

丽佳秋海棠试管苗玻璃化现象的控制研究

杜启兰 (临沂师范学院农林学院, 山东临沂 276003)

摘要 研究了大量元素浓度、琼脂浓度、光照对丽佳秋海棠试管苗玻璃化的影响, 结果表明: 不同培养条件对丽佳秋海棠试管苗玻璃化影响的程度不同, 适当减少大量元素的用量、提高琼脂浓度和光照强度, 可有效地降低玻璃化苗的数量, 且对丽佳秋海棠试管苗增殖、生长、生根有较好的促进效果。

关键词 丽佳秋海棠; 组织培养; 玻璃化现象

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)07-1337-01

丽佳秋海棠 (*Rieger Begonia*) 为多年生草本植物花卉, 冬季开花, 花期长达 3~4 个月, 因其花色品种多样, 色彩艳丽, 观赏价值很高, 深受人们的喜爱。当前利用组培技术快速繁殖丽佳秋海棠种苗已应用于生产^[1]。玻璃化现象是一种常见的生理失调症, 它在植物快速繁殖中可造成极大损失, 是试管苗生产中急待解决的难题之一^[2-6]。大量的文献表明, 导致玻璃化苗发生的因素很多, 而且不同植物的主导影响因素也因种类而异, 因此采取的控制方法也因原因不同而决定^[7]。为此, 笔者以新引进的丽佳秋海棠名贵品种为材料, 就组培主要条件对丽佳秋海棠试管苗玻璃化的影响进行了初步研究。

1 材料与方法

以从荷兰引进的丽佳秋海棠名贵品种的叶片作为外植体, 剪取已平展的幼叶, 流水冲洗, 常规灭菌 8~10 min, 用无菌水冲洗并吸干水分后, 切成边长 0.5~1 cm 左右的小方块, 接种到 MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 糖 30 g/L + 琼脂 7 g/L 的培养基上, 初代培养 35~40 d 后观察并接种到增殖培养基上进行继代培养。

以 MS 作为基础培养基, 以继代繁殖培养的有效苗 (株高大于 2 cm 以上的嫩茎) 为材料, 设置不同浓度的大量元素 (2MS、MS、1/2MS、1/4MS), 琼脂 (0.5%~0.8%), 光照强度 (黑暗、1 000、2 000、3 000、4 000 lx), 培养一段时间, 调查玻璃化苗。

培养条件: 培养基 pH 值 5.6~5.8 左右, 温度 25℃ 左右, 除光照试验外, 光照在 2 000 lx, 光照时间保持在 10 h/d。

2 结果与分析

2.1 丽佳秋海棠试管苗玻璃化的一般表现 实验研究表明: 丽佳秋海棠在组织培养中, 试管苗的玻璃化现象较严重, 主要表现为茎、叶半透明状, 叶片较脆易断, 颜色深浅不一, 有的淡绿色, 有的暗绿色, 均呈水浸状, 苗叶缩短肥厚, 植株莲花状, 茎叶表面完全无蜡质, 植物生长快, 纤细瘦长, 细胞持水力差, 蒸腾作用强, 形成的玻璃花苗均不宜进行继代繁殖和诱导生根, 且无法进行正常移栽。

2.2 大量元素浓度对丽佳秋海棠试管苗玻璃化的影响 试验以 MS 为培养基配方中的大量元素为基础, 设计 2MS、MS、1/2MS、1/4MS 4 个处理, 4 次重复, 附加 BA 0.3 mg/L, 培养 25 d。

结果表明 (表 1): 经 F 检验, 大量元素不同浓度处理差异极显著 ($F = 7.58^{**}$, $F_{0.01} = 5.95$), 为了选择最好的处理, 用 LSD 法进行多重比较得知, MS、1/2MS、1/4MS 3 个处理间差异不显著, 但与 2MS 差异极显著。说明增加大量元素浓度, 能增加丽佳秋海棠玻璃化苗的数量, 适当减少大量元素的用量, 可有效地降低玻璃化苗的数量。综上所述, 当大量元素浓度为 MS 时, 丽佳秋海棠玻璃化苗率最低, 有利于促进其快速繁殖。

表 1 不同培养条件对丽佳秋海棠试管苗玻璃化的影响

大量元素浓度	玻璃化苗率 %	琼脂浓度 g/L	玻璃化苗率 %	光照强度 lx	玻璃化苗率 %
2MS	41.60 A	5	38.5 A	黑暗	52.98
MS	13.39 C	6	34.2 A	1 000	31.96
1/2MS	14.87 BC	7	14.5 BC	2 000	5.68
1/4MS	17.21 B	8	15.3 B	3 000	8.22
				4 000	6.13

2.3 琼脂浓度对丽佳秋海棠试管苗玻璃化的影响 琼脂是液体培养基的凝固剂, 一般用量只要它能够稳定地凝固液体培养基就不要多加, 但在避免“玻璃化现象”时, 常增加琼脂用量^[8]。该试验以 MS 作为基本培养基, 设计了琼脂浓度为 5、6、7、8 g/L 4 个处理, 4 次重复, 附加 BA 0.3 mg/L + NAA 0.01 mg/L + 糖 30 g/L, 培养 26 d。

结果表明 (表 1): 琼脂浓度与丽佳秋海棠玻璃化苗有直接关系, 经 F 检验, 不同琼脂浓度处理之间差异极显著 ($F = 7.66^{**}$, $F_{0.01} = 5.95$)。琼脂浓度过高、过低都易形成玻璃化苗, 总的变化趋势是玻璃化苗与琼脂浓度呈负相关。用 LSD 法多重比较得知, 琼脂浓度为 5、6 g/L 的玻璃化苗率高, 分别达到了 38.5% 和 34.2%, 而 7 g/L 和 8 g/L 处理间差异不显著, 玻璃化苗率低。当琼脂浓度增至 7 g/L 时, 玻璃化苗率比 5 g/L、6 g/L 分别降低了 62.3% 和 57.6%。所以, 在进行丽佳秋海棠组培快繁时, 以琼脂浓度 7 g/L 为最好, 此时, 培养物的玻璃化程度最低, 最有利于其组培快繁。在琼脂浓度较高的情况下, 由于瓶内空气湿度降低, 从而可减轻试管苗的玻璃化现象, 但应注意, 同时也降低了丽佳秋海棠的繁殖系数。琼脂浓度过低时, 则培养基水分过多, 致使玻璃化现象严重。说明培养基体系的水分状况影响丽佳秋海棠组培苗玻璃化的发生, 因而在培养基中适当增加琼脂用量, 可减少玻璃化苗的数量。

作者简介 杜启兰 (1964—), 女, 山东临沂人, 硕士, 副教授, 从事土壤肥料、植物组织培养及生态学等方面的教学与研究工作。

收稿日期 2006-02-05

(下转第 1339 页)

诱导率。同时,实验结果还发现,高浓度的 6-BA 容易诱导愈伤组织,子叶愈伤组织的比率高于顶芽,但愈伤组织多呈水浸状

或海绵状(玻璃化),难以分化成苗,常褐化而死。

表 2 不同激素及外植体来源对不定芽诱导的影响

培养基 mg/L	接种数		产生愈伤组织数		愈伤组织诱导率//%		出芽数		芽诱导率//%	
	子叶	顶芽	子叶	顶芽	子叶	顶芽	子叶	顶芽	子叶	顶芽
②MS + KT 0.5	36	24	33	14	91.6	62.5	4	9	11.1	37.5
③MS + KT 2.0	36	25	30	16	83.3	64.0	6	9	16.7	35.0
④MS + 6-BA 2.0	36	23	24	13	66.7	56.5	13	10	36.1	43.5
⑤MS + 6-BA 0.5	36	25	22	11	61.1	44.0	14	14	38.9	56.0
⑥2/3MS + 6-BA 0.5	36	24	17	3	47.2	12.5	19	24	52.8	100.0

2.3 生根与移栽 无菌苗在不含激素的培养基①中培养 25 d 后,生根率高达 100%,每株生根 5~10 条,移栽成活率可高达 100%;培养基⑦和培养基①相比,添加激素 NAA 0.1 mg/L 并不有利于再生苗生根,其生根率仅为 80.0%,且每株出根较少,为 3~6 条,移栽成活率为 84.0%。这些现象说明,金童观赏南瓜离体再生苗在 1/2MS 的培养基中可全部生根,其生根率和单株生根数量均高于 1/2MS + NAA 0.1 mg/L 培养基,无激素的 1/2MS 更有利于金童观赏南瓜根诱导,根体粗壮,再生苗移栽成活率高。

3 结论与讨论

(1)许多研究表明,建立高效快捷的瓜类离体再生体系是工厂化育苗的基础。在离体再生苗的培养过程中,无菌外植体的获得是建立离体再生体系的关键,它对外植体分化、离体增殖与扩繁等有直接影响。试验结果表明,去种皮的金童观赏南瓜种子在 70%酒精表面消毒 30 s,再用 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 10 min,可获得最佳消毒效果,但在无菌水中浸泡 6 h 后种子发芽率最高。这一现象是种胚浸泡吸水膨胀后,种胚贮藏的营养物质能快速由凝胶状态转为溶胶状态,有利于胚的生长和萌芽。

(2)金童观赏南瓜外植体的分化效果与外植体类型及培养基成分有关,芽茎段外植体比子叶外植体分化率高,再生效果好。这是因为植物器官分化成熟程度愈高,其经历脱分

化、再分化并形成再生体的时间和过程愈长,细胞再生能力相对减弱。植物茎尖细胞处于活跃分生状态,容易脱分化和再分化,再生成新的小植株,所以,芽茎段的再生能力比子叶要强。这一结果与黄瓜组织培养的相关结论相符^[1]。

(3)许多研究结果表明,植物激素与南瓜芽的分化密切相关^[2]。试验发现 6-BA 在诱导金童观赏南瓜离体再生的效果比 KT 要好,但其原因尚需进一步探讨。另外,对 6-BA 而言,低浓度要比高浓度诱导效果好,这或许与 6-BA 的生理活性较强有关^[3]。培养基中盐度大小对芽增殖培养的影响不同,当浓度为 2/3MS 时,能使子叶和顶芽分化率明显提高,这与艾西丝南瓜、无蔓 1 号南瓜、金王子甜瓜、厚皮甜瓜等得到结果相同^[2-6]。

参考文献

- [1] 王首峰,梁海曼.升汞和次氯酸钠对黄瓜萌发及幼苗生长的影响[J].植物生理学通讯,1996,32(2):117-120.
- [2] 庞基良,林波,梁海曼.几种生长调节剂对离体培养黄瓜子叶直接开花的作用[J].植物生理学通讯,1994,30(3):185-188.
- [3] 盛玉萍,王爱勤,何龙飞,等.利用组织培养繁殖无蔓一号南瓜[J].广西农业生物科学,2002,21:185-187.
- [4] 赵建萍,毕可华,柏新付,等.艾西丝南瓜的离体繁殖[J].植物生理学通讯,1995,31(4):285.
- [5] 赵建萍,柏新付,蒋小满,等.培养因子对艾西丝南瓜增殖及不定根形成的影响[J].植物生理学通讯,2000,17(1):84-86.
- [6] 周素平,王广东,王湘军,等.“春丰 1 号”厚皮甜瓜的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,1999,35(4):301.

(上接第 1337 页)

2.4 光照对丽佳秋海棠试管苗玻璃化的影响 试验以 MS + BA 0.3 mg/L + NAA 0.01 mg/L + 糖 30 g/L + 琼脂 7 g/L 作为基本培养基,设计光照强度:黑暗、1 000、2 000、3 000、4 000 lx 5 个处理,3 次重复,培养 20 d。

经回归分析表明(表 1):丽佳秋海棠试管苗玻璃化苗率与一定范围内的光照强度呈现极显著的负相关性($y = 54.67 - 0.024 7x, r = 0.91^{**}$),即光照强度越高,玻璃化苗越少,一般光照强度控制在 2 000 lx 较好。完全黑暗条件下,玻璃化苗最多,而且颜色黄白、细长瘦弱,这是由于黑暗条件,光合作用停止,影响了体内代谢所致。

3 小结与讨论

(1)控制大量元素的用量,可有效地降低玻璃化苗的数量,这可能与培养基中 NH₄⁺ 浓度过高有关。当大量元素浓度为 MS 时,丽佳秋海棠玻璃化苗率最低,有利于促进其快速繁殖。

(2)琼脂浓度直接影响丽佳秋海棠玻璃化苗程度,以琼

脂浓度 7 g/L 为最好,此时,培养物的玻璃化程度最低。

(3)适当增加光照,能有效地降低玻璃化苗,以光照强度为 2 000 lx 较适宜;光照太弱、过强都影响培养基体系的水分状况,从而导致玻璃化苗的增多。

参考文献

- [1] 杜启兰.植物激素对丽佳秋海棠组培快繁的影响[J].安徽农业科学,2005,33(11):2 036-2 066.
- [2] 王爱勤,何龙飞,裴润梅,等.组培条件对不同品种芦荟试管苗玻璃化的影响[J].中国农学通报,2002,18(5):46-52.
- [3] 卜学贤,陈继任.试管苗玻璃化现象[J].植物生理学通讯,1987(5):13-18.
- [4] 郭达初,刘非庆,刘克斌.控制重瓣丝石竹试管苗玻璃化的研究[J].杭州植物园通讯,1991(2):513-518.
- [5] 王家旺.几种因素对油菜茎尖培养中玻璃化作用的影响[J].植物生理学通讯,1992,27(4):288.
- [6] 肖玉兰,仇明华,周永和.克服香石竹试管苗玻璃化现象的研究[J].云南农业大学学报,1997,12(3):188-193.
- [7] 吴若菁,尤华明,彭东辉.香石竹组培苗玻璃化控制的研究[J].福建农林学院报,1995,15(4):360-363.
- [8] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,2001.