

防止小果型西瓜组培苗玻璃化的研究

石晓云

(邢台学院 生物化学系, 河北 邢台 054001)

摘要:以小果型西瓜组培苗为试材,通过调节实验环境条件与试剂浓度,研究了防止组培苗玻璃化的对策。结果表明:培养容器的封口材料用棉塞,变温处理,降低 BA 浓度,加入适量的聚乙烯醇可以有效地防止组培苗的玻璃化。

关键词:小果型西瓜;组织培养;玻璃化

中图分类号 S 651.603.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)09-0152-03

小果型西瓜不但汁多味甜,肉质细嫩,性凉爽口,而且小巧秀美,便于食用。在人们追求高档水果的今天逐渐受到消费者和栽培者的青睐。如今植物组织培养各项技术在西瓜上的应用日臻完善,促进西瓜科学研究与生产的双项发展,在小果型西瓜组织培养方面的研究相对较少。得到的小果型西瓜无菌苗能否继代培养并不断增殖是满足组培苗的工厂化需求的关键。在研究中发现,正常小果型西瓜组培苗在继代和生根培养中,茎叶根生长良好,增殖率与生根率均较高;发生玻璃化的组培苗其叶与嫩梢呈半透明水浸状,叶片纵向卷曲,茎叶质脆,缺乏柔韧性,表面无角质层蜡质,增殖与生根能力很低。在培养中一旦组培苗出现玻璃化现象,势必会影响组培苗的增殖数量和质量。

组培苗玻璃化的因素多种多样,如培养条件、培养基成分等不适均会对其产生不利影响。现通过对小果型西瓜组织培养的环境条件、培养基成分进行研究,探索防止小果型西瓜组培苗玻璃化的有效途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

市场上销售的小果型西瓜品种“黄小玉”,由成熟胚培养和胚子叶再生出的组培苗为试材。试材的生理状态基本一致。

1.2 试验方法

1.2.1 培养器皿的封口材料对组培苗玻璃化的影响
目前组织培养器皿的封口材料大致有 2 种类型 1 种为棉塞外包牛皮纸;1 种为透气塑料封口膜。试验对比用这 2 种封口材料对西瓜组培苗玻璃化的防止效果。培

养基为 MS+0.3 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA,蔗糖 30 g/L,琼脂 7 g/L,pH 5.8,光照时间 14 h/d,光照强度 2 000 lx,温度 25℃(以下培养条件除特别说明外均同上)。每处理接种 10 株,每培养 30 d 继代 1 次,连续继代 3 次。计算增殖率、玻璃化苗率。

1.2.2 不同 6-BA 浓度对组培苗玻璃化的影响
基本培养基为 MS+0.1 mg/L NAA,附加的 6-BA 浓度分别为 0.3、0.5、1.0 mg/L。封口材料为棉塞。每处理接种 10 株,每培养 30 d 继代 1 次,连续继代 3 次。计算增殖率,玻璃化苗率。

1.2.3 变温培养与恒温培养对组培苗玻璃化的影响
培养基为 MS+0.3 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA。恒温处理昼夜均为 25℃,白天 14 h,夜晚 10 h;变温处理白天为 28℃,14 h,夜晚 23℃,10 h。封口材料为棉塞。每处理接种 10 株,每培养 30 d 继代 1 次,连续继代 3 次。计算增殖率,玻璃化苗率。

1.2.4 聚乙烯醇浓度对组培苗玻璃化的影响
采用高浓度的 BA 与长时间的培养周期胁迫处理。培养基为 MS+1 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA,聚乙烯醇浓度分别为 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 g/L。温度 25℃,封口材料为棉塞。每处理接种 10 株,每培养 45 d 继代 1 次,连续继代 3 次。计算增殖率,玻璃化苗率。

2 结果与分析

2.1 不同的封口材料对组培苗玻璃化的影响

组培试验中封口材料的不同会影响到培养三角瓶的透气性,继而影响气体与外界交换情况以及瓶内部的湿度。由表 1 可知,培养于带棉塞三角瓶的组培苗增殖率高于用透气塑料封口膜的,并且前者玻璃化苗率大大低于后者。在继代培养中发现使用棉塞的瓶内比使用透气塑料封口膜的瓶内干燥,说明棉塞的透气性要好于封口膜,既能使内外气体交换通畅,又可降低培养容器内部环境的相对湿度。

作者简介:石晓云(1979),女,河北柏乡人,硕士,讲师,现主要从事植物生物技术研究工作。E-mail: shixiaoyun1999@163.com.

收稿日期: 2011-02-11

表 1 封口材料防止组培苗玻璃化的比较

封口材料	接种数/个	增殖株数/株	平均增殖率/倍	玻璃化苗数/株	玻璃化苗率/%
棉塞	10	168	2.56	23	13.69
封口膜	10	66	1.87	26	39.39

2.2 6-BA 浓度的不同对组培苗玻璃化的影响

6-BA 是一种细胞分裂素, 具有促进细胞分裂和分化的作用, 在组培苗的增殖过程中起着重要的作用, 它的浓度的大小影响着组培的效果。由表 2 可知, 不同的

6-BA 浓度作用下增殖率的差异不明显, 其玻璃苗率差异比较显著, 0.3 mg/L 6-BA 处理玻璃苗率最低, 1 mg/L 6-BA 处理玻璃苗率最高, 随着其浓度的增高玻璃化苗率增大。

表 2 6-BA 浓度防止组培苗玻璃化的比较

BA 浓度/mg · L ⁻¹	接种数/个	增殖株数/株	平均增殖率/倍	玻璃化苗数/株	玻璃化苗率/%
0.3	10	160	2.52	21	13.13
0.5	10	179	2.61	46	25.70
1.0	10	156	2.50	77	49.36

2.3 变温培养与恒温培养对组培苗玻璃化的影响

由表 3 可知, 恒温处理下组培苗的增殖率与变温处理下的增殖率没有明显差异, 但恒温处理下组培苗玻璃

化率高于变温处理下的玻璃化率。因此, 在扩繁时最好在昼夜有温差的变温条件下培养有利。

表 3 变温培养与恒温培养防止组培苗玻璃化的比较

温度/℃	接种数/个	增殖株数/株	平均增殖率/倍	玻璃化苗数/株	玻璃化苗率/%
25	10	171	2.58	20	11.70
28/23	10	167	2.56	9	5.39

2.4 不同浓度的聚乙烯醇对组培苗玻璃化的防止

聚乙烯醇是一种水分胁迫剂。由表 4 可知, 加入 2.0、2.5 g/L 聚乙烯醇有较高的增殖率, 并且有极低的

玻璃化苗率; 聚乙烯醇浓度过高或过低防治组培苗玻璃化的效果不好。

表 4 聚乙烯醇浓度防止组培苗玻璃化的比较

聚乙烯醇浓/mg · L ⁻¹	接种数/个	增殖株数/株	平均增殖率/倍	玻璃化苗数/株	玻璃化苗率/%
0	10	187	2.65	23	12.30
0.5	10	192	2.68	22	11.46
1.0	10	179	2.62	20	11.17
1.5	10	177	2.61	13	7.34
2.0	10	197	2.70	4	2.03
2.5	10	203	2.73	5	2.46
3.0	10	175	2.60	11	6.29
3.5	10	186	2.65	13	6.99

3 结论与讨论

组培苗的玻璃化是组织培养中一种异常现象, 玻璃化苗增殖与生根能力差, 难以继代培养和移栽, 并且难以恢复成正常苗。在组织培养中很难做到全部抑制玻璃化现象, 但通过采取有效的措施可以很好地把它控制在较低的范围。尤其是在工厂化育苗过程中, 如果有效地控制了玻璃化现象, 不但可以顺利扩繁, 还可以节约时间、降低成本。有关玻璃化的成因及生理机制众说不一^[1]。激素浓度高, 培养时间长, 营养不足, 光照时间短, 温度不适等都会导致组培苗的玻璃化。黄荣韶^[2]等通过提高培养基中的琼脂和蔗糖浓度以降低培养基中的可利用水和容器的相对湿度来控制无籽西瓜组培苗的玻璃化; 师校欣^[3]等在培养基中添加聚乙烯醇在不同程度上抑制苹果组培苗的玻璃化; 商宏莉^[4]等通过将 NH₄NO₃ 含量减半的方式有效的控制了玻璃化苗的发生。

该试验通过研究环境条件与试剂浓度来防止组培苗玻璃化。结果表明, 培养容器的封口材料用棉塞; 对西瓜组培苗采取变温处理, 即白天为 28℃、14 h, 夜晚 23℃、10 h; 6-BA 浓度为 0.3 mg/L; 聚乙烯醇浓度为 2.0、2.5 g/L 等措施可以有效地防止组培苗的玻璃化, 且将玻璃化率降低到 2.03%; 在西瓜组培苗工厂化繁育时, 减少玻璃化, 可以降低成本、加快速度, 提高组培苗数量和质量。

参考文献

- [1] 曹汝义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1998: 68-72.
- [2] 黄荣韶, 覃伟. 无籽西瓜离体培养中玻璃化现象的研究[J]. 广西农业大学学报 1998, 17(3): 266-270.
- [3] 师校欣, 马宝琨, 高仪. 植物离体繁殖中玻璃化苗的发生与防治[J]. 植物学通报 1992(增刊): 13-15.
- [4] 商宏莉, 郭启高, 宋明, 等. 解决四倍体西瓜工厂化生产中常见问题的途径[J]. 西南农业大学学报 2002 24(6): 526-528.

“钻石玫瑰”高效再生体系研究

杨冬业¹, 张丽珍², 李柏林³

(1. 桂林医学院, 广西 桂林 541001; 2. 桂林师范高等专科学校 广西 桂林 541001; 3. 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 用 MS 作为基本培养基, 以带芽的“钻石玫瑰”茎段为外植体建立高效再生体系。结果表明: MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 适合丛生芽诱导, 诱导率达 83%; MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L 适合继代增殖培养, 不定芽的增殖系数可达 5.83; MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 适合生根诱导, 诱导率为 95%。

关键词: 组织培养; “钻石玫瑰”; 再生

中图分类号: S 685.120.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)09-0154-03

当今市场上玫瑰以大型切花为主, 但有一类小型品种正悄然兴起。因其花枝短小, 花朵如豆扣般大小, 故美其名曰“钻石玫瑰”或“袖珍玫瑰”。“钻石玫瑰”既可以做切花, 又可以做盆花, 给人一种小巧玲珑、天真可爱的感觉。目前市场上的“钻石玫瑰”大多以扦插和嫁接作为繁殖手段, 但繁殖系数低。若以组织培养作为繁殖手段, 则在短期内就可以培育出大量质地优良的种苗, 满足市场需求。现以“钻石玫瑰”为外植体, 旨在构建“钻石玫瑰”的高频再生体系。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

以市场上购进的“钻石玫瑰”矮仙女(红色)品种嫩枝为试材。

1.2 培养条件

诱导丛生芽培养基(单位: mg/L, 下同): ①MS+6-BA

3.0+NAA 0.5; ② MS+6-BA 2.0+NAA 0.5; ③ MS+6-BA 2.0+NAA 0.2; ④ MS+6-BA 2.0+NAA 0.1。继代增殖培养基: ⑤MS+6-BA 2.0+NAA 0.05; ⑥MS+6-BA 1.0+NAA 0.02; ⑦MS+6-BA 1.0+NAA 0.01。生根培养基: ⑧ MS+NAA 1.0; ⑨ MS+NAA 0.5+IBA 0.5。丛生芽诱导培养基和继代增殖培养基为固体培养基, 每升培养基附加 0.7%琼脂、3%蔗糖, pH 6.0。生根培养基为不加琼脂的液体培养基。蔗糖为 3%培养温度(25±1)℃, 每日光照 2 000 lx, 12 h/d。

1.3 试验方法

1.3.1 丛生芽诱导培养 剪取当年生优良健壮带芽枝条洗净, 截成适当长度, 先用 70%酒精表面消毒 30 s, 然后放入 0.1%升汞中消毒 10 min, 再用无菌水冲洗 4~5 次, 用滤纸吸干水分, 切成带 1 个芽的 1 cm 左右茎段, 接入诱导丛生芽的培养基中培养。随时观察生长情况, 第 40 天统计结果。

1.3.2 继代增殖培养 形成丛生芽后, 切下丛生芽部位, 转接入继代增殖培养基中进行增殖培养。第 25 天统计结果。

1.3.3 不定芽的生根培养 待不定芽长至 2~3 cm 高时, 将其从基部切下, 接种到生根培养基上进行生根培

第一作者简介: 杨冬业(1976-), 男, 广西昭平人, 硕士, 讲师, 现主要从事细胞工程研究工作。E-mail: gysxk@126.com。

收稿日期: 2011-02-18

Research of Resist Mini-watermelon Plantlets to be Vitreous

SHI Xiao-yun

(Department of Biology and Chemical, Xingtai University, Xingtai, Hebei 054001)

Abstract: Mini-watermelon plantlets was used as test material, through adjusting the test environment and reagent concentrations to resist vitreous plantlets. The results showed that the seal materials of culture containers were cotton fillers, altered temperature treatment, lower concentration of 6-BA, inputted optical PVA can resist plantlets to be vitreous.

Key words: mini-watermelon; tissue culture; vitreous