

文章编号:1000-2642(2006)04-0529-04

亚麻多倍体试管苗的生根诱导研究

胡平建¹, 隆姣玲²

(1. 四川乐山师范学院 美术系, 四川 乐山 614004; 2. 湖南邵阳市言栗中学, 湖南 邵阳 422918)

摘要:采用秋水仙碱溶液诱导后的萌动亚麻种子,在不同的pH值和培养基类型下生长,在生根培养阶段添加不同生长调节剂,研究pH值、培养基类型及生长调节剂对多倍体试管苗诱导生根作用的影响。结果表明:在1/2 B₅培养基、pH值6.2,添加0.1~0.2 mg/L NAA或0.3 mg/L IBA或0.3 mg/L NAA和0.1 mg/L IBA配合使用均对多倍体试管苗诱导生根有显著的作用,诱导生根率可达到80%以上。

关键词:生长调节剂;生根作用;亚麻;组织培养

中图分类号:Q 599

文献标识码:A

ROOTING INDUCTION OF FLAX POLYPLOID PLANTLETS

HU Ping-jian¹, LONG Jiao-ling²

(1. Aesthetics Department, Leshan Normal College, Leshan, Sichuan 614004, China; 2. Yanli Middle School, Shaoyang Hunan 422918, China)

Abstract: Germinating seeds of flax pretreated with colchicine solution were cultured to study the effects of medium, pH and plant regulators on the rooting of the regenerated plantlets. 1/2 B₅ medium with a pH of 6.2 supplemented with NAA 0.1~0.2 mg/L, or IBA 0.3 mg/L or IBA 0.1 mg/L + NAA 0.3 mg/L favored their rooting, with a rooting rate of >80%.

Key words: plant growth regulator; rooting; flax; tissue culture

通过组织培养与化学诱导技术,进行亚麻品种遗传改良,培育亚麻新品种将是亚麻育种的重要途径。从2002年至今,研究了单因素条件下秋水仙碱溶液对亚麻多倍体诱导影响^[1],并进一步用正交旋转组合实验研究了诱导亚麻多倍体的主次因素,并从中得出了诱导的最佳浓度和有效处理时间,其中多倍体株采用根尖和生长点进行染色体镜检鉴定(此材料正在整理之中)。在实验过程中发现多倍体试管苗生长在1/2 MS培养基上长势、长相差,表现在根少、叶少、生长速度慢、死亡率高和移栽成活率低,而未经处理的生长恰好相反,表现在根多、叶茂和移栽成活率高。本实验在前面所做实验基础上通过对不同培养基、pH值调节及生长调节剂的配比对多倍体试管苗

生根影响的研究,试图找出多倍体试管苗生根的适宜条件,以提高多倍体试管苗的素质和移栽成活率。

1 材料与方法

1.1 材料及培养条件

供试材料“范妮”亚麻无菌种子。为降低实验材料的激素背景干扰,在不添加任何植物激素的B₅培养基上培养3 d,从中挑选萌动的种子,接种到0.35%秋水仙碱溶液,处理11.32 h^[1],处理结束后用无菌水清洗3~4次,洗净秋水仙碱溶液,转至各种设计的生根培养基中。每处理接种50粒萌动种子,5次重复(10粒/重复),除NAA与IBA组合试验之外,其他均

收稿日期:2006-04-10

基金项目:国家863资助项目(2000 AA 241211)和湖南省“十五”重大科技专项(01 NKY 1002)资助项目

作者简介:胡平建(1977-),男,湖南宁乡人,四川乐山师范学院硕士研究生,从事植物细胞组织培养研究。

采用单因素随机实验设计。在生根培养基中培养 15 d 后进行染色体鉴定^[1],其中多倍体株($X > 2n = 28$)进行指标测量,培养条件为:温度 22 ~ 27℃,每天光照 10 ~ 12 h,光照强度 1 600 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$,相对湿度 70%。

1.2 试验方法

1.2.1 pH 值对生根的影响

以 1/2 B_5 + NAA 0.1 mg/L 为生根培养基,设计 5 种不同 pH 值培养基:5.4,5.8,6.2,6.6,7.0,接种秋水仙碱溶液诱导过的萌动种子至以上设计的培养基上进行生根试验。

1.2.2 培养基类型对生根的影响

对 MS 和 B_5 培养基的大量元素、微量元素、有机物进行相互组合形成新的培养基,7 种培养基设计为: B_5 ,1/2 B_5 ,1/2 BMS(B_5 的大量元素和微量元素减半 + MS 有机物,pH 值 5.5,20 g/L sugar,6.5 g/L agar),BMS(B_5 大量元素和微量元素 + MS 有机物,其他与 1/2 BMS 一致),1/2 MS(pH 为 5.8),1/2 MSB(MS 的大量元素和微量元素减半 + B_5 有机物,pH 为 5.8,其他相同),MSB(MS 的大量元素和微量元素 + B_5 有机物,pH 为 5.8,其他相同)。以上培养基均附加 NAA 0.1 mg/L。

1.2.3 生长调节剂类型对生根的影响

浓度均为 0.3 mg/L NAA,IBA,2,4-D 3 种生长调节剂分别添加到 1/2 B_5 培养基中进行生根实验。

1.2.4 NAA IBA 及其组合对生根的影响

用 1/2 B_5 为基本培养基,NAA,IBA 及其组合进行浓度筛选,NAA,IBA 浓度设为 0.1,0.2,0.3 和 0.5 mg/L 分别进行单因素随机实验;NAA 及 IBA 的组合实验浓度均设为 0.1,0.2,0.3 和 0.4 mg/L,采用二因素完全随机实验设计,共 16 种组合处理。

2 结果与分析

2.1 pH 值对生根的影响

pH 值影响试管苗的生根,不同的植物对 pH 值要求不一,一般在 5.0 ~ 6.0。观察发现,接种后 4 d 左右,pH 为 6.2 的生根率就达到了 20%,10 d 达到 50%,12 d 达到了 100%,比 pH 值 5.8,5.4,7.0 分别提早 2,4,6 d 出根。其中 pH 值 5.4,5.8,6.6,7.0 在 12 d 的生根率分别为 30.77%,50%,80.21%,66.67%。由此可知,pH 值的高低直接影响亚麻试管苗的出根速率。

从表 1 各项测量指标可以得知,pH 值 6.2 除主根直径较低外,其余指标平均值均高于其他 pH 值。从苗高、发根密度、侧根长、单株根干物质重的增长趋势来看,随着 pH 值的增加,其值也在增加,到 pH 值为 6.2 时达到高峰,接着下降,呈抛物线的增长趋势。因而 pH 值 6.2 更有利于提供亚麻生长所需的环境,在以后的试验中选择 pH 值 6.2 作为生根的基本培养环境。

表 1 不同 pH 值的试管苗生根情况
Table 1 Rooting of plantlets in different pH

pH 值	苗 高/cm	主根长/cm	主根直径/cm	发根密度/cm	侧根长/cm	根干重/g	总 重/g
5.4	1.104 ± 0.048	4.720 ± 0.512	0.042 ± 0.005	3.822 2 ± 1.121 0	2.363 4 ± 0.813 4	0.001 0 ± 0.000 5	0.005 5 ± 0.001 2
5.8	1.200 ± 0.043	5.105 ± 0.531	0.028 ± 0.003	7.308 1 ± 1.421 3	2.696 5 ± 0.805 4	0.001 2 ± 0.000 6	0.008 0 ± 0.001 1
6.2	3.357 ± 0.040	9.267 ± 0.489	0.013 ± 0.001	13.688 5 ± 1.035 4	3.736 2 ± 0.723 1	0.003 0 ± 0.000 1	0.011 9 ± 0.000 8
6.6	2.882 ± 0.049	3.550 ± 0.546	0.057 ± 0.004	10.284 8 ± 3.561 3	1.875 5 ± 0.845 1	0.001 7 ± 0.000 4	0.007 6 ± 0.000 18
7.0	1.960 ± 0.044	2.227 ± 0.551	0.030 ± 0.004	7.794 8 ± 2.845 1	1.666 6 ± 0.895 1	0.001 5 ± 0.000 3	0.007 4 ± 0.001 9

2.2 培养基类型对生根的影响

培养基是试管苗生长赖以生存的基本环境,其大量元素、微量元素、有机物均对试管苗生长产生影响。适当降低无机盐浓度,有利于根的生长,其中含低 NH_4^+ 的培养基更有利于亚麻生根,从实验中得知,1/2 B_5 ,1/2 BMS 培养基上的生根率均可达到 100%,而以含 MS 无机物的培养基 1/2 MS,1/2 MSB,MSB 均不利于根的生长,生根率分别为 32.33%,40.53%,20.15%,而且试管苗有较严重的玻璃化现象出现。

由 SSR(新复极差)多重比较发现,1/2 B_5 ,1/2

BMS 的试管苗在苗高、根长、发根密度上二者之间没有明显的差异之外,与其他培养基均差异显著,但其余培养基之间差异不明显(表 2)。因此,亚麻试管苗在较低 NH_4^+ 的培养基 1/2 B_5 ,1/2 BMS 均生长较好,说明试管苗生根对培养基选择上要求不严格。

2.3 生长调节剂类型对生根的影响

从图 1 可以看出,试管苗在不同的生长调节剂培养基中,开始生根的时间有所不同,含 IBA 的培养基中 4 d 左右开始生根,生根高峰出现在转接后第 6 ~ 8 d;在含 NAA 或不含生长素(CK)的培养基中,试管苗一般在 8 d 左右开始生根,生根高峰出现在转接后第

10~12 d;而在含2,4-D的培养基中生根率很低,很可能是对亚麻根的分化有抑制作用,同时伴随有大量愈伤组织形成。所以不同生长素类型对生根诱导有着不同的效果,IBA和NAA在一定浓度范围内不仅具有促进作用,而且还能使试管苗提早生根,但2,4-D却具有抑制根形成的作用。

表2 不同培养基的生根情况

Table 2 Rooting of plantlets in different medium

培养基	苗高/cm	根长/cm	发根密度/cm
1/2 B ₅	2.823 a	3.787 a	11.795 6 a
1/2 BMS	1.434 a	3.263 a	11.136 1 a
BMS	0.541 b	1.482 b	6.138 8 b
B ₅	0.748 b	1.923 b	9.981 3 b
1/2 MSB	0.556 b	1.399 b	7.763 9 b
1/2 MS	0.654 b	1.250 b	5.266 4 b
MSB	0.735 b	1.889 b	6.066 4 b

注:a为0.05水平时,字母a与b表示不同水平,如两者字母相同时,则两者差异不显著;如两者是不同字母,如a与b,则表示两者差异显著,以下表格类似。

Note: a=0.05, "a" and "b" mean the different level, "a" shows, at the same level, the different between "a" and "b" is significant. The same below.

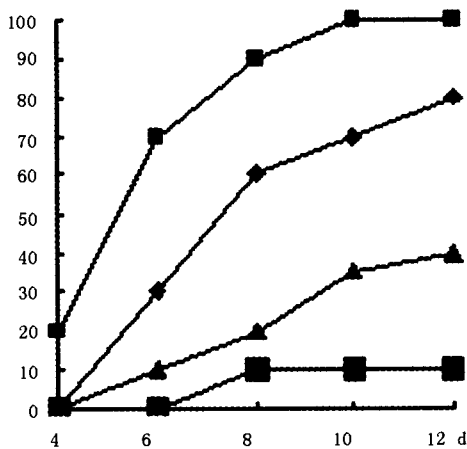


图1 不同生长调节剂对出根速率的影响

Fig 1 Effect of different plant growth regulators on the ratio of rooting

◆ NAA ■ IBA ▲ CK ● 2,4-D

经SSR检测结果发现,IBA在发根密度、侧根长、根干物质重方面的测量指标平均值比其他生长素明显的高,而且与其他生长素方面存在着极显著的差异($\alpha=0.01$)。而2,4-D,CK之间不存在显著差异。因此,浓度0.3 mg/L的不同生长素对生根的作用差异明显,IBA比NAA对生根的作用效果更加明显(表3)。

表3 不同生长调节剂对试管苗生根的影响

Table 3 Effect of different plant growth regulators on rooting

类型	发根密度/cm	侧根长/cm	根干物重/g
IBA	19.350 A	0.819 4 A	0.007 60 A
NAA	10.887 B	0.788 4 A	0.004 86 A
2,4-D	3.000 C	0.132 B	0.001 94 B
CK	2.000 C	0.127 B	0.001 40 B

注:a为0.01水平时,A,B,C三者差异极显著,如A在字母A,B,C中表示差异极显著,如有相同字母的则表示差异极不显著,以下表格类似。

Note: a=0.01, "A", "B" and "C" mean the different level, "A" shows, at the same level, the different among "A", "B", "C" is significant. The same below.

2.4 NAA IBA 及其组合对生根的影响

2.4.1 不同浓度的NAA对生根诱导的影响

不同的材料对生长调节剂的需求不同,若浓度过低,不能促进根的生长;浓度过高,容易形成愈伤组织,而后从愈伤组织上分化出根来,这样由于茎与根之间的维管束连接不好,影响养分和水分的输导,移栽时,根易脱落,且易污染,移栽成活率不高。实验表明,0.1~0.2 mg/L的NAA对根的诱导效果较好,随着浓度增加,根部愈伤化程度也在增加。由F测验结果可知,各处理浓度之间差异显著,但经SSR测验后发现0.1,0.2 mg/L的主根长、主根直径、发根密度、侧根长及根干物重的平均值之间差异并不明显,而与0.3,0.5 mg/L之间差异显著。从各处理浓度的生根率发现0.1,0.2 mg/L浓度的生根诱导率分别为84.43%和86.18%,而0.3,0.5 mg/L由于浓度过高,茎部形成大量的愈伤组织,导致生根很低,只有15.36%,10.44%。因此,NAA对根的诱导有效浓度为0.1~0.2 mg/L。

2.4.2 不同浓度的IBA对生根诱导的影响

由F测验结果表明,除主根长与发根密度存在显著性差异外,其余各测量指标均无明显差异。经SSR多重比较,0.3 mg/L的主根长、发根密度分别为5.425 cm、19.35 根/cm,其主根长比最长的低了8.415 cm,而发根密度却是最密的,比稀的多出了12.528 8根/cm,由此表明,虽然各处理浓度对根的生长都有一定的效果,但0.3 mg/L处理对根的诱导效果是短而密,而0.1 mg/L的却是稀而长。侧根较长不利于移栽,侧根较少则不利于成活,因此,0.3 mg/L浓度对根的诱导效果有利于较高的移栽成活率。

2.4.3 NAA与IBA不同浓度组合对生根诱导的影响

IBA作用强烈,作用时间长,诱导根多而长;NAA

诱导根少而粗,本研究目的就是二者的相互配合,是否有利于取长补短,发挥其生根诱导的最好效果。 F 测验表明,NAA 与 IBA 在侧根生长方面互作显著,说明侧根长度的各处理组合的效应不是各单因素效应的简单相加,而是 NAA 效应随 IBA 浓度不同而不同(或反之)。在其余各项测量指标里,它们之间互作不显著,只是由 NAA 或 IBA 单因素所引起的效应(表 4)。因此,以前面的单因素实验为基础,本研究

不作深入测验,而只以侧根长度为指标的各处理组合进一步作 SSR 测验。测验结果显示,处理组合 NAA : IBA 浓度之比为 4 : 2, 4 : 3, 3 : 1 时侧根长度平均值之间差异不明显之外,与其余 13 种处理组合之间差异显著。但 4 : 2 与 4 : 3 的处理组合由于根部愈伤化程度严重,能显著的引起移栽成活率的下降,因此,适宜的 NAA 与 IBA 之间的浓度组合为 0.3 : 0.1 mg/L。

表 4 NAA 与 IBA 组合的方差分析表

Table 4 Variance analysis of combination of NAA and IBA on rooting

变异来源	自由度 DF	平方和 MS				
		主根长/cm	苗 高/cm	主根直径/cm	发根密度/(根·cm ⁻¹)	侧根长/cm
处理组间	15	17.253 9	8.029 0	0.089 0	147.369 0	7.321 7
NAA	3	18.136 5	13.321 4	0.080 7	245.565 7	15.010 0
IBA	3	12.911 9	20.348 0	0.048 7	52.855 7	2.945 8
NAA × IBA	9	18.407 0	2.158 6	0.105 1	146.141 2	6.217 6
误 差	64	5.979 7	2.144 5	0.052 3	81.478 5	1.004 2
F 值						
变异来源	自由度 DF	主根长/cm	苗 高/cm	主根直径/cm	发根密度/(根·cm ⁻¹)	侧根长/cm
处理组间	15	2.885 3	3.744 0	1.700 1	1.808 684	7.291 0
NAA	3	3.032 9 *	6.211 8 *	1.542 8	3.013 868 *	14.947 0 *
IBA	3	2.159 2	9.488 4 *	0.930 8	0.648 708	2.933 5 *
NAA × IBA	9	3.078 2 *	1.006 5	2.008 9	1.793 615	6.191 5 *

注: * 表示 F 值大于 $\alpha=0.05$ 水平下的 F 值则表示差异显著。

Note: * means $F > F_{0.05}$.

3 讨 论

1) pH 值不仅影响生长调节剂进入细胞,而且还可能影响激素在胞内的作用状况。在 pH 值 6~8 之内,NAA, IAA, 2,4-D 对豌豆上胚轴可溶性胞质蛋白中专一结合蛋白的结合随 pH 值上升而结合量增加^[2],因此,pH 值对植物的生长、分化、发育有着重要的影响。

2) 亚麻多倍体试管苗的生根培养,选用 1/2 B₅ 或 1/2 BMS 为基本培养基,生根效果佳。可见适当降低培养基中无机盐浓度特别是较低 NH₄⁺,有利于亚麻多倍体试管苗的生根,且根多而粗壮,发根快。这与王清连,曹孜义研究的结论一致^[3-4]。

3) 不同的生长调节剂类型对不同的材料诱导生根有不同的效果,即使诱导同一种材料由于化学性质和促进生根的机理不同,因而生根效果也不相同。本实验研究发现,IBA 的诱导效果要比 NAA 的好,并且

在 0.1~0.5 mg/L 之内,没有出现愈伤化现象,但是随 NAA 浓度的增加,其亚麻根部愈伤化程度在加深。这与孟新法对苹果生根诱导的研究所作的结论恰好相反^[5]。

参考文献:

- [1] 胡平建,孙焕良,何增明,等. 亚麻多倍体诱导技术研究 I. 秋水仙碱诱导形态多倍体率的影响因子研究[J]. 中国麻业,2004,26(5):209-211.
- [2] 曹新祥,韩小云. 植物组织培养中的 pH 值[J]. 杭州师范学院学报,2003,2(1):60-63.
- [3] 王清连. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2002:45-47.
- [4] 曹孜义,刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科学出版社,1996,11:50-52.
- [5] 孟新法,周维燕. 吲哚乙酸对苹果矮化砧木离体快繁生根的影响[J]. 北京农业大学学报,1988(2):25-27.