北方园艺 2004(3): 74~75

番茄组织培养存在的问题及对策

梁美霞[1], 李景富[1], 谢立波[2], 尤海波[2]

(1. 东北农业大学园艺学院, 哈尔滨, 150030; 2. 黑龙江省农科院园艺分院, 哈尔滨, 150069)

中图分类号: S641.2; S603.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2004)03-0074-02

番茄由于其营养丰富, 风味香郁, 适应性广, 产量高, 因而在世界各地被广泛种植, 成为各国的主要蔬菜作物之一。近来发现番茄中的番茄红素和胡萝卜素具有抗氧化功能及预防衰老和癌症等功能, 因而其食用价值和经济价值倍受关注。近年来, 随着生物技术的发展, 利用基因工程手段改良番茄品质性状成为科研工作者的研究热点。作为植物转基因工作的基础, 番茄再生系统的建立至关重要, 它是遗传转化成功的前提和保障。但在组织培养过程中, 常会遇到一些问题使试验无法进行下去, 甚至导致整个试验的失败, 给科研和生产造成损失。如培养过程中的污染、褐变、玻璃化是组织培养中公认的三大难题。本文在总结分析有关文献的基础上, 结合自己在番茄子叶、下胚轴、子叶节等不同外植体的组织培养研究中的体会, 针对这些问题从其发生原因及控制措施方面进行浅析。

1 褐变的原因及对策

外植体的褐变是番茄组织培养中常见的现象。它是由于组织中的酚类物质经氧化后产生棕褐色的醌类物质造成的。这类物质可抑制细胞中其它酶的活性, 影响细胞的正常代谢, 严重时可导致组织的死亡。褐变的发生与外植体组织中所含的酚类化合物多少和多酚氧化酶活性有直接关系。很多植物, 特别是木本植物都有高含量的酚类化合物, 番茄是含酚类物质较多的蔬菜, 这些酚类化合物在完整的组织和细胞中与多酚氧化酶分离存在, 因而比较稳定。在切割外植体时, 切口附近的细胞受到伤害, 其分离效应被打破, 酚类化合物外溢。酚类物质很不稳定, 在溢出过程中与多酚氧化酶接触, 迅速氧化成褐色的醌类物质和水, 醌类又会在酪氨酸酶等酶的作用下, 与外植体组织中的蛋白质发生聚合, 进一步引起其它酶系统失活, 从而导致组织代谢活动紊乱, 生长停滞, 最终衰老死亡。

褐变的产生受诸多因素的影响。首先要选择适宜的外植体, 所选材料的苗龄、取材部位、材料的大小及外植体受伤害程度等均能对褐变产生影响。一般幼龄材料接种后褐变很轻, 随着苗龄增长, 褐变逐渐加重, 试验发现苗龄较长的子叶和高度分化的真叶容易褐变。试验观察一般选 7 d~9 d(天) 苗龄的番茄子叶较为适宜。外植体的大小也十分重要, 如果过小很容易发生褐变。子叶的大小应该不小于 0.5 cm×0.5cm(厘米), 小于 0.5×0.5 的子叶褐变严重。下胚轴的适宜长度是 0.5 cm~0.7cm(厘米)。外植体的受伤害程度直接影响褐变, 切割时应尽可能减少伤口面积, 伤口尽可能平整些, 并缩短切口暴露在空气中的时间。通过缩短转瓶周期或多次连续转移培养也可减少褐化的发生。接种后转瓶时间长, 伤口周围积累醌类物质增多, 褐变严重, 而缩短转瓶周期可减轻褐变。多次连续转移培养是在外植体接种后 1 d~2 d(天) 立即转移到新鲜培养基中或同一培养基中不同部位。另外, 合适的培养基, 在培养基中加入抗氧化剂和活性炭都会有效控制褐化的发生。值得注意的是, 用活性炭抑制褐变有一个副作用, 即活性炭在吸附有毒酚类的同时, 也要吸附培养基中的生长调节剂。

2 污染的原因和对策

在番茄组织培养过程中污染是经常发生的。造成污染的病原主要分为细菌和真菌两大类。

细菌性污染的主要症状是培养材料附近出现粘液状和发酵泡沫状物体, 或在材料附近的培养基中出现混浊和云雾状痕迹, 一般在接种后 1 d~2 d(天) 即可发现。播种番茄种子后, 在种子周围出现细菌污染, 一般是种子消毒不彻底, 解决的办法是延长用 75%的酒精和 10%的次氯酸钠的消毒时间。如果是接种后在外植体周围出现细菌污染, 可能的原因是镊子带菌或操作台及操作人员的手未消毒干净。解决的办法是待超净台开启 15 min(分钟) 后用 75% 的酒精擦洗台面, 再将镊子蘸取酒精后烧红做到彻底消毒, 接种时镊子使用一次后(或接完一瓶) 即要消毒一次, 操作过程中要经常用 75% 的酒精擦洗手部。

真菌性污染主要指霉菌引起的污染, 一般接种后 3 d~8 d(天) 才可发现。真菌性污染, 一般多由接种室内的空气不洁净, 超净工作台的过滤装置失效, 操作不慎等原因引起, 此类污染可通过完善操作、培养环境、严格操作程序来克服。如果接种后真菌大面积污染, 且真菌落位置不定, 可能的原因是接种室的孢子过多或超净台的滤布不洁。解决办法是: 更换或清洗滤布, 用甲醛熏蒸接种室(将约 50 ml(毫升) 的甲醛倒入 10 g(克) 左右的高锰酸钾中, 使甲醛蒸气散发出来, 密闭接种室门窗 24 h(小时))。

3 玻璃化的原因和对策

玻璃化现象是指在培养过程中材料呈半透明状, 组织结构发育畸形的现象, 又称过度水化。玻璃化的苗由于组织畸形, 分化能力降低, 不易成活, 因此不宜用作继代和移栽的材料。

玻璃化虽是组织培养中经常发生的现象, 但迄今为止, 对于玻璃化的成因尚无定论。目前人们认为玻璃苗的形成可能有以下几方面的原因: 一是培养条件对玻璃化的影响很大。例如: 培养基的成分、光照、温度、湿度及透气性。二是玻璃苗的叶绿素含量很低, 因此其光合作用减弱, 物质合成能力下降, 导致发育不良而发生畸形。三是玻璃苗苯丙氨酸解氨酶活性降低, 而这种酶是植物木质素和纤维素合成途径的关键

收稿日期: 2004-01-10

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

绿地草坪养护管理技术

王耀峰,杨世勇
杨和平,马平平

草坪做为现代园林的重要内容,越来越受人们的喜爱和重视。张家川县属高寒半干旱地区。近两年我们在机关、学校、社区进行了草坪建植的尝试,选择耐旱、速生和较易管理的黑麦草、早熟禾等草种。根据张家川县立地条件和黑麦草、早熟禾生长发育特点,初步总结出了养护管理技术,供参考。

1 修剪 修剪是草坪管理中最重要、最基本的措施之一。草坪如不修剪,长高的草坪将会改变外观,缩短使用寿命,失去观赏利用价值。修剪可以调节草坪表面高度,使表面光滑平整,质地细腻,叶形优美;防止草坪徒长,促进分蘖,增加草坪密度;并可抑制因叶片过密,透光性差而引起病虫害,还可防止杂草侵入及抑制一年生杂草的开花结果。黑麦草、早熟禾草坪一般每年修剪 10~12 次,修剪留茬高度一般为3.8 cm~6.4 cm(厘米),具体修剪时间、次数应依草坪草的生育状态、草坪质量而定,总体上应遵照草坪修剪的三分之一原则,即每次修剪的剪去部分一定要在草坪草生长顶部总量的三分之一以内。即当草坪草高度大于适宜修剪高度(留茬高度)的50%时,及时修剪。以留茬高度 6 cm(厘米)为例,当草坪草接近 9 cm(厘米)时,必须修剪,如果超过这一高度,剪后草坪观赏效果及草坪都会受到较大影响,从而降低草坪总体质量,如果超过了这一高度,则应提高三分之一原则标准,多次修剪逐步达到标准,留茬高度切不可一次到位。在张家川县一般夏、秋季生长旺盛,应提高修剪频率,一般 10 d~20 d(天)修剪一次,其它季节可减少修剪次数。修剪时应注意:一是剪草机刀片不锋利及留茬太低等不正确操作,否则会引起草坪质量的严重损害及病虫发生流行;二是修剪前应先清除草坪上的石块、铁丝、树枝、塑料袋等杂物,防止刀片损坏,以利剪草机顺利运行;三是同一块草坪,每次修剪应避免使用同一种方法,并防止在同一地方,同一方向的多次修剪;四是应将修剪后的草屑及时运出草坪地。

2 施肥 施肥是维持草坪持久性和保持其良好景观的有效措施。草坪生态系统是人工生态系统,在每次修剪中会造成不同程度的养分损失,因此要适当供给或控制养分以利草坪草持续生长。草坪肥源可分有机肥料和化学肥料两大类,有机肥料主要有厩肥、牲畜粪尿、腐殖酸类及人造有机肥等多种,一般均作基肥作用,当用作追肥时最好堆放充分腐熟后再使用。化学肥料可分速效化肥、迟效草坪专用肥及复合肥,一般作追肥使用。施肥时期应在温度和湿度对草坪生长有利的时期进行。张家川县因气候较为凉爽,一般每年在早春和初秋施肥,在夏季尽量少施氮肥,以免造成草坪草徒长。施肥量随土壤的自然肥力,生长季节的长短和草坪使用强度等因素而定。土壤贫瘠生长季节长,使用强度高的草坪应当多施肥料,庭院绿地草坪,一般以 30 g/m^2~50 g/m^2(克/平方米)复合肥为宜。施肥常与修剪、灌水相结合,一般先修剪,后施肥,再灌水。

3 灌水 水是草坪草的必需物质,草坪草组织的 80%~90%由水分组成。水分含量下降就会引起草坪草萎蔫枯黄,当含水量下降到 60%时,草坪草就会死亡。当土壤水分和大气降水不能满足草坪草生长发育需要时,应进行及时的灌水。草坪草生长期需水量与其生长量成正相关,即生长量越大需水量则越多,草地早熟禾、黑麦草在夏季耐旱性较差,应重视灌水。在沙壤土质建植的草坪因土壤保水性较差,需定期灌水。正常降雨年份年可灌水 10 次左右。在冬前和早春,还应注意灌足"封冻水"和"开春水"。灌水方式可采用喷灌、洒灌及漫灌等方式,灌水一般湿润土壤深度 10 cm~15 cm(厘米)为宜;以地表或地下水质较软的水源为佳。

4 病虫害防治 常见的草坪病虫害有:锈病、褐斑病、黑粉病、白粉病等。一般采用 15%粉锈宁粉剂 1 500 倍液或 70%甲基托布津可湿性粉剂 800~1 000 倍均可防治。常见虫害:地下害虫有蛴螬、蝼蛄、地老虎等,茎叶害虫有粘虫、蝽类害虫等。采用 50%辛硫磷 1 000%~1 500%液结合灌水或喷雾均可有效防治。

5 杂草清除 草坪杂草是指除建坪草种以外的其它草种。杂草的生长会与草坪草竞争水分、养分、光照和生育空间,从而影响草坪的正常生长发育,以至影响草坪的美观和使用价值,造成草坪退化。因此要经常清除草坪杂草,除草的方法主要以人工除草为主,要求除早、除了,达到彻底清除的目的。

(甘肃省张家川县果树站,741500)

酶之一,因而导致粗纤维的含量下降,细胞壁膨压下降,水势降低,细胞吸水过多造成发育不良而发生畸形。解决的办法是:适当提高培养基中蔗糖以及 Ca^{2+}、Mn^{2+} 等离子的浓度;在长期继代培养中逐步降低细胞分裂素的用量;在培养过程中控制好温度、湿度,温度不要过高、湿度不要过大;适当提高培养基中琼脂的浓度;适当降低培养基中氨态氮的含量,提高硝态氮的含量;改善培养容器的通风换气条件,选用通气好的封口膜封口。

4 其它一些应注意的问题

番茄种子消毒过程中 75%的酒精的使用应慎重,酒精渗透力极强,消毒时间过长,种子发芽率下降,故用其消毒时间不应超过 1 min(分钟)。

灭菌前调整培养基的 pH 值,最好不低于 5.8,否则培养基灭菌后容易不凝固。蔗糖和有些激素在高温灭菌时容易酸化,致使培养基的 pH 值在灭菌后有所下降,而琼脂在酸性强的条件下不易凝固。

培养基的灭菌时间不能过长,灭菌温度不能过高。一般 25 ml~150 ml(毫升)的培养基灭菌时间不要超过 15 min(分钟),时间过长营养元素被破坏。一般的植物激素或某些营养成分在温度过高时均宜分解,灭菌的温度切记不可太高,121 ℃~122 ℃即可。

抗生素或容易分解的激素例如 IAA、ZT 等切记不可在灭菌前加入。应将这些物质通过细菌过滤器过滤灭菌,然后在培养基灭菌后温度降到 40 ℃~50 ℃时再加入,并且一定要摇匀。

番茄组培苗移栽成活率低的原因主要是组培苗从三角瓶中取出后周围的温度、湿度和基质都发生了变化,另外如果苗根部的培养基有残留也会造成细菌的富集而死亡。在移栽前打开封口膜,炼苗 3 d~5 d(天)后,取出苗用流水洗净根部的培养基,然后移栽到盛有灭过菌的蛭石的营养钵中过度一下,但要注意不可向营养钵中浇营养液,否则容易长菌,并且要注意保温保湿,用透明的塑料薄膜罩住小苗 3 d~5 d(天)后移栽到土里。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net