

叶片大小与生长素种类及浓度对鸢尾试管苗增殖效应的影响

任 杰¹，魏 鹏¹，吴建华²

(1. 宁夏职业技术学院 生物工程系 宁夏 银川 750002; 2. 宁夏林业研究所有限公司, 宁夏 银川 750002)

摘 要: 德国鸢尾 8 号试管苗在增殖阶段根茎隐芽的萌发与内列叶片的生长发育呈负相关, 通过调配生长素种类、浓度及接种材料叶片大小可同时提高根茎隐芽个数与内列叶片的生长质量。结果表明: 使用培养基 MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L, 试管苗隐芽萌发个数 3.92, 叶片面积与叶绿素含量也优于其它生长素处理; 用剪刀剪去叶片的 1/2, 接种在培养基 MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 上, 试管苗隐芽萌发个数为 5.22, 叶片长度、叶片面积及叶绿素含量均优。

关键词: 德国鸢尾 8 号; 增殖效应; 相关分析; 离体快繁

中图分类号: S 682.1⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)08-0081-04

宿根花卉是园林景观中隙地点缀的主栽品种^[1]。鸢尾绿期较长、花形多样、花色绚丽, 是宿根花卉的优秀一族。有髯鸢尾是现代鸢尾中最灿烂一族, 魂断蓝桥、德国鸢尾、法国回声等名贵品种均属该系列, 除用于园林造景、鲜切花外其它价值也被逐步开发。

德国鸢尾属根茎类鸢尾, 目前最常用繁殖方法是分株繁殖^[2]。分株繁殖可在短时间内获得有开花能力的植株, 但繁殖系数低, 不适宜于大规模的商业生产, 利用组培快繁技术特定季节内提供大量鸢尾商品种苗成为必然。试验中发现鸢尾试管苗在继代增殖时多伴有叶片徒长、旺长, 而根茎隐芽萌发较少的现象, 致使增殖率偏低, 组培扩繁成本增大。该试验根据相关报道设置不同处理, 试图探明: 鸢尾试管苗在继代增殖过程中叶片的生长发育与根茎隐芽的萌发是否存在拮抗关系; 改变试管苗叶片大小能否提高根茎隐芽的萌发数量; 生长素对多数试管苗叶片伸展有利, 设想调配培养基中生长素种类及浓度能否诱导出更多的根茎隐芽。该研究可为鸢尾组培工厂化生产提供一定技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料

整个试验在宁夏职业技术学院生物工程系植物快

繁中心进行。供试试管苗购于宁夏林业研究所生物种苗工程国家重点实验室, 为德国鸢尾 8 号, 该品种属根茎鸢尾, 抗逆性优于蓝蝴蝶^[3]; 1 年春、秋两季开花, 观赏价值明显高于马兰。德国鸢尾 8 号叶片微草质, 剑状, 于茎的基部作扇状开展, 多列生, 叶片先端弯曲下垂, 近根部叶缘有刀削样的缺刻。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设置 试验共设置 10 个处理, 分 2 类, 调配培养基中的生长素浓度及种类与改变外植体叶片大小。生长素处理见表 1 所示, 参照黄洁^[4] 等研究结果将培养基中 BA 固定为 1.0 mg/L, 试验共 6 个处理; 外植体叶片大小共 4 个处理, 见表 2 所示, 因德国鸢尾 8 号属叶片多列生, 接种时统一用剪刀对最外列叶片沿叶片垂直主脉方向剪切, 接入筛选出的最优生长素配方培养基。以上培养基无说明均附加 30 g/L 蔗糖、4.2 g/L 琼脂粉, pH 6.0, 0.11 Mpa 与 121℃下灭菌 15 min。

1.2.2 材料要求 接种材料均取自生长在 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基中的试管苗, 选择试管苗叶片长度为 2.5~3 cm、叶宽 0.5~0.7 cm 的试管苗, 单株接入, 根状茎上无起始隐芽。培养容器均选用 150 mL 三角瓶, 每瓶接 2 株, 每个处理重复 3 次, 每次 10 瓶。

1.2.3 培养条件 试管苗处理之间随机摆放, 培养温度为 (25±2)℃, 光照周期 16 h/d, 光照强度 40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

1.2.4 测量指标与方法 待试管苗生长 35 d 后, 摘取母株 (35 d 前用于试验的试管苗) 最内列叶片测定其长度与宽度 (单位: cm)、叶片重量 (精确至 0.0001 g)、叶片面积 (精确至 0.01 cm²)、叶绿素含量 (单位: mg/g)、主根茎的重量 (精确至 0.0001 g)、主根茎的直径 (单位: cm)、

第一作者简介: 任杰 (1962-), 女, 银川市人, 硕士, 副教授, 现主要从事植物组织培养与设施园艺研究工作。E-mail: nj666666@126.com。

通讯作者: 魏鹏 (1981-), 男, 硕士, 讲师, 现主要从事植物组织培养与植物生理生态学研究。

基金项目: 国家师范性高等职业院校建设资助项目 (2007-04-01)。

收稿日期: 2009-02-20

主根茎上的隐芽数(单位: 个)。测量叶片长度与宽度时先用硬纸板轧平, 长度用直尺量, 取叶尖至缺刻最深处的距离; 宽度用游标卡尺量取叶片中部最宽处; 测量叶面积时先用扫描仪扫描叶片, 形成图片, 然后用 Scion Image 软件计算; 叶片叶绿素含量的测定采用 SINTEK 活体叶绿素仪; 主根茎的直径取最大长度, 用游标卡尺测量。同一指标在处理内重复测量 3~5 次, 结果取平均值。

表 1 不同生长素处理及编号

Table 1	Auxin treatment and its labeled name
配方编号 Formula No	配方组分 Formula components/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
a1	MS+BA 1.0+NAA 0.1
a2	MS+BA 1.0+NAA 0.5
a3	MS+BA 1.0+IBA 0.1
a4	MS+BA 1.0+IBA 0.5
a5	MS+BA 1.0+IAA 0.1
a6	MS+BA 1.0+IAA 0.5

1.2.5 数据处理 处理间各测量指标作相关分析, 探明德国鸢尾 8 #试管苗在不同培养基及不同外植体叶片大小中叶片的生长发育状况与隐芽萌发的相互关系; 不同生长素处理间作方差分析, 确定试管苗在叶片与隐芽萌发均适宜情况下培养基的最佳组分; 不同叶片大小处理间作方差分析, 在适宜生长素种类及浓度确定的情况下得出一种较适宜的叶片处理方式, 用于指导实践。利用

表 3 鸢尾 8 #试管苗叶片发育与根茎隐芽萌发相关分析

Table 3	Correlation analysis of development of leaf and rhizomic budbreak of Iris plantlets							
	叶片长度 Leaf length	叶片宽度 Leaf width	叶片面积 Leaf area	叶片重量 Leaf weight	叶绿素含量 Chlorophyll content	主根茎重量The weight of the main roots	主根茎直径The diameter of the main roots	隐芽个数 Bud number of hidden
叶片长度	1							
叶片宽度	-0.245	1						
叶片面积	0.687 *	0.212	1					
叶片重量	0.421	0.083	0.329	1				
叶片叶绿素含量	-0.472	0.377	-0.267	0.098	1			
主根茎重量	-0.034	-0.028	-0.187	-0.396	0.004	1		
主根茎直径	-0.889 *	-0.332	-0.129	0.103	-0.087	0.901 *	1	
隐芽个数	-0.498	-0.097	-0.387	-0.802 **	-0.776 **	0.392	0.329	1

注 **表示显著性水平为 1%; *表示显著性水平为 5%。Note: ** means the significance is 1%; * means the significance is 5%.

2.2 不同生长素处理间试管苗叶片生长发育与隐芽萌发情况对比

如图 1 所示, 调配培养基中的生长素种类及浓度对叶片宽度影响不大, 除配方 a1 生长的试管苗叶片长度显著高于 a5 外, 其它处理差别不大; 培养基中生长素由 NAA 更换为 IBA、IAA, 叶片长度增大, 且同一生长素低浓度处理要明显大于高浓度; 叶片重量各处理差异不显著; 叶片面积与叶片长度、主根茎重量与主根茎直径表现出一致的变化规律, 叶片面积 a5 最大, a3 次之, 主根茎重量方面 a2 与 a4 显著高于另外 4 个处理; 主根茎上萌发的隐芽个数与叶绿素含量呈现相反的变化特点, 这与前文相关分析的结果一致。

结合隐芽个数、叶绿素含量、叶片长度等指标认为

SPSS13.0 统计软件对数据进行处理分析, 利用 Origin 7.5 结合 Excel 制图表。

表 2 不同叶片大小处理及编号

Table 2	Treatment of leaf size and its labeled name
处理编号 Treatment No.	处理方法 Treatment method
b1	剪去一侧一整片叶的 1/3
b2	剪去一侧一整片叶的 1/2
b3	剪去一侧一整片叶的 2/3
b4	剪去一侧一整片叶

注: 剪叶片时沿叶片主脉垂直方向剪。Note: shear the leaf upright the central nerve.

2 结果与分析

2.1 试管苗叶片发育状况与根茎隐芽萌发的相关分析

由表 3 可得, 德国鸢尾 8 #试管苗主根茎的直径与最内侧叶片的长度极显著负相关, 主根茎上萌发的隐芽个数与最内侧叶片叶绿素含量、叶片重量极显著负相关, 该结果表明主根茎上隐芽的萌发与叶片的生长发育存在一定竞争关系。

叶片长度与叶片面积正相关, 表明改变培养基中的生长素种类与浓度对叶片宽度影响不大。叶片面积与重量未表现出明显的相关关系, 这可能与叶片内含物差别较大有关。

主根茎的重量与主根茎的直径呈正相关。

配方 a3(MS+BA 1.0+IBA 0.1)适合德国鸢尾 8 #试管苗增殖, 隐芽萌发个数为 3.92, 叶片的生长发育与隐芽的萌发竞争较弱。

2.3 不同叶片大小处理间试管苗叶片生长发育与隐芽萌发情况对比

接种时用剪刀剪去叶片的部分后, 接种在 MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 培养基中, 试管苗叶片的长度、叶片面积、叶绿素含量、隐芽个数整体高于前文生长素处理系列。

叶片长度最高为 b2 处理为 3.43, 显著高于另外 3 个处理; 叶片宽度 b4 最小, b1、b2、b3 差别不大。

叶片面积与叶片长度、主根茎重量与主根茎直径表现正相关, 该规律性特点与生长素处理系列一致。

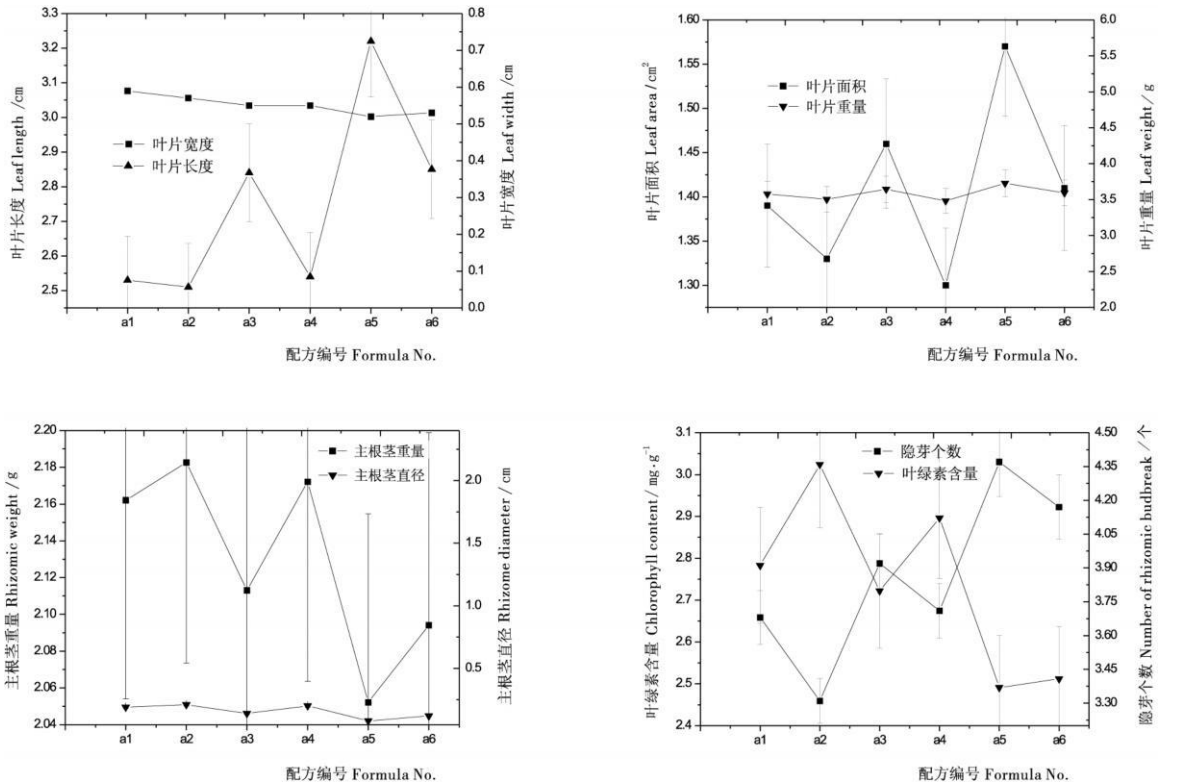


图1 不同种类及浓度生长素处理对德国鸢尾8#试管苗叶片生长发育与隐芽萌发的影响

Fig. 1 The effect of variety and concentration of auxin treatment on the growth and development and rhizomic budbreak of Iris plantlets

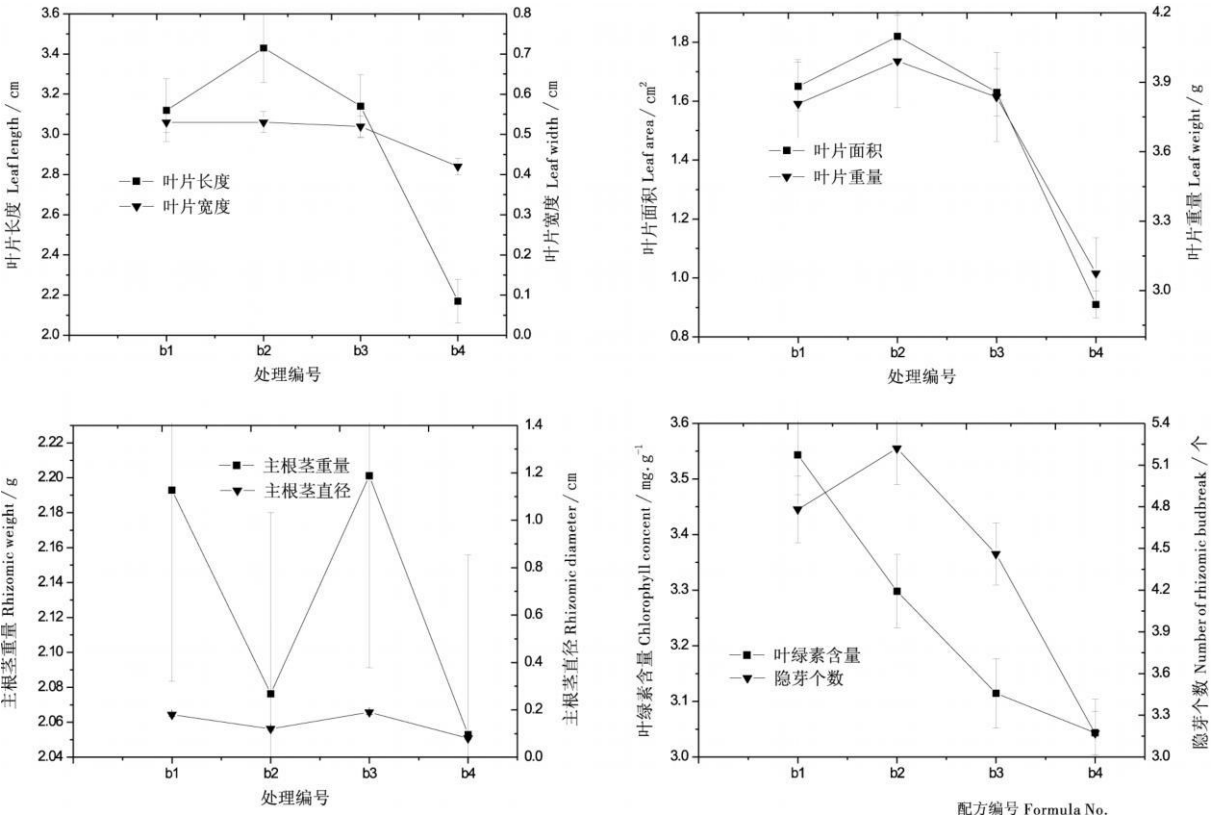


图2 不同外植体叶片大小处理对德国鸢尾8#试管苗叶片生长发育与隐芽萌发的影响

Fig. 2 The effect of the size of explants on the growth and development and rhizomic budbreak of Iris plantlets

叶绿素含量 b1 最高, 随叶片剪除面积的增大而逐渐减小; 隐芽个数 b2 最高, b1 次之; 处理 b4 各个指标均最小, 这可能与剪去整个叶片有关。

结合试管苗叶片长度、叶绿素含量、隐芽个数等指标综合考虑, 认为 b2 处理即接种时剪去最外层叶片的 1/2 对后期内列叶片的生长发育及隐芽的萌发有利。

3 小结与讨论

鸢尾相对于其它难离体快繁植物属较易一类, 因此, 微繁过程中如何保持根状茎持续较高的分化能力、如何弱化试管苗叶片与根状隐芽的竞争等技术细节成为核心关键问题^[3], 这对指导鸢尾组培快繁、大规模生产大有裨益。

自然界中的鸢尾根状隐芽由上年花后形成, 次年春季萌发形成侧芽, 对于多列生叶片的鸢尾, 其内侧叶片的生长发育与隐芽的萌发存在拮抗关系^[6-7]。试验相关分析结果表明, 主根状茎上萌发的隐芽个数与内侧叶片叶绿素含量、叶片重量等指标极显著负相关, 该结果与露地鸢尾生长特性一致。

生长素除具有促进细胞伸长、促使根原基分化的功能外对叶片展开、展平也有一定功效, 尤其是一些叶面积较大的植物。试验设置不同活性的生长素处理, 且同一生长素中又设置 2 个浓度梯度处理, 权衡叶片生长发

育与根茎隐芽萌发皆宜的基础上得到增殖培养基配方: MS+BA 1.0+IBA 0.1, 隐芽萌发个数为 3.92。

鸢尾属植物接种时剪去外列叶片的一部分对提高内列叶片的生长质量与根状隐芽的萌发有利, 而该试验证明剪去接种植物材料外列叶片的 1/2 较为合适, 隐芽萌发个数为 5.22, 增殖效应明显。

参考文献

- [1] 郭晋燕, 张金政, 孙国峰, 等. 根茎鸢尾园艺学研究进展[J]. 园艺学报, 2006, 33(5): 1149-1156.
- [2] 郭晋燕, 张金政, 孙国峰, 等. 喷施 6-BA 促进德国鸢尾根茎芽的萌发[J]. 园艺学报, 2007, 34(2): 461-464.
- [3] 黄洁, 马登萍. 德国鸢尾的组织培养试验[J]. 青海农林科技, 2008(1): 15-16.
- [4] 万劲, 石雷, 张金政, 等. 盐胁迫对鸢尾叶片生理指标的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2006, 30(1): 57-59.
- [5] Neri D, Mazzoni M, Zucconi F. Feathering control in sweetcherry (*Prunus avium* L.) nursery, by deblading and cytokinin[J]. Acta Horticulturae 2004, 636: 119-127.
- [6] Oates J M, Keever G J, Kessler J R. Developmental stage influences plant response to benzyladenine[J]. Journal of Environmental Horticulture, 2005, 23(3): 149-152.
- [7] Oates J M, Keever G J, Kessler J R. BA application frequency and concentration effect on two Indian hawthorn cultivars[J]. Journal of Environmental Horticulture 2005b, 23(1): 37-41.

The Effect of Auxin Variety and Concentration and Leaf Size on Propagating Result of Iris Plantlets

REN Jie¹, WEI Peng¹, WU Jian-hua²

(1. The Bio-engineing Department of Ningxia Professional and Technical College, Yinchuan, Ningxia 750021, China; 2. Ningxia Forestry Research Institute, Yinchuan, Ningxia 750002, China)

Abstract: The growth and development of inside leaf was negative correlation to promotion of rhizomic budbreak of *Iris germanica* 'white and blue', preparing the auxin variety and concentration and the leaf size of inoculating materials which can improve the number of rhizomic budbreak and growth quality of inside leaf. The experiment reduced the number of rhizomic budbreak was 3.92 and the leaf area, the amount of chlorophyll was significant excellent than other auxin treatments when inoculated on the medium MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L; using scissors get rid of one half of leaf, then inoculate plantlets on the medium MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L, the number of rhizomic budbreak will ascend to be 5.22, the length of leaf, the leaf area and the amount chlorophyll represent obvious superiority.

Key words: *Iris germanica* 'white and blue'; Propagating result; Correlation analysis; Rapid propagation *in vitro*