

克服香石竹试管苗玻璃化研究

高 疆 生, 张 卫 芳, 段 黄 金, 赵 书 珍

(塔里木农垦大学植科院, 新疆阿拉尔 843300)

摘 要: 试管植物的玻璃化现象是植物组织培养中普遍发生的一种生理病变。本试验以香石竹为试验材料, 通过更换棉塞、增加琼脂浓度、降低 6-BA 浓度, 及在培养基中添加不同浓度的青霉素等方法来克服玻璃化现象。结果表明: 以上措施对克服试管苗玻璃化均有效果。尤以添加 $64 (10^{-6})$ 青霉素效果最佳, 正常苗诱导率达 95%。

关键词: 香石竹; 组织培养; 玻璃化

中图分类号: S681.503.6 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2001)03-0034-03

香石竹喜凉爽忌炎热, 在夏季炎热气候下, 尤其是香石竹试管苗在培养容器小环境的相对湿度等与水势有关的许多外源因素的影响下, 易产生玻璃化现象。植物试管苗玻璃化现象在组织培养中普遍存在。目前已知报道的有 30 种以上试管植物有玻璃化现象, 是试管苗生产中急待解决的问题之一^[1]。已有文献表明, 导致玻璃苗发生的因素很多^[1]。同时, 试管苗在继代过程中一旦产生玻璃苗, 其增殖系数明显下降, 玻璃苗因其体内含水量高, 吸收与光合功能不全, 移栽不易生根, 难以成活, 因此, 玻璃苗成为试管苗生产的一大障碍^[1,2]。本试验比较综合、具体地分析香石竹玻璃苗产生因子, 并针对香石竹玻璃化程度的不同, 采取有效控制途径, 以其克服香石竹的玻璃化现象。据报道, 青霉素作用强度和植物激素接近, 对整个植株的各部分能同时产生促进生长作用^[3]。本试验, 采取添加适量青霉素来进一步实现香石竹的健康快繁效果。

1 材料与方法

1.1 供试材料

香石竹试管苗, 根据其玻璃化程度分为 4 级。1 级: 玻璃化轻微, 初步向玻璃苗转化, 茎叶生长较正常。2 级: 叶片卷曲, 微透明, 似有膨大倾向, 但茎均属较正常, 玻璃化水平比 1 级明显。3 级: 叶片、茎均属透明, 叶、茎有膨大现象, 但仍能生长。玻璃化水平较 1~2 级突出。4 级: 叶片扭曲、透明, 茎透明肿大, 靠培养基水平面与植株底部的叶片已完全水浸状、膨大, 叶片变脆、变黄, 叶绿素减退。植株几乎停止生长。玻璃化症状尤为显著, 严重玻璃苗已完全死亡, 被淘汰。

1.2 培养条件

培养室温度 $25^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$, 每天荧光灯照明 16h (小时), 照度为 $2500\text{lx} \sim 3000\text{lx}$, pH 值为 6.0。

1.3 方法

1.3.1 针对 1 级玻璃苗采取更换棉塞与不用棉塞, 找出产生玻璃化现象的原因。

1.3.2 针对 2 级玻璃苗, 以提高琼脂浓度 (8g/L (克/升)), 降低 6-BA 浓度 (0.5mg/L (毫克/升)) 的组合, 与正常琼脂量 (7g/L (克/升)), 6-BA 为 $1.0 \sim 1.5\text{mg/L}$ (毫克/升) 的组合进行比较。

1.3.3 结合前 2 种玻璃苗克服方法, 再添加不同浓度的青霉素 ($4(10^{-6})$ 、 $16(10^{-6})$ 、 $32(10^{-6})$ 、 $64(10^{-6})$) 与未加青霉素的玻璃苗进行参照对比。两者之间共同的克服途径是: 更换棉塞、增加琼脂量及降低 6-BA 浓度。采取以上的综合措施, 针对 3~4 级香石竹玻璃苗, 探求克服途径。同时进行香石竹试管苗的增殖倍数及有效苗生根率的比较, 进一步找出香石竹有效苗快繁措施。

2 结果与分析

2.1 针对 1 级香石竹玻璃苗—玻璃化轻微, 初步向玻璃化苗转化, 茎、叶生长较正常, 无突出明显玻璃苗征状。初步分析其产生的原因是由于夏季炎热气候下, 瓶内所提供植株的生长发育空间有限, 并且所用的瓶口封装是两层分装膜中夹层牛皮纸, 这样在高温环境下, 使瓶内植株呼吸空间太小, 导致植株逐步向玻璃苗方向转化。

根据其因 采取的第一步预防对策就是使用棉塞。在实验中对比香石竹植株 1 级玻璃苗生长过程中所出现的不同反应: 1 级玻璃苗在使用棉塞后第 10d (天) 观察 瓶内及瓶壁上的过多水分散失, 蒸发, 植株显绿。第 20d (天) 瓶内的反应是培养基表层水分较适中, 植株富有弹性, 叶

收稿日期: 2001-01-11

色幽绿, 生长旺盛 与正常苗相同。整个瓶中的感观较清澈、明亮。而在未使用棉塞的第 10d(天)观察, 瓶内及瓶壁上依然布满水珠及水汽, 叶片上似有雾气, 叶色微绿。第 20d(天)后瓶内的培养基表层有少量渗水, 瓶壁布满水珠, 叶片微卷曲, 且呈微透亮状, 生长一般, 叶色较失绿, 整个瓶中较浑浊, 植株玻璃化现象逐渐向 2 级发展。

通过试验可看出在更换棉塞的瓶中香石竹 1 级玻璃苗现象逐步转化成正常苗。这说明, 加上棉塞, 能改变培养容器内小环境的相对湿度等与水势有关的外源因素^[4], 调节植株叶片渗透能力, 增强渗透, 叶片水分状况得到改善, 而叶片可在较长时间内保持较强的渗透调节

能力, 这不仅有利于叶片的延伸生长^[5], 还使叶片在气孔运动、光合、蒸腾等生理代谢方面表现出有利于植株生长的优势, 增强瓶内生长植物与周围环境的通风效果。而未加棉塞的玻璃苗, 随着植物的增多, 瓶中的体积与供给植物的呼吸及吸收空间也随之降低, 瓶内的水分及呼吸、光合等生理因素得不到改善, 使正常苗因体内含水量过高, 干物质、叶绿素等吸收功能不健全, 从而导致玻璃苗的产生。经实验结果表明, 使用棉塞克服 1 级玻璃苗, 是有效而简便的措施。

2.2 根据 2 级玻璃苗的表现特征, 采取提高琼脂浓度、降低 6-BA 浓度与一般琼脂浓度、提高 6-BA 浓度, 观

表 1 不同琼脂浓度与 6-BA 浓度下, 2 级玻璃苗的转变及生长增殖率

琼脂量	激素浓度	增殖倍数		玻璃苗(%)		玻璃苗的生长变化
		15d(天)	30d(天)	15d(天)	30d(天)	
8g(克)	NAA0.01mg/L 6-BA0.5mg/L MS	20~25	30~40	8	2	2 级玻璃苗经 30d(天)后, 叶片伸展, 茎粗壮生长, 消除膨大倾向, 叶色深绿, 植株约 4~5cm(厘米), 节间展开伸长, 瓶内培养基湿度适中, 无多余水渍浸泡底部叶片。
		17	25	10	8	
7g(克)	6-BA1.0mg/L NAA0.01mg/L 6-BA1.5mg/L NAA0.01mg/L	20	20~25	74	81	2 级玻璃苗经 30d(天)后, 叶片扭曲, 茎瘦弱, 叶片增厚, 植株瘦弱, 节间短, 叶色失绿, 茎微透明, 瓶内十分浑浊, 培养基表层有多余水份被浸叶片膨大透明。
		15	17	81	95	

察 2 级玻璃苗的转变情况, 见表 1。

通过试验可知 2 级香石竹玻璃苗生产不只是瓶内环境空间限制与植物水势的失调而引发的, 同时通过对培养基观察可看出培养基的松紧程度及培养基中自发流失出的水分无处吸收, 与此时也存在植物激素的不适或过高等综合因素导致 2 级玻璃苗的产生。据很多有关资料也报道过从提高琼脂浓度及降低细胞分裂素的角度上克服玻璃化苗。据表 1 可看出在提高 8g 琼脂量、降低 6-BA 浓度为 0.5mg/L(毫克/升)时, 玻璃化苗的百分率明显减少, 增殖倍数递增, 玻璃苗转变情况, 也日趋明显, 最终走向正常苗。同时观察不加生长素调节剂的 MS 培养基中, 植株生长增殖倍数较低, 有生根现象, 植株生长较粗壮, 由于生根现象出现, 根系内的植物细胞, 改善了整个植株的呼吸运动, 从而改善瓶内植物呼吸功能, 调节

水势和空气流通状况。因此也减少了玻璃苗的产生。也由于生根现象与无生长素的刺激而导致增殖倍数的降低。从表 1 中可见琼脂量为 7g, 6-BA1.0~1.5mg/L(毫克/升)的 2 级玻璃苗玻璃化现象逐渐明显, 增殖倍数在 6-BA1.0mg/L(毫克/升)中, 起初增殖效果较好, 但进入 30d(天)后增殖倍数下降与 MS 的增殖倍数相差不多, 玻璃化苗的百分率与 6-BA0.5mg/L(毫克/升)浓度下的玻璃化苗的百分率及增殖倍数相差甚远。6-BA 为 1.5mg/L(毫克/升)的培养基中, 植株生长的增殖倍数与以上 3 种(6-BA0.5~1.0mg/L(毫克/升)、MS)相比, 增殖递减, 甚至趋近于停止分化生长, 玻璃化现象不断上升, 进入 4 级玻璃苗状态。在 6-BA1.0~1.5mg/L(毫克/升)的培养瓶内, 由于琼脂量的影响之下, 培养基中相对水势增加, 植物渗透调节能力失调、叶片水分状况分布

表 2 不同浓度的青霉素对于 3~4 级玻璃苗的影响(观察 20 天后的变化)

相同激素	青霉素含量	增殖倍数	玻璃苗(%)	玻璃苗转化情况
6-BA0.05mg/L NAA0.01mg/L	4(10 ⁻⁶)	20~25	10	玻璃苗稍减轻, 脆性减小, 改善不明显, 茎叶均呈半透明状态。
	16(10 ⁻⁶)	35	8	玻璃苗处于 2~3 级, 转变稍明显, 叶呈半透明状。
	32(10 ⁻⁶)	40	5	玻璃苗转变明显, 处于 1~2 级状态, 有微水浸状。
	64(10 ⁻⁶)	50	1	玻璃苗几乎消除, 部分苗有叶卷曲, 但征状不明显, 处于 1 级或正常苗状态。
6-BA0.05mg/L NAA0.01mg/L	0(10 ⁻⁶)	25	30	玻璃苗植株的上半部位, 有减轻, 叶色较绿, 叶片多半呈扭曲, 部分玻璃苗, 靠近植株下半部位, 玻璃化现象较为严重, 呈水浸状, 处在半玻璃苗阶段。

不均匀等多种原因, 进一步增加玻璃苗的百分率。与此

同时, 生长调节剂是影响香石竹试管苗玻璃化的重要因

素^[9]。试验结果表明:细胞分裂素作生长调节剂,应有适量的浓度范围,采用生长素浓度不当,香石竹试管苗易出现玻璃化现象。在一定范围内,细胞分裂素浓度越高对植物的分化力越强,玻璃化程序越严重,这主要是由于细胞分裂素使香石竹细胞分裂加快,侧芽分化过盛,影响了植物体内干物质积累及组织器官发育。因此,有效地降低6-BA的浓度及增加琼脂量是克服玻璃苗的重要途径之一。

2.3 针对3~4级玻璃苗,依据前3种克服玻璃苗途径再结合培养基成份中添加不同浓度的青霉素与不添加青霉素的玻璃苗做试验对比,表现结果见表2。在表2中看出,除结合前2种更换棉塞、提高琼脂量与降低6-BA浓度的克服手段以外,附加不同浓度的(4(10⁻⁶)、16(10⁻⁶)、32(10⁻⁶)、64(10⁻⁶))青霉素。可通过玻璃苗百分率看出,有着不同层次上的减轻,最佳的适合浓度在64(10⁻⁶),增殖倍数也是明显增多,玻璃化苗从整体上看也是明显减少,结合前3种控制手段,更为明显看到玻璃苗的减少和逐渐消失。在4(10⁻⁶)、16(10⁻⁶)、32(10⁻⁶)青霉素中,玻璃苗已有不同程度上的改变,但效果与64(10⁻⁶)相比稍差些。从表2分析,未加青霉素的3~4级玻璃苗百分率、增殖率虽在一定程度上有所改善,玻璃化现象也有一定改善但只是部分转变,与加青霉素的效果对比玻璃苗较为严重,植株生长慢,叶色失绿无光泽。这说明,玻璃苗中叶绿素含量比正常植株低^[7]。添加青霉素是因为它一方面促进叶片中核酸和蛋白质的合成来促进叶绿体色素的合成,另一方面通过降低叶片中叶绿素的活性来延缓叶绿素的降解,从而提高叶片中叶绿体色素的含量^[3]。因此,它能延缓植株衰老,增强光合能力,延长光合时间,它的这一作用也是间接地影响植物体内源激素与细胞分裂素的代谢和可用性而产生的^[8]。通过青霉素对植物所能产生的光合作用,从生理上抑制和克服玻璃苗的产生。

2.4 青霉素对于香石竹试管苗的增殖及有效苗生根率影响。试验结果表明:添加64(10⁻⁶)青霉素,明显提高香石竹试管苗的增殖倍数和生根率(见表3)。

青霉素对于香石竹试管苗的增殖及有效苗生根率影响
表3

激素浓度 mg/L	青霉素含量	增殖倍数	生根率%
①6-BA0.5+NAA0.01	64(10 ⁻⁶)	50~60	70
②6-BA0.5+NAA0.01	0(10 ⁻⁶)	35~40	30
③MS	64(10 ⁻⁶)	30~50	80
④MS	0(10 ⁻⁶)	20~30	60

这说明青霉素在适当量的范围内,才能充分体现出对植物具有生长促进作用。据报道青霉素有诱导植物α-淀粉酶的形成和促进生长等多种生理效应,其作用类似于生长素、赤霉素和细胞分裂素^[3]。所以在香石竹试管苗的快繁及有效苗生根中添加适量浓度的青霉素则是

保证香石竹在组织培养中真正驯化出健康、茁壮的有效快繁苗,培养出生长快、生根多、成活力较高的苗木,投入到生产当中去。

3 讨论

3.1 本文则汇集多方面的研究,报道玻璃化苗的克服、防范措施,结合本实验玻璃苗级别特征,集思广益,采取一系列的综合措施来进行香石竹玻璃苗的克服实验,结果良好,有效地达到克服途径,但对香石竹玻璃苗所产生的生理效应还需继续探讨和研究。

3.2 青霉素是一种具有强烈杀菌作用的抗菌素,添加在培养基中,能减少和抵抗植物接种时所引起的外源因素污染及植株本身可能携带的某些螺旋体和放线菌的侵染。可做为植物组培中进行外植体杀菌的防范措施之一。

3.3 近年来,印度等地的植物生理学工作者发现青霉素对种子α-淀粉酶形成,多种植物幼苗生长、叶绿体色素的形成与降解、根的形成与生长、根瘤的形成、愈伤组织的生长与分化以及内源生长物质的代谢等都具有显著的影响^[3]。因此开展研究青霉素对植物生长发育和代谢活动的影响以至在组培生产中的应用是非常有意义的。有关添加青霉素的最佳促进生长浓度有待进一步研究。

参考文献

- [1] 人学贤、陈维伦. 试管植物的玻璃化现象[J]. 植物生理学通讯, 1987, 15: 13~18.
- [2] 刘思颖、王泰哲. 香石竹玻璃苗的研究[J]. 园艺学报, 1988 (4): 272~276.
- [3] 李海航、潘瑞炽. 青霉素在高等植物中的作用[J]. 植物生理学通讯, 1987, 5: 1.
- [4] 周菊花等. 控制瑞香试管玻璃化的研究[J]. 园艺学报, 1990, 3: 229~232.
- [5] Kramer Paul J. Water relations of Plant. London: Academic Press, 1983.
- [6] 张昆瑜、潘建国、侯任昭. 乙烯释放剂克服香石竹试管苗玻璃化的研究[J]. 华南农业大学学报, 1991, 12(3): 73~78.

* 本文由段新玲老师修改指正, 表示感谢!



第一作者简介:高疆生,汉族,1959年11月生,1982年2月毕业于塔里木农垦大学果林专业,留校任教。现为塔里木农垦大学植物科技学院副教授,主讲《果树栽培学》、《果树生理学》、《果树研究法及生物统计学》等课程。主持和参加新疆兵团科研课题三项,主持校级课题多项,获兵团科技进步二等奖一项,发表论文十多篇,参编专业科技书两部。目前主持兵团科研课题《南疆特色果树资源调查及丰产栽培技术研究》和兵团农业局课题《南疆特色果树优良苗木繁育基地建设》。