时间分别为5 min, 8 min, 10 min, 15 min;也有研究表明对叶片来说先用70%酒精消毒30 s,之后用1:10的84消毒液浸泡12 min效果最好,而且选用近轴

收稿日期:2017-06-15

作者简介:常婧(1990-),女,辽宁丹东人,大学,助理工程师,主要从事森林培育、森林经营研究。

面接触培养基可从一定程度上减轻褐化率^[8]。

3 培养基

在牡丹与芍药组织培养中最常见的是 1/2MS 培养基,也有选择 MS 培养基和改良 MS 培养基。在较低浓度的无机盐培养基上芍药组培苗生长良好^[10]。张庆瑞等采用 3 种不同培养基对叶片愈伤组织进行诱导,发现改良 MS 培养基诱导叶片愈伤组织效果最好^[13];仇道奎等选择用 MS 培养基进行种胚培养和芽诱导,培育出胚苗和不定芽^[14,15]。

4 植物生长调节物质

4.1 植物生长调节物质对愈伤组织诱导的影响

细胞分裂素与生长素混合使用能够更好地诱导愈伤组织,且 6-BA、2,4-D、NAA 结合使用,效果最佳。因此选用低浓度的 2,4-D 或 NAA 配合 6-BA 效果较好^[16],而单独使用时应选择 6-BA 诱导。

4.2 植物生长调节物质对芽诱导的影响

影响芽萌动的因素主要有 3 种,根据其重要性排列依次是赤霉素、6-BA 和 NAA;在细胞增殖方面,6-BA 效果要比 KT 好^[17]。在促进芍药组培苗丛生芽特别是簇生短芽的伸长实验中最有效的是赤霉素,而长期选择较高浓度的赤霉素刺激,可能会导致芽发育畸形,在继代培养过程中可暂时选用较低浓度的赤霉素。促进腋芽生成最有效调节剂是 BA,与 KT 配合比单独使用效果好。有学者使用 MS 培养基(BA 3.4 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 6 g·L⁻¹)对芍药外植体愈伤组织进行诱导发现外植体在 MS 培养基上容易分化形成不定芽^[18]。

4.3 植物生长调节物质对根诱导的影响

IBA、IAA、NAA 是 3 种对生根影响较大的植物生长调节剂,研究表明,IBA 生根效果好,IAA 次之,而 NAA 诱导的根是由愈伤组织分化而成,不与茎相连,因此移栽成活率较低^[16]。还有研究表明,添加 IBA 1.0 mg·L⁻¹和 IAA 0.5 mg·L⁻¹对根的发育有一定益处;在单独使用时 IBA 生根率较高,但如果与 IAA 一同使用,则有利于根的生长。

5 组织培养存在的问题

目前,大多数的研究都集中在牡丹组织培养上而对于芍药报道较少,并且存在许多待解决的问题:(1)用愈伤组织来诱导芽分化比较困难;(2)在初代培养中污染难以控制,繁殖系数低且只能用于扩繁,不能用于遗传转化等研究;(3)在培养过程中程褐

化、玻璃化现象严重;(4)组培苗生长速度缓慢,叶片生长势不旺盛,易发黄萎缩,影响下一步的移栽工作等。这些问题都严重制约着的芍药组培技术的发展,导致其难以在实际生产上推广及应用。

5.1 褐化及其防治

外植体褐化现象在芍药组培过程中非常普遍^[19,20]。这与芍药品种,外植体种类、选取时期、生理状况及组培方式等因素密切相关^[10,21]。赵蓉以 3 种不同外植体为材料进行愈伤组织诱导时发现茎段,叶柄,叶片的褐化率差别很大,依次是茎段>叶柄>叶片^[14];安佰义在对不同部位的总酚含量的研究中,得出不同部位的总酚含量大不相同,依次幼茎<远低幼叶<成龄叶^[22];郭风云通过大量实验发现较小体积、幼嫩、器官分化度较低以及接种时切割面较小的外植体不易被褐化,同时比照春秋两个不同季节发现春季外植体褐化现象大于冬季^[10]。

通过选择最佳培养基、添加防褐剂、黑暗培养、低温和较短的继代周期等措施都可在不同程度上降低褐化概率。何松林在研究牡丹的褐化现象时发现不同培养基褐化程度不同,顺序依次为 MS 培养基<1/2MS<WPM;对于褐化现象来说采用抗氧化剂与吸附剂有一定的抑制作用,PVP>Vc>Na₂S₂O₃;降低光照强度也可在不同程度上抑制褐化现象;但是在培养基中调整植物生长调节物质(6-BA、NAA)的浓度对褐化现象并没有明显作用^[23]。张俊琦和罗晓芳研究发现,悬浮培养以及添加生长素都不能减慢外植体褐化现象,反而有可能加快外植体的褐化程度,比如 Na₂S₂O₃、Vc 和铜试剂(DDTC)会加剧褐化程度而 PVP 和植物凝胶(Phytigel)都可以有效减缓褐化程度^[24],这与何松林的研究结果不一致;黄凤兰发现在培养基中加入柠檬酸和 Vc 能有效地降低外植体的褐化率,而且用 Vc 处理的效果比柠檬酸明显^[7]。

5.2 玻璃化及其防治

玻璃化现象在组培过程中较常见,属于一种生理病变,植株一旦发生玻璃化现象就很难继续培养和扩繁,且玻璃苗移栽后成活率较低,严重影响组培效率^[25]。

有研究表明在组培过程中光照强度在 1.60×10³ lx 以上可以降低玻璃化现象^[10];对于试管苗玻璃化现象可通过降低培养基水势,减少培养基中外源激素的含量(尤其是 6-BA、GA₃ 的含量)等方法^[26];与此同时适宜的温度(25—28℃)、较好的透气性等也可降低组培苗的玻璃化概率^[27]。

6 展望

植物组织培养技术以其操作简单,节省土地、劳力和时间,受自然环境的影响较小时短等优点,已在植物的遗传、育种、栽培等多个领域广泛应用^[28],并且具有广阔的应用前景,然而芍药的组培培养技术目前尚处于起步阶段,且多数研究外植体的选择和培养基配方等内容,但也有少部分研究获得了生根植株,这表明利用组培技术离体扩繁芍药植株的方法是可行的,并且具有极高的研究价值。

参考文献:

- [1] 李嘉钰. 中国牡丹与芍药[M]. 北京:中国林业出版社,1999
- [2] 秦魁杰. 芍药[M]. 北京:中国林业出版社,2004
- [3] 马慧,张立军,阮燕桦,等. 植物组织培养技术的现状及发展趋势[J]. 安徽农业科学,2007,35(6):1602-1604
- [4] 董少鸣. 愈伤组织培养实验中几种外植体的选择[J]. 承德民族师专学报,2007,27(5):62
- [5] 张越阳,魏军亚,李开绵. 芒果组织培养研究进展[J]. 热带作物学报,2010,31(2):325-331
- [6] 黄凤兰,孟凡娟,牛红云,等. 芍药遗传转化再生体系的建立[J]. 东北农业大学学报,2009,40(6):50-57
- [7] 潘瞳,吴红娟,于晓南. 芍药丛生芽及愈伤组织诱导方法初探[J]. 中国观赏园艺研究进展,2009:245-249
- [8] 王吉凤,李青,孟会. 5个芍药品种愈伤组织诱导及分化研究[J]. 北京林业大学学报,2010,32(3):213-216
- [9] 金飏,何小弟,吴建华,等. 芍药离体培养初步研究[J]. 江苏农业科学,2005(4):69-71
- [10] 郭风云. 芍药组织培养技术的研究[D]. 北京:北京林业大学,2001
- [11] 朱广廉. 植物组织培养中的外植体灭菌[J]. 植物生理学通讯,1996,32(6):444-449
- [12] 张庆瑞,孙建洲,任凝辉,等. 芍药组织培养技术研究[J]. 河南农业科学,2006(4):88-90
- [13] 张庆瑞,杨秋生,李永华. 不同植物生长调节物质对芍药离体培养的影响[J]. 河南农业大学学报,2007,41(1):25-28
- [14] 赵蓉,于晓南. 芍药品种桃花飞雪愈伤组织以及芽的初步诱导[C]. 中国观赏园艺研究进展,275-278
- [15] 仇道奎,张松荣,何小弟. 芍药组织培养[J]. 中国花卉园艺,2009(2):32-33
- [16] 郭风云. 芍药组织培养技术的研究[D]. 北京:北京林业大学,2001
- [17] 张庆瑞,孙建洲,任凝辉,等. 芍药组织培养技术研究[J]. 河南农业科学,2006(4):88-90
- [18] 胡映泉,冯海华,时宝凌. 芍药不定芽的诱导技术[J]. 山西林业科技,2003(9):23-24
- [19] Kunneman BPAM, Albers MRJ. Tissue culture of peony is not yet producing plants[J]. Bloem Bollenbouw, 1989, 100(23):16-17
- [20] Seyring M. Loss rate is still too high[J]. Taspo Gartenbaumagazin, 2000, 10(2):30-31
- [21] 王瑶,岳桦. 芍药属植物组织培养中褐化问题的研究进展[J]. 黑龙江农业科学,2009(2):159-160
- [22] 安佰义,赵飞. 牡丹不同类型总酚含量与PPO活性研究[J]. 北华大学学报:自然科学版,2005,6(2):169-172
- [23] 何松林,陈笑蕾,陈莉,等. 牡丹叶柄离体培养中褐化防止的初步研究[J]. 河南科学,2005,23(1):47-50
- [24] 张俊琦,罗晓芳. 牡丹组织培养中褐化的发生原因与防治方法的研究[J]. 沈阳农业大学学报,2006,37(5):720-724
- [25] 刘庆昌,吴国良. 植物细胞组织培养[M]. 北京:中国农业大学出版社,2003:44-45
- [26] 贾海慧. 影响樱桃试管苗玻璃化的因素与克服措施[J]. 山东林业科技,2010(4):72-73
- [27] 任东植,李峰,曲云琴. 影响枣组培苗玻璃化的几个因素及其防治[J]. 植物生理通讯,2000(1):21-23
- [28] 朱根发. 花卉组织培养—培养基及其配制[J]. 花卉,2002(5):6

(上接第72页)

- [5] 解国磊,丁新景,马风云,等. 鲁中山区主要森林类型易燃可燃物垂直分布及其燃烧性[J]. 西北林学院学报,2016,31(1):158-163
- [6] 胡海清. 大兴安岭主要森林可燃物理化性质测定与分析[J]. 森林防火,1995(1):27-31
- [7] 田晓瑞,王明玉,殷丽,等. 大兴安岭南部春季火行为特征及可燃物消耗[J]. 林业科学,2009,45(3):90-95
- [8] 李明泽,谢雨,邱雪颖,等. 大兴安岭林区地表可燃物载量遥感估测模型[J]. 东北林业大学学报,2014(5):60-63
- [9] 田晓瑞,戴兴安,王明玉,等. 北京市森林可燃物分类研究[J]. 林业科学,2006,42(11):76-80
- [10] 王秋华,肖慧娟,刘文国,等. 昆明西山森林公园主要林型地表可燃物的潜在燃烧性[J]. 福建林业科技,2014(1):40-44
- [11] 李旭,王秋华,李世友,等. 昆明西山森林公园地表可燃物类型划分与载量研究[J]. 林业调查规划,2013,38(2):50-54
- [12] 王秋华,吴从起,陶汝坤,等. 昆明西山国家森林公园主要林型地表可燃物的特征[J]. 林业资源管理,2012(5):69-73
- [13] 高成德,田晓瑞,舒立福,等. 重庆铁山坪森林可燃物类型划分及其燃烧性[J]. 森林防火,2005(2):29-30
- [14] 靳全锋,王文辉,马祥庆,等. 福建省2000—2010年林火排放污染物时空动态变化[J]. 中国环境科学,2017,37(2):476-485
- [15] 陈勇,杜建华. 福建省夜间森林火灾的特点及扑救对策[J]. 森林防火,2015(3):24-26
- [16] 江津凡,万福绪. 防火林带不同树种枝叶持水率研究[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2011,35(5):151-154