

光对柑桔组培无性系芽梢的生根效应*

黄仕周 熊德华

S 666.035

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明)

摘要 以建水无籽蜜桔 (*Citrus reticulata*) 4个幼胚繁殖的芽梢为材料. 实验结果表明:

(1) 芽梢接种后经4天暗培养再置于白光下继续培养的比未经暗处理的能提高生根率3.8%、提高生根势63.9%. 若延长培养时间, 则有明显的抑制作用.

(2) 3 000 Lux 的白色光强有益于生根.

(3) 光谱中650 nm 的单色红光 (光强300~430 Lux) 比白色光能提高生根率25.3%~39.7%、提高生根势47.3%~51.4%, 且能加速生根进程和根系生长. 红光主要作用时间在接种后的第4天以后. 550 nm 的单色黄光 (光强443~1 800 Lux) 与白光相比, 效果不太明显. 410 nm 的单色蓝光在低光强 (460 Lux) 时具有一定正效应. 当光强增至600 Lux 时, 往往具有负效应.

关键词 光; 柑桔; 组织培养; 无性系; 生根

在植物组织培养中研究温度和培养基成分, 特别是激素的效应和调控作用的报道较多, 且有初步模式^[4, 12]. 光作为一种调控因子, 也有一定数量的报道^[6, 7, 14]. 但实验材料多为草本植物, 在木本植物的组培快繁中, 专门报道光对离体芽的成根效应则极少. 我们曾在柑桔组培中看到, 无菌芽梢经8~9天的暗培养明显阻碍了根的形成^[10]. 由此感到光对无菌柑桔芽梢的成根效应是有影响的, 进而进行了光的成根效应试验. 现将结果报告如下:

1 材料和方法

以建水无核蜜桔 (*Citrus reticulata*) 开花后120天的4个幼胚形成和增殖的无性系芽梢为材料, 芽梢增殖代数8~10天, 试材编号为A₃, A₄, A₅, A₁₇. 芽增殖培养基为MT+CH 300 mg/L+BA 0.3 mg/L+蔗糖4%, pH 5.8. 生根培养基为1/2 MT (Murashige and Tucker 1969) +CH (水解酪蛋白) 200 mg/L+IBA (吲哚丁酸或NAA α -萘乙酚) 0.5~1 mg/L. 培养室温度白天为24~29℃, 夜间为18~22℃, 光源为白炽荧光灯, 光周期12 h. 暗处理试验即芽梢接种后在全黑暗下分别培养0, 4, 8, 12, 38天后再置于白光下继续培养. 光强试验的光照强度分别为600, 2 000, 3 000, 4 000 Lux 4种. 光质试验是用上海产的颜色灯光塑料膜盖在培养物的上方构成4种不同波长的光质, 用岛津UV-260紫外分光光度计测定, 单色红光波长的主要峰值

4589

*“七·五”期间云南省科委资助项目. 92-01-07 收稿

在 650 nm, 单色黄光在 550 nm, 单色蓝光在 410 nm. 试验分别在同光强和不同光强的条件下进行. 各项试验是分批进行的, 同批次的试验材料力求质量一致, 供试芽梢数 50~100 个, 重复 2 次, 所列数据为二次试验的平均值, 接种 10 天后每 5 天统计一次生根的芽梢数, 以此计算生根进程, 生根率和生根势 (接种后 15 天或 20 天的生根数占总生根数的百分比), 并观察根系生长状况.

2 结果

2.1 暗培养不同天数对生根的影响 表 1 表明, 芽梢接入生根培养基后在全黑暗下培养 4 天, 然后移入白光下 (光周期 12 h, 光强 2 000Lux) 继续培养, 在供试的 3 个材料中, 其生根率都比对照 (不经暗培养的) 稍有提高, 特别能促进提前生根, 其 15 天时的生根势比对照平均高 63.9%. 但随着暗培养时间不同程度的延长, 其生根率和生根势均依次大幅度降低, 以全黑暗的下降最多, 生根率和生根势仅分别为对照的 33.9% 和 17.4%, 且叶片变黄脱落. 因此, 从提高生根率的角度出发无需暗培养, 若欲提高生根势, 暗培养时间以不超过 4 天为宜.

表 1 芽梢接种后培养不同天数的生根效应

供试材料	不同暗培养天数的生根效应									
	生根率 (%)					生根势* (%)				
	0天	4天	8天	12天	38天	0天	4天	8天	12天	38天
A ₃	84.0	92.0	60.0	56.0		47.0	73.6	53.3	28.6	
A ₄	91.7		53.7			47.9		20.7		
A ₅	90.0	92.0	80.0	60.0	30.0	20.0	52.0	20.0	6.7	6.7
平均	88.6	92.0	64.0	58.0	30.0	38.5	63.1	31.3	17.3	6.7
比对照增减 (%)	0	+3.8	-27.1	-34.5	-66.1	0	+63.9	-18.7	-54.0	-82.6

* 接种后 15 天的生根数占总生根数的百分比.

2.2 光照强度对生根的影响 表 2 显示, 4 个供试材料的无菌芽梢, 在低光强 (600 Lux) 下均有一定的生根率, 但都比光强 2 000~4 000 Lux 的低, 以 3 000 Lux 的较为适宜, 4 个材料平均比低光强的生根率高 46.9%, 也比 2 000 Lux 的稍高. 若进一步提高光照度, 多数材料未能看到生根率的增加.

表 2 不同光强的生根率

材料号	不同光强 (Lux) 的生根率 (%)			
	600	2 000	3 000	4 000
A ₁	73.5 (100)	82.7 (112.5)	96.9 (131.8)	88.9 (121.0)
A ₄	48.0 (100)	88.0 (183.3)	76.0 (158.3)	84.0 (175.0)
A ₅	40.0 (100)	76.0 (190.0)	84.0 (210.0)	76.0 (190.0)
A ₁₇	80.0 (100)	88.0 (110.0)	98.0 (122.5)	96.0 (120.0)
平均	60.4 (100)	83.7 (138.6)	88.7 (146.9)	86.2 (142.7)

括号内的数字为与 600 Lux 的百分数

2.3 光谱质量对芽梢生根的影响 不同光质对芽梢生根的主要结果列表 3, 表 4 和图 1

中, 从中看出:

波长 650 nm 的单色红光对芽梢生根具有极明显的正效应。在红光下芽梢生根较早, 整个生根所需时间较短, 生根率、生根整齐度和根系生长状况等方面均显著优于同光强的白光, 也优于光强比红光光强大得多的白光, 其生根率普遍比白光增加 25%~39.7%、生根势提高 47%~51% (表 3), 每苗具 2~4 条根的苗比例比白光高 70%, 根长度几乎比白光增加了一倍 (表 4)。

表 3 不同光质下的生根率和生根势比较

光 质	光 强 (Lux)	生 根 率 (%)					为白光的百 分数 (%)	生 根 势* (%)					为白光的百 分数 (%)
		A ₃	A ₄	A ₅	A ₁₇	平均		A ₃	A ₄	A ₅	A ₁₇	平均	
白 光	483	64.0		64.0	78.0	68.7	100.0	71.9		43.8	64.1	55.9	100.0
红 光	430	98.0		96.6	94.0	96.0	139.7	93.9		79.2	91.5	88.2	147.3
黄 光	443	78.0		64.0	86.0	76.0	110.6	56.4		65.6	72.1	64.7	108.0
蓝 光	460	84.0		66.0	90.0	80.0	116.5	92.9		66.7	88.9	82.8	138.2
白 光	2 500	72.0	73.3	52.0	80.0	69.3	100.0	72.2	72.7	15.4	60.0	55.1	100.0
红 光	300	92.0	89.1	76.0	90.0	86.8	125.3	87.0	87.7	78.9	80.0	83.4	151.4
黄 光	1 800	76.0		58.0	84.0	72.7	104.9	60.5		55.2	85.7	67.1	121.8
蓝 光	600	68.0	43.8	50.0	88.0	62.5	90.2	61.8	82.0	48.0	56.4	62.1	112.8

* 接种后 15 天的生根数占总生根的百分比。

波长为 550 nm 的单色黄光与白光相比较, 它们之间的生根效应有一定差异, 但不太明显, 几个供试材料的平均生根率在低光强 (443 Lux) 时比同光强的白光增加 10% 左右, 中等光强 (白光为 2 500 Lux, 黄光为 1 800 Lux) 时只增加 5% 左右, 接种后 15 天的生根势在低光强时增加 8%, 中光强时增加 21%, 根系的生长状况亦与白光相近。

表 4 不同光质下苗的根系状况 (光强 430~486Lux)

材 料	具 2~4 条 根 数 苗 的 百 分 数 (%)				平 均 根 长 (cm)			
	白 光	红 光	黄 光	蓝 光	白 光	红 光	黄 光	蓝 光
A ₃	43.7	65.3	28.2	33.3	2.4	4.3	2.4	3.4
A ₅	31.2	62.5	34.4	45.5	2.6	5.6	3.3	3.1
A ₁₇	46.2	78.7	53.5	57.8	3.3	6.2	4.1	4.4
平 均	40.4	68.8	38.7	45.5	2.8	5.4	3.3	3.6
为白光的百 分数 (%)	100.0	170.3	95.8	112.6	100.0	192.9	117.9	128.6

波长 410 nm 的单色蓝光下的生根效应视光强不同而有差异, 基本呈现二种状况, 即在低光强 (460 Lux) 时与同光强的白光相比, 能提高生根率 16.5%, 更能明显提高生根势, 整个生根进程均高于白光 (图 1, A), 根系状况也略优于白光, 但当蓝光光强增到 600 Lux, 且白光光强为蓝光光强 4 倍时, 多数供试材料的生根率平均比白光下降 10% 左右, 生长势在材料之间有一些矛盾, 但其平均值和整个生根进程略低于白光 (图 1, B)。

不同光质对芽梢生根效应的上述差异, 可以综合概括为: 在基本一致的低光强下是

红光 > 蓝光 > 黄光 > 白光; 白光光强比单色光大 4~8 倍 (黄光为白光的 0.72 倍) 时是红光 > 黄光 > 白光 > 蓝光。

2.4 红光不同处理时间对生根的影响 结果列在表 5 中, A₃ 材料表明, 先白光培养 4 天, 再置于红光下培养的与一直培养在红光下的相比较, 其生根率基本一致, 但其生根势偏小, 生根进程稍迟; 先红光培养 4 天再置于白光下培养的, 其生根率比一直在红光下的低 27.4%, 也比先白光后红光处理的低 30.8%。A₅ 材料亦有同一趋势, 这表明红光作用时间不同, 其生根效应有差异, 从本试验看, 红光的主要作用时间应在接种后的第 4 天左右或稍后。

表 5 红光不同处理时间对芽的生根效应

材 料	处理时间	接种后不同天数的生根率和生根势 (%) (天)							生根率为白光的百分数 (%)
		10	15	20	25	30	35	40	
A ₃	10~40 天白光	2.0 (3.5)	28.0 (48.3)	40.0 (69.0)	48.0 (82.8)	52.0 (89.7)	52.0 (89.7)	58.0 (100.0)	100.0
	10~40 天红光	28.0 (31.1)	84.0 (93.9)	88.0 (97.8)	88.0 (97.8)	88.0 (97.8)	90.0 (100)	90.0 (100.0)	155.2
	4 天白光 后再红光	6.0 (6.5)	62.0 (67.4)	66.0 (71.7)	86.0 (93.5)	86.0 (93.5)	90.0 (97.8)	92.0 (100.0)	158.6
	4 天红光 后再白光	5.6 (7.6)	55.6 (75.0)	64.8 (87.5)	72.2 (97.4)	72.2 (97.4)	72.2 (97.4)	74.1 (100.0)	127.8
A ₅	4 天白光 后再红光	2.0 (3.2)	26.0 (41.9)	42.0 (67.7)	54.0 (87.1)	58.0 (93.6)	62.0 (100)	62.0 (100.0)	124.0
	4 天红光 后再白光	0.0 (0.0)	16.0 (32.0)	32.0 (64.0)	38.0 (76.0)	38.0 (76.0)	44.0 (88.0)	50.0 (100.0)	100.0

培养基: 1/2MT+蔗糖 2%+CH 200 mg/L+IBA 0.4+NAA 0.4 mg/L
光周期 12 h, 光强 430~480 Lux, 括号内数据为生根势。

3 讨论

我们的试验结果无疑对提高柑桔的快繁效率有实用价值, 也为木本植物的组培繁殖在光的成根效应方面提供了又一依据, 对探索成根机理是有一定意义的, 但下列问题仍值得思考和求索:

3.1 在木本植物组织培养中生根难度普遍较大, 本文的光、暗试验结果与阙国宁的光对诱导西蒙得木嫩梢生根的结果相一致^[13], 至于光对其它木本植物的成根效应在多大程度上具有广泛性, 应在多种木本植物上进行研究。

3.2 汪景山、渔光 (1986)^[3], 在山楂的组培中指出生根敏感性问题, 认为根分化的关键时期是根原始细胞进行第一次分裂前的准备期 (即转入生根培养后的 2~4 天), 这一时期对温度、光照等环境条件非常敏感, 如条件不适会直接影响生根率, 甚至不会发根^[3]。本试验的结果表明, 4 天暗培养有促根作用, 暗培养时间延长则有抑制作用; 生根接种后不同时间进行红光处理, 其生根效应亦有相当差异等, 这些变化是否与生根敏感期有关, 光是否是这个敏感期的重要环境条件之一? 显然, 生根敏感期因物种而

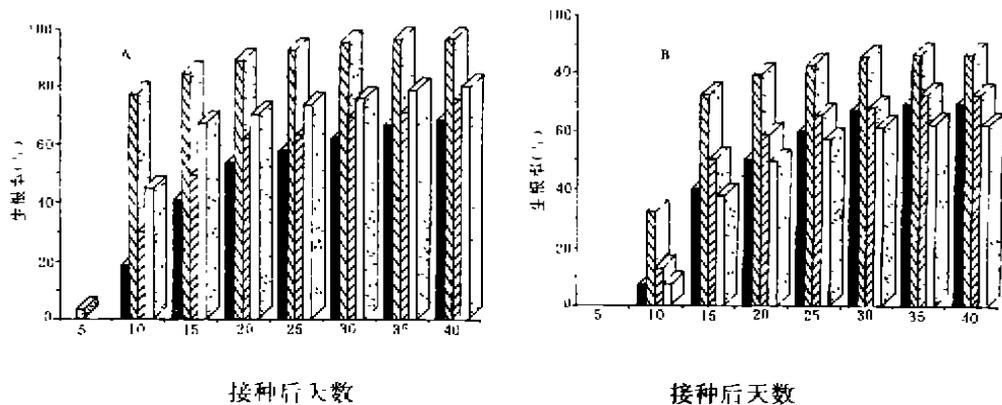
异, 山楂为接种后的 2~4 天, 柑桔为 4 天左右, 西蒙得木为 7 天左右。

3.3 Letouze 和 Beauchesne (1969 年)⁽¹⁴⁾ 发现菊芋块茎组织根的形成成为红光 660 nm 所促进; Weis 和 Jaffe 揭示了红光及远红光能促进烟草愈伤组织的形成⁽¹⁾; 范慈惠指出百合珠芽在红光下出愈快, 且能分化苗, 白光未见愈伤组织产生, 四季豆上胚轴产生愈伤组织也比白光快⁽⁵⁾; 倪德祥报道, 红光能促进甜菊叶茎段、康乃馨侧芽的健壮生长, 对诱导锦葵生根及其根长度有一定促进作用, 但不及蓝光、绿光的效应显著⁽⁸⁾; 我们的试验结果表明, 单色红光对柑桔芽条成根具明显正效应, 与他们的结果有某些相似。由此看来, 草本植物与木本植物之间在成根方面, 对光的要求还是有其共性的。因此, 草本植物的组培成果仍可借鉴于木本植物, 以解决其生根难的问题。反之亦然。

3.4 本试验中看到, 蓝光在 460 Lux 时与同光强的白光相比有增效作用, 但在 600 Lux 时有负作用, 这可能是由于蓝光光强增大所致, 也可能是由于我们的试验用的是颜色滤光纸, 存在着光质的纯度问题, 光质纯度对幼苗形态建成是有影响的⁽¹¹⁾。由于我们的光质纯度不够, 又在蓝光较高光强下导致蓝光, 紫外光对外植体的某些伤害作用。因此, 在组培研究中除十分注意光的波长外, 还应注意光的辐照度、光照时间以及光的纯度。

3.5 光对培养物的影响效应与培养基中的激素配比和有机成分有交互作用⁽⁹⁾。光不但明显影响形态结构及器官发生的效应, 而且影响培养物生理生化的代谢活动⁽²⁾, 如酶活性和次生代谢产物的积累以及内源激素的变化等。在木本植物中光的成根效应在多大程度上也由于光的作用而引起酶、内源激素、光敏色素等的活化呢?

上述种种, 在木本植物的组织培养中都值得进一步研究, 为探索光的成根机理提供更多依据。



附图 不同光强下的不同光质芽梢的生根进程

A. 生根率为 3 个材料的平均值, 光强基本相同: 430~483 Lux; B. 生根率为 4 个材料的平均值, 光强不同: 白光为 2500 Lux, 黄光 1800 Lux, 蓝光 600 Lux, 红光 300 Lux。

致谢 昆明植物所黄清藻同志帮助测定颜色塑料膜的波长。

参 考 文 献

- 1 中国科学院上海植物研究所细胞室编译. 植物组织和细胞培养. 上海: 上海科学技术出版社, 1978. 179
- 2 王继荣. 光质对黄瓜愈伤组织培养中分化和有关酶的影响. 植物生理学报, 1991, 17 (2): 118~124
- 3 陈正华主编. 木本植物组织培养及其应用. 北京: 高等教育出版社, 1986. 345~363
- 4 杨乃博. 几种木本植物的组织培养及器官发生. 植物生理通讯, 1982, 4: 23~27
- 5 范慈惠. 光质对植物愈伤组织的诱导和植物形成的影响. 植物生理学通讯, 1981, 88 (6): 38
- 6 倪德祥. 光在植物组织培养中的调控作用. 自然杂志, 1986, 9 (3): 193~198
- 7 倪德祥等. 光和激素对菊花茎段培养中生长发育的影响. 西北植物学报, 1988, 8 (1): 19~22
- 8 倪德祥等. 光质对锦葵愈伤组织生长和发育的效应. 上海农业学报, 1985, 1: 39~46
- 9 倪德祥等. 毛地黄离体培养过程中光质与培养基对器官发生的交互作用. 植物生理学报, 1987, 13 (4): 359~364
- 10 黄仕周等. 建水无籽蜜桔的幼胚培养和无性系苗的繁殖. 云南植物研究, 1992, 14 (1): 73~79
- 11 童 哲. 光质纯度对幼苗光形态建成的影响. 植物生理学通讯, 1989, 2: 28
- 12 崔 澄. 植物激素与细胞分化与形态发生的关系. 细胞生物学杂志, 1983, 5 (2): 1~6
- 13 阙国宁等. 西蒙得木组织培养繁殖技术的研究. 林业科学研究, 1991, 4 (5): 512~515
- 14 Seibert M. Wetherbee P J. Job D D. Thee effects of light intensith and spectral quality on growth and shoots initiation in tobacco callus. Plant physiol. , 1975. 56: 130~139

The Effect of Light on the Rooting of Clonal Shoots of Orange (*Citrus Reticulate*) in Vitro

Huang Shizhou Xiong Dehua

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming)

Abstract The sterile multiplied shoots of juvenile embryo of jian Shui seedless orange (*Citrus Reticulate*) were used as experimetnal materials. The results showed:

(1) The sterile shoots inoculated to rooting culture medium, after 4 days in the dark and then in the white light, the rooting rate of shoots were 3.8% and rooting potential were 63.9% higher than those only in the white light. the rooting potential were significantly increased. The rooting was obviously inhibited if delayed dark treatment time.

(2) The rooting was satisfied at white light intensity 3000 Lux.

(3) The 650 nm monochrome red light (light intensity 300~430 Lux) played an important role in raising rooting rate and rooting potential as well accelerating rooting

process and root growth. In monochrome red light, the rooting rate and rooting potential were 25.3%~39.7% and 47.3%~51.4% respectively higher than those in white light. Its main effects were on the four days later after inoculation. No significant change was observed at 550 nm (light intensity 443~1 800 Lux) monochrome yellow light contrasted with those at white light. The 410 nm monochrome blue light presented a positive effect at low light intensity (460 Lux) and had a negative effect when the light intensity increased above 600 Lux.

Key words Light; Orange (*Citrus reticulata*); Tissue culture; Clonal; Rooting