

不同处理对刺梨花药愈伤组织诱导及褐变的影响

陈 红<sup>1</sup>, 张绿萍<sup>1,2</sup>

(1. 贵州大学 喀斯特山地果树资源研究所, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省果树科学研究所, 贵州 罗甸 550100)

**摘 要:**以刺梨花药为试材, 研究了不同预处理、附加物对刺梨花药愈伤组织形成及褐变的影响。结果表明:低温处理 3 d, 刺梨花药愈伤组织诱导率最高, 褐化率最低;以 100 mg/L 维生素 C 浸泡处理 2 h 后, 花药愈伤组织诱导率最高, 为 50.63%, 而褐化率最低, 为 10.63%;在培养基中加入不同浓度的维生素 C 或硝酸银可以促进刺梨花药愈伤组织的形成, 降低花药的褐化, 其中在添加有 100 mg/L 的维生素 C 或 50 mg/L 的硝酸银的培养基中, 花药褐化程度最低。

**关键词:**刺梨; 花药培养; 愈伤组织; 诱导率; 褐化率

**中图分类号:**S 661.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)07-0215-03

刺梨(*Rose roxburghii* Tratt cv.)系蔷薇科蔷薇属多年生落叶小灌木, 我国特产, 具有高营养、高药用、多利用价值<sup>[1]</sup>。但刺梨种子多且硬, 可食率较低, 尤其对其加工有不利的影响;同时现有品种作为鲜食, 大多口感较差, 刺多。因此, 有必要进行少核或无核、无刺、优质刺梨新品种的选育与开发。花药培养作为细胞工程育种的重要手段, 可以大大提高育种效率、缩短育种时间<sup>[2-3]</sup>, 已显示出广阔的应用前景。

刺梨含有大量的单宁物质<sup>[4]</sup>, 大大降低了植物细胞工程育种的效率。为此, 研究通过不同预处理以及添加不同附加物, 以研究它们对花药褐变及愈伤组织形成的影响, 为诱导刺梨单倍体植株奠定技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料取自贵州大学试验农场, 品种为“贵农 5 号”刺梨, 在花粉发育单核期, 取花蕾放在 4℃冰箱中保存 3~7 d, 接种前用流水冲洗 1~2 min, 在无菌条件下取花蕾投入 75%的酒精浸泡 30 s, 再放入 0.1%升汞中消毒 15 min, 用无菌水冲洗 3~5 次。然后剥取花药接种在诱导愈伤组织的培养基上, 每瓶 25~30 粒。

1.2 方法

1.2.1 材料的低温预处理 采集的花蕾经 0、3、5、7 d 的低温(4℃)处理后, 剥取花药接种在附加 1.0 mg/L 6-BA

和 2.0 mg/L NAA 的 MS 培养基上进行暗培养。

1.2.2 Vc 浸泡处理对对花药褐变及愈伤组织诱导的影响 将刺梨花蕾经低温(4℃)处理 3 d 后, 剥取花药用 0、60、100 mg/L 的 Vc 浸泡 0、2、4 h 后, 接种在附加 1.0 mg/L 6-BA 和 2.0 mg/L NAA 的 MS 培养基上进行暗培养。

1.2.3 附加物对花药褐变及愈伤组织诱导的影响 在培养基中分别添加不同浓度的 Vc(50、100、150 mg/L)和 AgNO<sub>3</sub>(50、100、150 mg/L), 以观察附加物 Vc 和 AgNO<sub>3</sub> 对花药褐变及愈伤组织诱导的影响。

1.3 培养条件

置于培养室进行培养。诱导阶段均为暗培养, 暗培养 1 个月后转入光培养, 光强为 2 000 lx, 光照为 16 h/d, 温度为(25±1)℃, 基本培养基为 MS, pH 5.8 琼脂 5.5 g/L, 蔗糖 30 g/L。

2 结果与分析

刺梨花药接种 1 周后, 花药逐渐膨大, 部分花药开始变褐, 12 d 后, 颜色由黄色转黄褐色直至褐色。3 周后, 部分花药在花丝远端形成白色、致密、颗粒状愈伤组织, 1 个月后部分褐色或黑褐色的花药裂开, 在花药壁及花药裂缝处产生白色、疏松、颗粒状的愈伤组织。

2.1 低温处理对花药愈伤组织诱导的影响

从表 1 中看出, 4℃低温处理能显著提高刺梨花药愈伤组织诱导率, 降低花药褐化率, 以低温处理 3 d 愈伤组织诱导率最高, 达 16.88%, 褐化率最低, 为 65.63%, 但随着低温处理时间的延长, 褐变频率有所提高, 因此预处理时间不能太长, 以低温处理 3 d 最适宜。

2.2 Vc 浸泡处理对花药愈伤组织诱导的影响

由表 2 可以看出, 一定浓度的 Vc 浸泡处理可以大大提高刺梨花药愈伤组织诱导率, 其中以用 100 mg/L

第一作者简介: 陈红(1975-), 男, 重庆潼南人, 博士, 副教授, 主要从事生物技术与园艺植物遗传育种研究。E-mail: chenh96@yahoo.com.cn.

基金项目: 贵州省科学技术基金资助项目(黔科合 J 字[2007] 2054 号); 贵州大学引进人才科研资助项目(X060039)。

收稿日期: 2008-02-10

Vc 处理 2 h 最有利于花药愈伤组织的形成,愈伤组织诱导率高达 50.63%。从各处理的褐化情况来看,各处理与对照相比,均达到极显著水平,表明通过一定时间

的不同浓度的 Vc 浸泡处理,可以极显著地降低褐化率。其中以 100 mg/L Vc 处理 2 h 后,花药褐化率最低。

表 1 低温处理对花药愈伤组织诱导及褐变的影响

处理时间/d	接种花药数	形成愈伤组织数	褐化数	愈伤组织诱导率/%	褐化率/%
0	193	2	178	1.04 cC	92.23cC
3	160	27	105	16.88 aA	65.63eE
5	196	15	169	7.65 bB	86.22dD
7	194	30	183	15.46 aA	94.33bB
9	205	32	197	15.61 aA	96.09aA

注 大写字母表示 1%差异显著水平,小写字母表示 5%差异显著水平,字母相同表示不显著。以下各表同。

表 2 Vc 浸泡处理对花药愈伤组织诱导的影响

Vc 浓度/ mg · L <sup>-1</sup>	浸泡时间/h	接种花药数	愈伤组织数	褐化数	愈伤组织诱导率/%	褐化率/%
60	2	120	43	16	35.83dD	13.33bBC
60	4	160	64	19	40.00 cC	11.88dBC
100	2	160	81	17	50.63aA	10.63dC
100	4	160	73	23	45.63bB	14.38bB
0	0	300	58	239	19.33eE	79.67aA

2.3 不同附加物对花药愈伤组织诱导的影响

从表 3 可以看出,在培养基中添加一定浓度的 Vc 和 AgNO<sub>3</sub>有利于提高刺梨花药愈伤组织诱导率,其中以添加浓度为 100 mg/L 的 Vc 或 50 mg/L 的 AgNO<sub>3</sub>最有利于刺梨花药愈伤组织的形成,其诱导率分别为47.33%和 38.00%,明显高于对照。但添加 Vc 或 AgNO<sub>3</sub> 浓度过高,其花药愈伤组织诱导率反而低于对照。从接种后花药褐化情况看,附加一定浓度的 Vc 和 AgNO<sub>3</sub>均利于降低褐化率,以添加浓度为 100 mg/L 的 Vc 或 50 mg/L 的 AgNO<sub>3</sub>培养中,花药褐化程度最低。

表 3 不同附加物对花药愈伤组织诱导的影响

附加物	浓度 / mg · L <sup>-1</sup>	接种花药数	形成愈伤组织数	褐化数	愈伤组织诱导率/%	褐化率/%
Vc	50	300	103	172	34.33 bB	57.33cC
	100	300	142	132	47.33 aA	44.00dD
	150	300	33	198	11.00 dD	66.00bB
AgNO <sub>3</sub>	50	300	114	120	38.00 bB	40.00dD
	100	300	64	161	21.33 cC	53.67cC
	150	300	16	245	5.33 eD	81.67aA
CK	0	300	36	245	12.00 dD	81.67aA

3 结论与讨论

植物花药愈伤组织形成受多种因素的制约。许多研究表明,外植体在培养前施以适当的低温处理可以大大提高愈伤率。在试验中,低温预处理对刺梨花药愈伤组织诱导有显著的影响,以低温处理 3 d,花药愈伤组织诱导率最高,褐化率最低,这与大多数植物诱导花药愈伤组织需要低温处理相一致<sup>[5-9]</sup>,但同时低温处理可以降低褐化率,这是因为低温处理可有效延缓花药表皮与药室内壁膜结构的降解速度,减缓褐变的发生<sup>[7]</sup>。

在一些植物花药离体培养过程中,硝酸银和维生素

C 可以减轻褐化,促进花药愈伤组织的形成<sup>[8]</sup>,试验也得到了同样的结果,通过不同浓度的 Vc 溶液浸泡花药,可以提高愈伤组织诱导率和降低褐化率,其中以 100 mg/L Vc 处理 2 h 后,花药愈伤组织诱导率最高,而褐化率最低。在培养基中加入不同浓度的 Vc 或硝酸银也可以大大促进刺梨花药愈伤组织的生成,降低花药的褐化,其中以添加浓度为 100 mg/L 的 Vc 或 50 mg/L 的硝酸银培养基中,花药褐化程度最低。Vc 可以降低褐化率,这主要是由于 Vc 可作为抗氧化剂,阻止褐变的发生,降低褐变率<sup>[9]</sup>。但目前,有关硝酸银可以提高愈伤组织诱导率,降低褐化率的机理还不甚清楚,还有待进一步研究。

参考文献

[1] 田如英.南方特产果树刺梨的栽培[J].柑桔与亚热带果树信息,2004,20(12):36-37.  
[2] 郭勇,崔堂兵,谢秀祯.植物细胞培养技术与应用[M].北京:化学工业出版社,2003.  
[3] 李建安,胡芳名,谭晓风,等.花药(花粉)培养及其在经济林品种改良中的应用[J].经济林研究,2002(12):68.  
[4] 赵转地,张爱华,洪峰.刺梨及其产品的营养及保健药用价值研究进展[J].环境与职业医学,2007,24(1),82-84.  
[5] 王震星,张磊,刘玉芹.枣的花药离体培养和染色体倍性变异[J].植物生理学通讯,1998,34(3):180-182.  
[6] 张日清,闻丽,刘友全,等.低温预处理对油茶花药愈伤组织诱导的影响[J].中南林业学院学报,2005,25(6):24-28.  
[7] 姚焱,刘向东,汪珍春,等.低温预处理对水稻花药培养中花药壁褐变的结构影响[J].热带亚热带植物学报,2006,14(4):307-311.  
[8] 王立浩,张宝玺,郭家珍,等.辣椒花药培养中若干影响因素的研究[J].园艺学报,2004,31(2):199-204.  
[9] 刘强,张春庆,巩东营.玉米花药培养中影响褐变的几个因素的初步研究[J].玉米科学,2005,13(1):39-40,43.

# 生长调节剂对唐菖蒲继代培养中芽形成的影响

薛寒青, 高霞  
(青海大学 农林科学院, 青海 西宁 810016)

**摘 要:** 研究不同种类、不同浓度的生长调节剂对唐菖蒲继代培养中芽形成的影响, 结果表明: 生长调节剂对继代芽的增殖有较大的影响。在 MS 培养基中添加细胞分裂素(6-BA 或 KT) 时, 在 0.5~2.0 mg/L 的浓度范围内均能促进芽的增殖, 其中 6-BA (或 KT) 单独使用时最佳浓度为 1.0 mg/L, 6-BA 对芽的增殖效果明显优于 KT; 生长素(NAA 或 IBA) 单独使用能促进芽的生长, 其适宜浓度为 0.1 mg/L; 生长素与细胞分裂素配合使用有利于不定芽的增殖, 其最佳培养基组合为 6-BA 1.0+NAA 0.1。

**关键词:** 唐菖蒲; 继代培养; 芽增殖; 生长调节剂  
**中图分类号:** S 482.8; S 682.2<sup>+</sup>4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)07-0217-02

唐菖蒲(*Gladiolus hybridus*), 属鸢尾科唐菖蒲属的多年生草本植物<sup>[1]</sup>, 其花形别致, 花色丰富, 被誉为“四大切花”之一<sup>[2]</sup>。生产上唐菖蒲常采用分球繁殖的方法, 但繁殖率较低。用茎尖组培技术可明显的提高唐菖蒲繁殖率, 并能脱除病毒。其中继代培养是组织培养中的重要过程, 能实现唐菖蒲的快繁和提高试管苗的质量。试验就生长调节剂对唐菖蒲继代培养中芽增殖效果的影响进行了研究, 从而筛选出最佳培养基方案。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

第一作者简介: 薛寒青(1965-), 女, 硕士, 副研究员, 主要从事蔬菜和花卉组织培养与脱毒工作。  
收稿日期: 2008-03-03

唐菖蒲茎尖培养获得的无根试管苗, 品种为青骨红(Traderhorn)。

- ### 1.2 方法
- 细胞分裂素与生长素的影响: 6-BA (或 KT) 单独使用的浓度设为: 0.1、0.5、1.0、2.0 mg/L; NAA (或 IBA) 设为 0.1、0.5、1.0、2.0 mg/L。配合使用时培养基组合为 A1(6-BA 0.5+NAA 0.5); A2(6-BA 1.0+NAA 0.5); A3(6-BA 0.5+NAA 0.1); A4(6-BA 1.0+NAA 0.1)。
- ### 1.3 接种与培养

以上培养基都以 MS 为基本培养基, 附加蔗糖 30 g/L, 琼脂 7 g/L, pH 值调至 5.8。每种处理设 8 个重复, 在无菌条件下, 接入经初代茎尖培养获得的无根试管苗, 每瓶接 2 个芽, 接种暗培养 2 d 后转入光培养, 室温 (25±2)℃, 湿度 70%, 光照 1 400~1 600 lx。

## Effect of Different Pretreatment on Induction of Callus in *Rose roxburghii* Tratt cv. Anther Culture

CHEN Hong<sup>1</sup>, ZHANG Lv-ping<sup>1,2</sup>

(1. Research Institute for Fruit Resources of Karst Mountain Region, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. Pomology Research Institute of Guizhou, Luodian, Guizhou 550100, China)

**Abstract:** Using *Rose roxburghii* Tratt cv. anther as the materials, effects of factors such as low temperature and vitamin C on callus induction from the anther and anther browning were studied. The results showed that after pretreatment at 4℃ for 3 days, callus induction rate was highest and browning rate was lowest. In the treatment with 100 mg/L Vc for 2 h, its induction rate was highest to 50.63% and browning rate was lowest to 10.63%. The medium supplemented with vitamin C or AgNO<sub>3</sub> was advantageous to the induction of callus and reduced browning rate, especially the medium supplemented with 100 mg/L vitamin C or 50 mg/L AgNO<sub>3</sub>, its browning rate was lowest.

**Key words:** *Rose roxburghii* Tratt cv.; Anther culture; Callus; Induction rate; Browning rate