

几种因素对白芦笋试管苗生根的影响

林宗铿* 高海筹 陈振东 罗金水 蔡坤秀 黄德贵

福建省热带作物科学研究所, 福建漳州 363001

提要 白芦笋的不同筛选林系之间生根能力存有差异; 培养温度是影响生根率的关键因素, 高温 $[\geq(25\pm 1)^{\circ}\text{C}]$ 不利生根, 发根的适宜培养温度为 $(20\pm 1)^{\circ}\text{C}$; 低光照强度 $(\leq 25 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$ 对生根不利, 适宜的光合光子通量密度(PPFD)为 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; PP_{333} 、嘧啶醇不能提高试管苗生根率, 且浓度过高还会降低生根率和抑制植株生长。

关键词 白芦笋; 试管苗; 生根

Effects of Several Factors on Rooting of *Asparagus officinalis* L. Test-tube Seedling

LIN Zong-Keng*, GAO Hai-Chou, CHEN Zhen-Dong, LUO Jin-Shui, CAI Kun-Xiu, HUANG De-Gui

Fujian Institute of Tropical Crops, Zhangzhou, Fujian 363001, China

Abstract The experimental results showed that the rooting abilities of *Asparagus officinalis* L. were different among individual strains; temperature was the key factor for the rooting rate, high temperature $[\geq (25\pm 1)^{\circ}\text{C}]$ was disadvantageous to rooting and the optimum temperature was $(20\pm 1)^{\circ}\text{C}$; lower light intensity $(\leq 25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$ was also disadvantageous to rooting and the optimum light intensity was $40 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; PP_{333} and ancymidol couldn't increase the rooting rate, and high concentration of PP_{333} or ancymidol would cut down the rooting rate and restrain the growth of plant.

Key words *Asparagus officinalis* L.; test-tube seedling; rooting

芦笋(*Asparagus officinalis* L.)又名石刁柏, 其种苗生产主要用种子繁殖, 目前国内栽培用种依靠国外进口。国内已有人用植物组织培养技术研究芦笋全雄系种苗快速繁殖, 并已接近于实用化程度(杨淑琴和温淑萍 1997)。但芦笋试管苗生根难、生根率不稳定和移栽成活率低仍然是芦笋试管苗实现工厂化生产中的制约因素(于继庆等 1996a, b; 杨淑琴和温淑萍 1997)。在芦笋生根培养技术研究中, 冯晓棠等(1991)在几个芦笋品种中筛选试管苗易生根的材料和用生长调节物质进行调控的试验中, 观察到44份材料在各种培养基上生根率差别极明显, 按平均生根率范围可分为易根型、中间型和难生根型三类, 复合使用NAA、IBA和IAA后, 后两类生根率可以提高。郭春慧等(1993)将 PP_{333} 加入生根培养基后, 某些芦笋品种的生根率也有显著提高。本文在前人工作基础上, 以白芦笋品种‘Gijnlim’为材料, 研究植物生长调节剂对试管苗生根的影响, 筛选出较佳的生根培养基, 并取得了较高的生根率。

但试管苗工厂化生产过程中, 不同批次试管苗的生根率波动较大, 究竟如何取得稳定的生根率的报道还是较少。为此, 我们又探讨了不同株系、培养温度、光照强度对白芦笋试管苗生根率, 以及高温培养条件下(此时试管苗生根率低)的培养基中附加物(PP_{333} 、嘧啶醇)对白芦笋试管苗生根的影响, 以期能建立一种稳定的、适合芦笋试管苗工厂化生产的快速繁殖技术体系。

材料与方法

白芦笋(*Asparagus officinalis* L.)品种‘Gijnlim’由福建东山县农业局提供。2002年5月, 挖取刚出土的嫩茎, 按林宗铿等(2005)的方法进行无菌外植体的建立和继代增殖。增殖的材料积累到一定数量时, 切取长度约为0.3 cm茎尖

收稿 2005-07-14 修定 2006-05-24

资助 福建省科技攻关项目(2002N033)。

致谢 福建省亚热带植物研究所黄维南和苏明华先生审阅本文。

*E-mail: zk-ling@163.com, Tel: 0596-2615160

进行生根培养。

在无菌外植体建立时, 分别对来源于田间不同单株的嫩茎进行标记, 建立起 34 个不同株系。生根培养初期进行试管苗易生根株系的筛选, 筛选培养基为 $1/2MS+KT\ 0.1\ mg\cdot L^{-1}$ (单位下同)+NAA 0.1+IAA 0.5+IBA 0.1, 每个株系接种 60~90 个茎尖, 1 次重复, 培养温度为 $(24\pm 1)\ ^\circ C$ 。

以在筛选培养基中生根率 40% 为分界点, 分别从生根率大于和小于 40% 的株系中取 3 个株系, 进行不同株系生根的研究。所用生根培养基为 $1/2MS+KT\ 0.1+NAA\ 0.1+IAA\ 0.5+IBA\ 2.0$, 培养温度设 (20 ± 1) 、 (23 ± 1) 和 $(30\pm 1)\ ^\circ C$ 。

培养温度影响试管苗生根试验中的温度设 (20 ± 1) 、 (25 ± 1) 和 $(30\pm 1)\ ^\circ C$ 3 种处理。选用试管苗易生根型株系 17[#]、18[#]和 19[#]等 3 个株系进行试验。培养基用生根培养基。

在进行光照强度影响白芦笋试管苗生根的试验时, 光合光子通量密度(PPFD) 设为大于 70、等于 40、等于 25 $\mu mol\cdot m^{-2}\cdot s^{-1}$ 和黑暗培养 4 种处理。分别在 (20 ± 1) 、 (25 ± 1) 和 $(30\pm 1)\ ^\circ C$ 的温度下, 选用易生根株系 17[#] 进行试验, 培养基用生根培养基。

由于在较高培养温度条件下的试管苗生根率低, 因此我们选择培养温度为 $(30\pm 1)\ ^\circ C$ 进行附加物(PP₃₃₃、嘧啶醇) 试验。具体的做法是在生根培养基中添加: (1) PP₃₃₃ (上海升联化工有限公司, 15% 可湿性粉剂), 设 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 和 12.0 $mg\cdot L^{-1}$ 6 个浓度梯度, 以不加附加物为对照; (2) 嘧啶醇(Sigma 公司), 设 0.1、0.5 和 1.0 $mg\cdot L^{-1}$ 3 个浓度梯度, 以不加附加物为对照。

所有试验的生根培养基中的蔗糖含量均为 30 $g\cdot L^{-1}$, 琼脂含量为 7 $g\cdot L^{-1}$, pH 5.8。除易生根株系的筛选试验外, 其他试验每个处理均接种 75 个材料, 重复 3 次。除光照强度试验外, 其他试验处理的 PPFD 均为 40 $\mu mol\cdot m^{-2}\cdot s^{-1}$ 。补充光照时间为 12 $h\cdot d^{-1}$ 。在培养第 40 天时检测生根情况。生根率在进行易生根株系的筛选时指生根苗总数除以接种苗数的值; 其他时候指的是可栽株(生根株中根数 3 条以上, 且根系生长正常的植株)除以接种苗数的值。所有数据采用方差分析和 Duncan's 新复极差法(SSR 法) 进行多重比较。

实验结果

1 不同白芦笋株系的试管苗生根情况

从表 1 可以看出, 不同株系试管苗的生根能力存在着差异。试验所用的 34 个株系中, 生根率在 40% 以下的有 24 个, 约占总数的 70%; 生根率在 41%~60% 有 10 个, 约占总数的 30%; 而没有一个株系在筛选培养基上的生根率能达 60% 以上。因此, 我们根据生根能力将这些株系分为难生根型和易生根型 2 种。

表1 不同白芦笋株系试管苗生根能力的比较

Table 1 Comparison on rooting abilities from different strains of *A. officinalis* test-tube seedling

株系类型	生根率/%	株系数/个	占株系总数比率/%
难生根型	0~40	24	70.6
易生根型	41~60	10	29.4

从表 2 可知, 当培养温度为 (20 ± 1) 和 $(23\pm 1)\ ^\circ C$ 时, 易生根型株系 17[#]、18[#]和 19[#] 的生根率均达到较高的水平, 而难生根型株系 3[#]、4[#]和 31[#] 的生根率较低。统计分析表明, 同一类型株系间生根率差异不显著, 而不同类型株系间的生根率差异达到极显著水平; 但当培养温度为 $(30\pm 1)\ ^\circ C$ 时, 所有株系的生根率均较低, 株系类别的影响效应不明显。

2 培养温度对白芦笋试管苗生根率的影响

从表 3 可以看出, 培养温度对白芦笋生根率

表2 不同温度下白芦笋株系间试管苗生根率的比较

Table 2 Comparison on rooting rate of *A. officinalis* test-tube seedling among strains under different temperatures

株系类型	株系编号	生根率/%		
		$(20\pm 1)\ ^\circ C$	$(23\pm 1)\ ^\circ C$	$(30\pm 1)\ ^\circ C$
易生根型	17 [#]	85.2 ^a	93.0 ^a	23.6 ^a
	18 [#]	91.5 ^a	91.0 ^a	27.1 ^a
	19 [#]	90.3 ^a	87.2 ^a	20.1 ^a
难生根型	3 [#]	30.4 ^b	48.2 ^b	19.1 ^a
	4 [#]	45.8 ^b	51.8 ^b	17.5 ^a
	31 [#]	41.7 ^b	30.5 ^b	19.3 ^a

表中生根率为 3 次重复的平均值, 每处理接种株数均为 75 株。表中数字后大写字母不同表示在 $P<0.01$ 水平上差异极显著, 字母相同表示差异不显著。表 3、表 4 同此。

的影响较大。随着培养温度的升高, 生根率不断降低; 以(20±1)℃的培养温度为最佳, 生根率可达90%以上; 当温度在(25±1)℃时, 生根率在60%左右; 而当温度达到(30±1)℃时, 生根率仅为20%~30%。同一株系试管苗的生根率在3种试验条件下差异达到极显著水平。3个不同的株系的结果相同。

表3 培养温度对白芦笋试管苗生根率的影响

Table 3 Effects of different temperatures on rooting rate of *A. officinalis* test-tube seedling

培养温度/℃	生根率/%		
	17 ^g	18 ^g	19 ^g
20±1	94.3 ^A	91.0 ^A	91.5 ^A
25±1	60.0 ^B	59.5 ^B	67.8 ^B
30±1	23.6 ^C	30.4 ^C	20.1 ^C

3 光照强度对白芦笋试管苗生根率的影响

从表4可以看出, 白芦笋试管苗生根需要一定强度的光照, 暗培养或低光照强度(PPFD=25 μmol·m⁻²·s⁻¹)下生根率降低, 加大PPFD可提高生根率, 但达到一定程度后其作用不显著。试验中较高光照强度(PPFD=40 μmol·m⁻²·s⁻¹)和高光照强度(PPFD>70 μmol·m⁻²·s⁻¹)下的生根率差异不显著, 而且高光照强度培养下的植株生长较为矮小, 颜色也较深, 侧枝、拟叶少。另外, 培养温度升高, 光照强度的影响效应即减弱, 当培养温度为(30±1)℃时, 所有处理的生根率均较低, 各处理间的生根率差异也不显著。

4 培养基中附加物对白芦笋试管苗生根率的影响

从表5可看出, 在生根基本培养基中添加

表4 光照强度对白芦笋试管苗生根率的影响

Table 4 Effects of light intensity on rooting rate of *A. officinalis* test-tube seedling

PPFD/ μmol·m ⁻² ·s ⁻¹	生根率/%		
	(20±1)℃	(25±1)℃	(30±1)℃
>70	98.2 ^A	61.7 ^A	30.7 ^A
40	94.7 ^A	52.0 ^{AB}	20.1 ^A
25	80.9 ^B	40.5 ^B	24.3 ^A
黑暗	63.5 ^C	36.7 ^B	19.6 ^A

PP₃₃₃并不能提高白芦笋试管苗的生根率。PP₃₃₃浓度在6.0 mg·L⁻¹以内, 生根率差异不明显; 浓度达8.0 mg·L⁻¹时, 生根率会降低; PP₃₃₃浓度在12.0 mg·L⁻¹以内, 各处理的主茎高和侧芽萌发率差异都不显著。而噻啉醇的浓度在0.1~1.0 mg·L⁻¹时, 白芦笋试管苗生根率与不加噻啉醇的差异不显著。噻啉醇为0.1 mg·L⁻¹时, 主茎高与不加噻啉醇的差异不显著; 超过0.5 mg·L⁻¹时, 主茎生长受抑, 与不加噻啉醇的差异显著, 植株明显变矮, 节间紧缩矮壮, 根粗短。

表5 PP₃₃₃和噻啉醇对白芦笋试管苗生根的影响Table 5 Effects of PP₃₃₃ and ancymidol on rooting of *A. officinalis* test-tube seedling

附加物/mg·L ⁻¹	生根率/%	主茎高/cm	侧芽萌发率/%	
PP ₃₃₃	0	29.8 ^{ab}	4.98 ^a	31.5 ^a
	2	30.8 ^{ab}	4.93 ^a	30.2 ^a
	4	28.5 ^{ab}	3.58 ^a	29.3 ^a
	6	32.4 ^a	4.54 ^a	42.4 ^a
	8	24.3 ^b	4.49 ^a	32.9 ^a
	10	23.4 ^{bc}	4.47 ^a	33.0 ^a
噻啉醇	12	13.7 ^c	4.19 ^a	26.9 ^a
	0	29.8 ^a	4.98 ^a	—
	0.1	28.3 ^a	4.68 ^a	—
	0.5	26.2 ^a	2.54 ^b	—
1.0	21.9 ^a	1.64 ^c	—	

表中生根率为3次重复的平均值, 每处理接种株数均为75株。表中数字后小写字母不同表示在P<0.05水平上差异显著, 字母相同表示差异不显著。

讨 论

白芦笋雌雄异株, 其品种遗传性为杂合型, 不仅品种间基因型不同, 而且株系之间也不尽相同。因此在不同品种间以及同一品种不同株系间试管苗的生根能力也存在差异(冯晓棠等1991; 郭春慧等1993)。本文结果与此种看法一致。我们据此认为, 培育白芦笋试管苗时, 筛选易生根株系是能否得到较高生根率的前提。在筛选易生根株系时, 我们发现34个株系中没有一个是达到冯晓棠等(1991)的易生根型标准(生根率达70%~100%), 试验所用的品种‘Gijnlim’可能属于难生根型。因此, 我们以其是否达到40%生根率为区分难、易生根株系的标准, 并筛选出10种

易生根株系(占30%左右), 这些易生根株系在后继培养中均能得到较高的生根率, 所以我们认为这个标准可能是合适的。

培养温度和光照强度均影响白芦笋试管苗生根率的稳定性, 其中培养温度最关键。适当的高光照强度和低温可提高生根率。

另外, 本文结果还揭示, 较高的培养温度 $[(30\pm 1)^\circ\text{C}]$ 下的白芦笋试管苗生根率低, 在培养基中加入 PP_{333} 和噻啉醇, 也未能提高试管苗的生根率。陆玲和周燮(1992)以及陈婉芬和周燮(1994)的试验证明, 内源GA水平过高是抑制芦笋发根的主要原因, 在培养基中加入赤霉素拮抗剂或生物合成抑制剂可提高芦笋试管苗的生根率, 但只能诱使易生根型品种发根, 而不能诱导难生根型品种发根。郭春慧等(1993)在生根培养基中加入 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{PP}_{333}$ 后, 芦笋品种‘Mary Washington’、‘UC₁₅₇’和‘Franklin’的生根率可达75.5%~88.9%, 而品种‘Idlea’和‘UC₇₂’的生根率小于30%。沈国华(1988)报道, 生根培养基中加入 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 噻啉醇后, 6个星期带芽嫩茎切片的芦笋生根率达到92.6%。郭春慧等(1993)报道, 在加有 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 噻啉醇的生根培养基上生长的芦笋

茎尖生根率可得到提高(86.7%), 显著高于不加噻啉醇的。本文试验结果也证明了陈婉芬和周燮(1994)的观点, PP_{333} 和噻啉醇并不适用于所有的芦笋品种。

参考文献

- 陈婉芬, 周燮(1994). GA_3 及S3307对石刁柏生根的影响. 植物生理学通讯, 30 (1): 26~28
- 冯晓棠, 邢定一, 王为民, 徐鹤林(1991). 芦笋组织培养生根技术研究. 中国蔬菜, (2): 14, 20~22
- 郭春慧, 马凤桐, 张巧绒, 李敏侠(1993). PP_{333} 诱导芦笋试管苗生根效果的研究. 西北农业大学学报, 21 (3): 32~35
- 林宗铿, 蔡坤秀, 罗金水, 高海筹, 陈振东, 黄德贵(2005). 芦笋嫩茎节间无菌外植体建立及其影响因素的研究. 福建热作科技, 30 (1): 7~8, 18
- 陆玲, 周燮(1992). ABA与 GA_3 对黄瓜离体子叶和石刁柏茎生根的影响. 植物生理学报, 18 (2): 173~178
- 沈国华(1988). 芦笋的无性增殖和发根试验. 中国蔬菜, (1): 9~11
- 杨淑琴, 温淑萍(1997). 芦笋育种组培快繁的研究进展. 宁夏科技, (4): 27~29
- 于继庆, 张元国, 陈桂英, 孙同胜, 赵秀珍(1996a). 芦笋组织培养研究进展与技术关键[上]. 长江蔬菜, (1): 2~4
- 于继庆, 张元国, 陈桂英, 孙同胜, 赵秀珍(1996b). 芦笋组织培养研究进展与技术关键[下]. 长江蔬菜, (2): 1~2