

植物激素和蔗糖对山葡萄离体茎段腋芽及根发育的影响

韩东生 吴绛云

(东北农学院生物工程系·哈尔滨)

摘要 以“左山一号”山葡萄品种试管苗为试材,探讨了植物激素和蔗糖对茎段腋芽发育和生根的影响。结果表明,腋芽的萌发必须有BA和蔗糖的存在,单独使用BA可促进腋芽的增殖,但不利于腋芽伸长。BA与IAA配合有利于腋芽增殖和伸长。蔗糖对腋芽增殖和生长有较为显著的影响,增殖培养中蔗糖浓度不宜低于2.5%,带叶嫩梢可在不添加生长素和蔗糖的条件下达到较高的生根率。

关键词 山葡萄;离体茎段;器官发育;激素和蔗糖的影响。

山葡萄(*Vitis amurensis* Rupr)是经济价值很高的果树资源。扦插繁殖比较困难,利用离体培养的方法快速繁殖优良山葡萄品种苗木是行之有效的途径。葡萄组织培养快速繁殖的研究已有许多报道,但山葡萄离体培养的研究比较少见。为了提高山葡萄试管苗的增殖率和生根率,本文探讨了植物激素和蔗糖对茎段腋芽和根发育的影响。

材料和方法

试验采用“左山一号”山葡萄品种的试管苗带芽茎段和顶梢。以MS为基本培养基,根据处理要求添加不同浓度的BA、NAA、IAA和蔗糖。各处理培养基的琼脂含量均为7克/升,用1N NaOH调PH至5.8—6.0,培养基分装于50毫升的三角瓶中,每瓶约20毫升,用手提式高压灭菌锅,在1公斤/厘米²的压力下灭菌20分钟。培养条件,光照培养用40瓦日光灯照明,光照强度为1500Lux左右,每天光照10—12小时。培养温度:昼间25±2℃,夜间15±2℃。

结果和讨论

(一)激素对腋芽萌发和增殖的作用

1. BA的单独作用

采用不同浓度的BA处理,观察其对腋芽萌发和增殖的影响,结果如表1所示。

表1 不同浓度BA处理的效果

BA(毫克/升)	接种茎段数	萌芽数	萌芽率(%)	增殖倍数
0	30	0	0	0
0.5	30	27	90	2.4
1.0	30	28	93.3	3.9
1.5	30	30	100	3.8
2.0	30	30	100	2.8
2.5	30	30	100	2.9
3.0	30	27	90	1.1

在没有BA的情况下萌芽率为零,有BA的处理萌芽率均达90%以上。而且,随着BA浓度的增高,萌芽率也呈增加趋势。BA超过1.5毫克/升时,萌芽率达100%。从增殖倍数看,BA在1.0—1.5毫克/升时,增殖倍数最高,超过2.0毫克/升时,又明显下降。单独添加BA时,虽然有的处理增殖率较高,但普遍存在着抑制幼芽伸长的现象。而且,随着BA浓度的增加,抑制作用明显增大,使培养物呈芽丛状。这种丛状芽往往难以诱导

北方园艺 (总92) 15

生根。因此,有必要将生长素类与BA配合使用,来促进芽的伸长。

2. BA与NAA配合的效果

不同浓度的BA与NAA配合,结果表明,在BA浓度较低的情况下,随着NAA浓度的增高,腋芽的萌发明显受到抑制。BA浓度提高时,NAA抑制腋芽的作用有很大减弱,萌芽率显著提高,说明较高浓度的BA可部分解除NAA的作用效果。

表2 不同浓度BA与NAA处理的
萌芽率(%)和增殖倍数

BA(毫克/升) NAA(毫克/升)	0.01	0.05	0.5	1.0
0.5	40(1.3)	33.3(1.2)	16.7(0.4)	3.3(0.1)
1.0	70(2.6)	60(2.0)	23.3(0.7)	6.6(0.2)
3.0	93.3(3.3)	93.3(3.3)	83.3(2.6)	53.3(1.0)
5.0	96.6(2.2)	96.6(2.4)	93.3(2.7)	76.6(2.1)

促进腋芽萌发。从芽的生长和增殖状况看,较低浓度的BA(0.5—1.0毫克/升)和NAA配合时,芽可有一定程度的伸长,但这些浓度组合的萌芽率平均只有31.7%,最高时只达到70%,增殖率也普遍较低。较高浓度的BA(3.0—5.0毫克/升)与NAA配合时,虽然有的组合萌芽率和增殖倍数均较高,但伸长的芽丛仍然很少,在这里NAA对芽伸长的促进作用不明显。而且,随着NAA浓度的增高,萌芽率和增殖倍数也随之降低,外植体基部发生的愈伤组织增多。所以,BA与NAA配合不适于山葡萄茎段腋芽的生长和增殖。

3. BA与IAA配合的效果

表3 不同浓度BA与IAA处理的
萌芽率(%)和增殖倍数

BA(毫克/升) NAA(毫克/升)	0.05	0.5	1.0	3.0
0.5	96.7(2.4)	93.3(2.7)	26.7(1.0)	13.3(1.8)
1.0	96.7(4.0)	90(3.4)	90(2.9)	36.7(1.7)
3.0	93.3(2.2)	96.7(2.9)	93.3(2.7)	83.3(2.3)
5.0	93.3(1.5)	100(2.2)	96.7(1.9)	93.3(1.6)

BA与IAA配合的结果如表3所示,从对萌芽率的影响看,在BA浓度较低时(0.5—1.0毫克/升),随着IAA浓度的升高,萌芽率也明显下降,但IAA抑制腋芽的作用比NAA要小,从增殖上看,较低浓度的IAA(0.05—0.5毫克/升)与适当浓度的BA(1.0毫克/升)配合可达到较高的增殖倍数,而且芽可适当伸长,生长比较

健壮。所以,适当浓度的BA与IAA配合,对于山葡萄离体茎段的萌芽和增殖效果优于BA与NAA配合。其中BA1.0毫克/升与IAA0.05毫克/升配合的效果最佳。用此激素组合进行增殖培养,对其中24株跟踪调查,经过三个月(三次继代)的培养,试管苗增殖到2094株,平均每代增殖4.4倍。如果按此推算,一个腋芽培养一年(12代)可增殖成五千多万株,这样高的增殖速度完全可以满足工厂化大规模生产苗木的要求。

在离体培养中,激素往往起决定性的作用。如何通过调节激素的种类和组合提高试管苗的繁殖速度,是离体培养快速繁殖的关键问题。黑田伊作曾以巨峰葡萄腋芽为试材,进行了BA和NAA最适浓度的研究,结果确定BA1.0毫克/升NAA0.1毫克/升对茎尖的增殖和生长最适宜。本研究的结果也证明在有生长素存在的条件下,BA1.0毫克/升对山葡萄腋芽的增殖和生长效果最佳,所不同的是BA与NAA配合效果不佳,与IAA配合效果为好,这可能与葡萄种间或生理状态的差异有关。

(二)蔗糖对腋芽发育的影响

在相同的激素条件下,采用不同浓度的蔗糖处理,结果如表4所示。在没有蔗糖的情况下,茎段腋芽全部不能萌发。而较低的蔗糖浓度时即可达到很高的萌芽率。说明萌芽不仅受激素影响,碳营养也是限制因子。在一定的激素水平下,只有满足了最低的营养需要腋芽才能正常萌发。此外,蔗糖对腋芽萌发后的增殖和生长也有非常显著的影响。随着蔗糖浓度的提高,可明显促进腋芽的增殖和生长。蔗糖浓度低于25克/升时,腋芽的增殖和生长明显受到抑制。

表4 不同浓度蔗糖处理的腋芽发育状况

蔗糖浓度(克/升)	接种数	萌芽数	萌芽率(%)	增殖倍数	高于1厘米苗数
0	54	0	0	0	0
10	54	51	94.4	0.9	0
15	54	52	96.3	1.0	2
20	54	51	94.4	1.4	11
25	54	54	100	2.2	23
30	54	54	100	2.6	34

在植物离体培养中,由于多数外植体难以通过光合作用实现自养,所以必须添加糖类,最常用和效果最好的是蔗糖。大多数植物细胞对蔗糖的需要范围是20—40克/升。蔗糖是培养基中用量最大的成份。在试管苗快速繁殖中,如果能适当减少蔗糖的用量,则可一定程度地降低生产成本。但是,从本研究的结果看,在腋芽的增殖培养中蔗糖的浓度不宜低于25克/升。

(三)生长素对根发育的影响

茎段腋芽萌发增殖后,生长到1厘米左右的长度时,即可诱导生根。以不同浓度的IAA诱导山葡萄试管幼苗生根。结果表明,各处理的生根率及平均每株发根数均无显著差异。不添加IAA时也达到了较高的生根率,表明山葡萄试管苗的生根可不依赖外源生长素的诱导。研究中发现,在IAA 0.5—2.0毫克/升浓度范围内,随着浓度的提高,根的生长逐渐变得短粗,而未加IAA处理的根比较细长,说明IAA浓度的提高可抑制山葡萄试管苗幼根的纵向伸长,促进加粗生长。IAA在0.5—1.0毫克/升时,发生的根比较健壮。

表5 不同浓度IAA处理的生根状况

IAA(毫克/升)	接种数	生根数	生根率(%)	平均每株发根数
0	29	26	89.7a	2.8b
0.5	28	27	96.4a	2.4b
1.0	29	27	93.1a	2.7b
2.0	30	28	93.3a	2.6b

在一些果树离体培养的生根诱导中,生长素类往往是不可缺少的。以往葡萄离体培养的生根诱导多使用IAA或IBA,而在本研究中,在无生长素的培养基上也达到了较高的生根率,与有IAA处理无显著差异。一般认为,较高浓度的生长素有抑制根的伸长和刺激形成层分裂的作用,而且根组织对生长素最为敏感,浓度稍高就超过最适浓度而起抑制作用。根据本研究结果可以推测,山葡萄试管苗内生生长素含量可能较高。所以,在无外源生长素的条件下也能满足生根的需要,而达到较高的生根率。在添加外源生长素的情况下,使生长素总水平提高,超过最适浓度,因而对根的伸长产生抑制作用,并刺激形成层分裂促进加粗生长,使根生长比较短粗。

(四)蔗糖对根发育的影响

在不添加生长素的条件下,采用不同浓度的蔗糖处理诱导生根。结果表明,各处理间的生根率差异不显著,均达到90%以上。在不加蔗糖的情况下生根率也很高。蔗糖对发根的数量有一些影响,随着蔗糖浓度的提高,根的数目也有增加的趋势,但超过20克/升时,又明显下降。所以,在诱导生根时可不加或只加少量蔗糖。

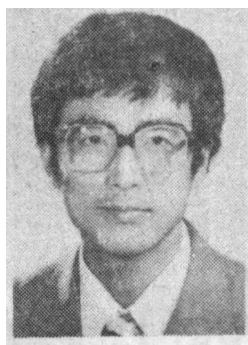
有报道指出,诱导苹果试管苗生根时,蔗糖的影响很大,不添加蔗糖时生根率很低。本研究结果与之相反。为了探讨其原因,在不添加激素的条件下,以不同的处理形式诱导生根。结果表明,在不添加蔗糖的情况下,带

叶片与不带叶片的幼苗在相同的光照条件下培养,生根相差甚大,前者达88.9%,而后者无一生根。同样带叶片暗培养的也没有生根。说明幼苗可依靠自身的叶片进行光合作用。合成同化产物以满足生根的需要,因而在无外源蔗糖的情况下也可达到较高的生根率。在光合作用受阻时(去叶或暗培养),不能合成同化产物,根的发生也就受到阻碍。但是,去掉叶片的幼苗,在添加蔗糖和光照条件下培养,生根率只有43.3%,与带叶片无蔗糖光照培养的处理相比差异极显著。说明叶片对生根的作用不仅仅是合成同化产物,还可能合成某些活性物质促进生根。

另外,从应用角度看,生根培养中不添加蔗糖,不但可降低培养成本,而且有利于试管苗靠光合作用实现自养。试管苗从瓶内移栽到瓶外是从异养到自养的转变过程。如果在生根阶段就使其达到光自养状态,则可能有益于提高移栽成活率。

作者简介:韩东生,33

岁,毕业于东北农学院园艺系果树专业,农学硕士,83—87年在园艺系果树育种教研室任教。现任生物工程系植物生物工程教研室讲师,实验室主任,从事植物组织培养和细胞工程方面的教学和科研工作,先后参加多项省重点科技项目的研究,有两项成果分别获



得农业部科技进步三等奖和省农业科技进步二等奖。在果树组织培养和快速繁殖方面具有较高造诣和较丰富的实践经验。

请订阅《长江蔬菜》

《长江蔬菜》是由农业部蔬菜办会同长江流域上海、武汉、重庆、湖南等13个省市蔬菜主管部门联合主办的蔬菜专业科技期刊,她坚持普及与提高相结合的方针,是蔬菜科技人员、大专院校师生、蔬菜管理工作、生产者、专业户的必备刊物。现已开始办理1994年的征订工作。全年共6期,单月8日出版,每期定价1.30元,年订价7.80元。除全国各地邮局均可订阅外,欢迎直接向本编辑部订阅。挂号另加每期0.40元,全年共计10.20元。

发行部地址:湖北汉口万松园路15号。邮政编码:430022。直拨电话:027—556183。

北方园艺 (总92) 17