

甜柿组织培养中玻璃化现象的发生与防治

孔祥生 张妙霞 张益民

(洛阳农业高等专科学校)

摘要 以甜柿为材料,对组培正常苗与玻璃苗的形态学差异进行了观察,研究了玻璃化现象发生的原因及防治方法。结果表明:培养体系的水分状况不适是甜柿玻璃苗发生的主要原因。提高培养基中琼脂粉含量(达 10g/L)可降低培养基的水势,尤其是降低了试管苗的水势,能有效地防止玻璃苗的发生,同时有利于继代苗的增殖和生长;适当减少每瓶中接种数目及缩短继代培养时间,也可降低玻璃苗的发生频率。

关键词 甜柿 离体繁殖 玻璃苗

植物组织培养已在植物快繁中广泛应用,但在组织培养中常会出现一种玻璃化现象。所谓玻璃化,即是指离体培养中组培茎芽逐渐变成半透明状畸形芽的现象。发生玻璃化的试管苗,难以移栽成活,所以玻璃化现象已成为组培快繁中提高繁殖率和增加培养过程稳定性的主要障碍,严重影响组培在生产上的作用。

本试验对甜柿(*Diospyros kaki* Linn.)组织培养中出现的玻璃化现象进行了观察,并从培养基成份,每瓶中接种新梢的数目和继代培养中每代培养的天数等方面对玻璃化现象的防治进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为“富有”(从日本引进)试管苗新梢,无菌苗的获得同前文^[1]。

1.2 方法 以改良 MS($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 和 KNO_3 减半)+ZT(玉米素)2mg/L+IAA(吲哚乙酸)0.1mg/L+叶酸1mg/L+D-泛酸钙 1mg/L+LH(水解乳蛋白)100mg/L+PVP(聚乙烯吡咯烷酮)500mg/L+蔗糖30g/L+琼脂粉 6g/L(pH5.8)为对照培养基,分别在对照培养基中加入 I、PVA(聚乙烯醇,分子量 7500)1g/L,II、青霉素 40M \cdot U/L(万单位),III、琼脂粉 4g/L(培养基中琼脂粉总量达 10g/L)。将上述培养基分别盛于 100ml 三角瓶中(内装 40ml 培养基),每瓶接正常甜柿试管苗新梢 3 个,连续培养 3 代,每代 45d。第 3 代结束时,比较各培养基中接种新梢的增殖和生长情况及玻璃苗的百分率。在上述对照培养基中,每瓶接种 3 个或 5 个甜柿正常试管苗新梢,连续培养 2 代,每代

培养时间对玻璃苗发生的影响。水势测定:采用热电偶法^[2]。培养条件:培养室温度为 $25\pm 2^\circ\text{C}$,光照时间 $12\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$,光强为 $40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 正常苗与玻璃苗的外部形态差异 正常的甜柿组培苗,培养一段时间后多形成密集的芽丛,茎叶呈绿色,叶片平展,表面有角质层蜡质,生长健壮,分株继代后可很快形成新的芽丛,生根能力强,移栽易成活。玻璃苗茎叶均呈半透明水浸状,其貌极似受冻害植株。叶片纵向卷曲或偏上生长,宽厚质脆,缺乏叶绿素,表面无角质层蜡质,缺乏表皮毛,气孔也极少,失去增殖和生根能力,难以继代培养和移栽。

2.2 培养基成分对甜柿玻璃苗发生及新梢增殖和生长的影响 由表 1 看出,在不同培养基中玻璃苗发生率不同,对照培养基中玻璃苗发生率最高(25%),对照培养基内加入 PVA 和青霉素后,尽管在不同程度上都降低了玻璃苗的百分率,但却引起了培养材料的褐变,尤其是 PVA 加入培养基后,褐变最重,新梢基部愈伤组织和培养基成为暗褐色。培养基中琼脂粉含量为 10g/L 的处理最好,不仅没有发生玻璃苗,而且培养材料褐变最轻。从各培养基中接种新梢的增殖和生长来看,琼脂粉含量 10g/L 的最好,增殖快(比对照培养基提高 14%),有效新梢(大于 1cm 的新梢)率高(达 45.1%),并且增殖的新梢生长健壮,叶片嫩绿。对照次之,加入 PVA 和青霉素的较差。比较不同琼脂粉含量培养基中的试管苗水势和培养基水势可以看出(表 2),培养基中琼脂粉含量由 6g/L 提高到 10g/L 后,培养基的水势降低了 0.03~0.04MPa,尤其是试管苗水势降低了 0.09MPa,从而抑制了玻璃苗的发生。

河南省科技攻关项目。

稿件修回日期:1999-04-28

40d 或 60d。第 2 代结束时,比较不同接种数目和继代

表 1 培养基成分对甜柿新梢增殖生长和玻璃苗发生的影响

培养基	接种数	增殖倍数	有效新梢率(%)	玻璃苗(%)	注
对照	28	4.3ab	40.0ab	25.0a	褐变轻
I	20	3.1c	30.6b	5.0ab	褐变严重
II	25	3.5bc	34.5ab	12.0ab	褐变较重
III	25	4.9a	45.1a	0b	褐变轻

注:表中字母系邓肯氏多重比较的差异性,0.05 水平。

表 2 不同琼脂粉含量对培养基和试管苗水势的影响

培养基	琼脂粉含量(g/L)	培养时间(d)	培养基水势(MPa)	试管苗水势(MPa)
对照	6	14	-0.46	-0.38
		21	-0.47	-0.40
III	10	14	-0.49	-0.47
		21	-0.51	-0.49

2.3 每瓶中接种新梢数目和继代培养时间对甜柿玻璃苗发生的影响 试验结果表明(表 3),甜柿离体繁殖中玻璃苗的发生也受每瓶中接种新梢数目和继代培养时间的影响。每瓶中接种 5 个新梢的比接种 3 个新梢的玻璃苗平均提高 15%,继代培养中每代培养 60d 的比每代培养 40d 的玻璃苗平均提高 12%。接种数目多、培养时间更长增加了玻璃苗发生的比例,每瓶接种 5 个新梢培养 60d 与每瓶接种 3 个新梢培养 40d 相比,玻璃苗提高了 28%。从接种新梢的增殖和生长看,增加每瓶中接种数目,延长继代培养时间,新梢的增殖倍数降低,生长缓慢。

表 3 每瓶接种数和培养时间对甜柿新梢玻璃苗发生的影响

每瓶接种数	接种总数	培养时间(d)	玻璃苗(%)
3	30	40	23.4
3	27	60	26.2
5	30	40	26.9
5	30	60	30.0

3 讨论

试管植物的玻璃化现象是一种生理性病变,在组培中发生极为普遍。在许多植物上,玻璃化现象已引起了人们的重视,并做了初步研究,但对其发生的根本原因及生理生化机制目前尚不十分清楚。关于防止玻璃苗发生的措施,研究者在不同植物材料上采用了多种方法,师校欣等^[4]在苹果砧木 M₇、M₂₆上曾用 PVA 效果很好,胡继金等^[5]用青霉素消除香石竹玻璃苗取得了良好的效果。本试验表明,PVA 和青霉素对防止甜柿试管苗玻璃化有一定效果,但是加重了培养材料的褐变,不利于新梢的增殖和生长,因而不适合的。提高琼脂粉含量可有效地防止甜柿试管玻璃苗的发生,并且有利于新梢的增殖和生长,对褐变也没有不良的影响,这与 Debergh 等认为只有提高琼脂浓度才能克服这一现象的结果相符合。从玻璃苗发生的条件知,营养、光照、水分状况不适宜是其发生的主要原因。高浓度的琼脂粉之所以防止甜柿试管玻璃苗的发生是

高寒区日光温室芫荽越冬栽培

赵丽洁 闫立辉 林 静

目前高寒地区由于冬季气候严寒,日光温室越冬栽培蔬菜种类很多,只有大葱、韭菜、压霜菠菜,至于日光温室芫荽越冬栽培,尚未见到报道。本试验目的在于探索高寒地区日光温室芫荽越冬栽培技术,增加越冬蔬菜栽培种类。

拜泉县位于黑龙江省中部。齐齐哈尔地区东北部,东经 125°30′~126°31′,北纬 47°20′~47°55′,年平均气温 1.4℃,1993 年最冷 1 月平均气温-21.7℃,极端最低气温-31.3℃。土壤为保水性强含有机质高的黑土,平均冻深度 136.8cm。

试验在拜泉县拜泉镇郊区张占山砖木结构单斜面日光温室进行。供试材料为山东大叶芫荽,该品种味浓、耐寒、适应性强。

1992 年 9 月 18 日在日光室内平畦条播,畦面宽 100cm,畦埂宽 20cm,行距 10cm,播量折合 666.7m² 用种 4kg,播后镇压浇水,10 月 12 日扣薄膜,11 月 15 日幼苗 4~5 片真叶时覆盖棉被越冬。同时在日光室内用超薄膜扣小棚,晴天将棉被卷起,透光增温,保持最低温度不低于-12℃,芫荽处于基本停止生长状态。1993 年 1 月 28 日测得日光室内冻土层仅 30cm。立春后天气转暖,芫荽开始返青,摘去枯叶,幼苗 10cm 后进入旺长期,进行 2 次浇水,同时叶面追速效氮素化肥。经常保持土壤湿润,3 月 2 日芫荽高 30cm 时开始采收。3 月 25 日抽出花茎前收获结束,然后定植春茬黄瓜。

日光温室面积 98cm²,总产芫荽 205.5kg,产值 1029 元,折合 666.7m² 产量 1400kg,产值 7000 元。(第 1 作者黑龙江省拜泉县农业中心 第 2、3 作者拜泉县蚕业站)

因为降低了培养基的水势,尤其是降低了试管苗的水势。而每瓶中接种数目多,培养时间长,可能会导致光照强度变弱和营养失调,故提高了玻璃苗的发生频率。

参考文献

1 孔祥生 张妙霞 杜爱玲等.甜柿离体快繁技术研究,华中农业大学学报,1998,17(2):178~186
2 王韶唐主编.植物生理学实验指导,西安:陕西科学技术出版社,1986,8~11.
3 Vieitez AM et al. Anatomical and chemical studies of vitrified shoots of chestnut regenerated in vitro. Physiol. Plant, 1985, 65
4 师校欣 马宝焜 高仪.植物离体繁殖中玻璃苗的发生与防治.植物学通报,1992,增刊:20
5 胡继金 阮颖 廖爱君等.青霉素消除香石竹玻璃苗作用的研究.植物学通报,1992,增刊:13.(邮编 471003)