适生长 pH 为 7.0。

2.1.3 氧气浓度

取菌株母液 10ml, 无菌操作接种于有机氯农药质量浓度为 1mg/L, pH 为 7.0 的 200mL 无机培养液中, 温度为 30° C条件下, 通过摇床不同转速来间接表示氧气浓度^[3], 摇床转速分别为 $100 \times 150 \times 200\text{r/min}$ 振荡培养 30h, 在培养 $6\text{h} \times 12\text{h} \times 24\text{h} \times 30\text{h}$ 后分别取样测定 $0D_{50}$ 值。菌株的生长数据见表 3。

表 3 不同摇床转速下菌株的 OD₅₇₀值

Tab.3 The OD₅₇₀ of strain in different rotation of rocking incubator

转速(r/min)	0h	6h	12h	18h	24h	30h
100	0.076	0.547	0.913	1.389	1.683	1.306
150	0.076	0.657	1.168	1.569	1.854	1.487
200	0.076	0.435	0.826	1.218	1.456	1.024

由表 3 可知,菌株在 150r/min 条件下,比在 100r/min、200r/min 条件下生长更好。

2.2 菌种的鉴定

2.2.1 形态和培养特征

该菌株革兰氏染色为阴性、杆状、无鞭毛、无运动;在琼脂平板上观察到,菌落圆形,边缘整齐,中间凸起,浅黄色,不透明。

2.2.2 生理生化特征

氧化酶反应阳性,TSI 反应为 K/K。

2.2.3 Biolog 自动微生物分析系统分析数据

表 4 数据为 GN2 微孔鉴定板所测数据,"+"表示反应阳性,"-"表示反应阴性,"b"表示边界值。

表 4 GN2 微孔鉴定板所测数据

Tab.4 The date measured by GN2 micro plate

	-											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-	-	-	-	b	b	-	b		+	+	-
В	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
Ċ	-	-	-	-	-	-	+	+		_	+	_
D	b	+	+	-	b	-	+	-	-	-	+	-
E	-	_	-	+	_	+	+	+	+	+	-	+
F	+	-	-	ь	+	+	+	+	+	+	-	-
G	, +	+	+	b	-	+	+	-	+		+	+
Н	+	+	b	_	_	+	b	_	+	_	-	-

根据以上所测数据与数据库数据匹配程度,得出结论:该 菌为荧光假单胞菌同型小种 F(Pseudomonas fluorescens biotype F)。

2.3 急性毒性试验(LD₅₀)

以《食品安全性毒理学评价程序和方法》为检验依据,进行小鼠急性经口毒性试验,观察期间各组小鼠均无异常现象,亦均为发生死亡。(见表 5)试验表明本样品的小鼠 $LD_{50} > 15.00g/kg,属无毒物质。$

表 5 小鼠急性毒性试验结果

Tab.5 The result of acute toxicity test by mouse

动物	剂量	动物数		体重(g)		死亡动物	死亡率
性别	(g/kg)	(只)	首次	第1周	第2周	数(只)	(%)
\$	15.00	10	20.6±0.6	26.6±1.0	33.2 ± 1.3	0	0
우	15.00	10	20.1 ± 0.8	24.6 ± 0.4	30.0 ± 0.8	0	0

2.4 菌剂在西洋参中的降解效果

表 6 菌株在西洋参中的降解效果

Tab.6 Results of the strain to degrade the pesticide

in the American ginsen(μg/kg)

	α – BHC	β – BHC	γ – BHC	δ – BHC	总量	降解率(%)
对照1	1.785	5.369	1.745	4.775	15.459	
处理1	0.547	4.660	1.480	2.795	9.482	38.66
对照2	1.331	3.459	1.229	3.508	9.527	
处理2	0.822	2.210	0.803	1.904	5.729	39.87
对照3	1.932	4.596	0.457	3.868	10.853	
处理3	1.053	3.047	0.100	2.573	6.773	37.59
	op – DDT	pp – DDT	pp – DDE	pp - DDD	总量	降解率(%)
对照1	16.051	25.453	9.382	8.552	59.438	
处理1	9.484	18.946	6.443	6.862	41.735	29.08
对照2	13.257	23.367	15.898	8.416	60.938	
处理2	9.693	16.074	12.761	7,062	45.59	25.19
对照3	12.893	24.258	16.023	9.196	62.37	
处理3	8.460	16.964	11.228	7.851	44.485	28.68

由表 6 可以看出,该菌剂对 BHC 和 DDT 的同分异构体均有一定程度的降解,对 BHC 总量的降解率达 37.59~39.87%,对 DDT 总量的降解率达 25.19~29.08%。

3 讨论

对于用生物法降解有机氯农药,国内外均有少量报道,但在西洋参中的应用未见报道。我们以西洋参为应用试验对象是因为有机氯农药为脂溶性,西洋参又含有相当数量的挥发油,且为多年生根类,易受有机氯农药污染。从西洋参种植基地的土壤中分离得到的菌株,通过 Biolog 自动微生物分析系统鉴定为荧光假单胞菌同型小种 F(Pseudomonas fluorescens biotype F),且该菌经急性毒性试验测定属无毒物质。该菌株的最适生长温度为 30℃,最适生长 pH 为 7.0,适宜摇床转速为150r/min。而田间的试验结果也表明:以每亩 40kg 施菌量,一年生长期西洋参有机氯农残去处率达 25%~49%,该菌用于降解有机氯农药残留是可行的。

参考文献:

- [1]即印海, 蒋新, 赵振华, 等. 土壤中 13 种有机氯农药超声波提取方法研究[J]. 环境科学学报, 2004, 24(2); 291-296.
- [2]李庆,邹巧根,毛细管气相色谱法分析西洋参中有机氯农药残留量[J].中草药,2001,32(5);415-416.
- [3]温洪宇,吕爱军,肖伟,等.降解苯酚细菌的分离及其生理特性研究 [J].徐州师范大学学报:自然科学版,2003,21(4):50-52.

罗布麻离体培养及快繁技术的研究

陈彦云1,曹君迈2,李国旗1,孟军1

(1. 宁夏大学生命科学学院,宁夏 银川 750021;2. 西北第二民族学院生命科学系,宁夏 银川 750021)

摘要:采用野生罗布麻(Apocynum venetam L.)顶芽及芽下茎段为外植体进行离体培养及快繁技术优化的研究。结果表明:适宜罗布麻离体培养的基本培养基为 MS,适宜外植体起始分化的培养基为: MS+BA 1.8mg/L+KT 0.5mg/L,分化率为 88.9%以上;适宜茎段增殖的培养基为 MS+BA 2.0mg/L+KT 0.5mg/L,繁殖系数最高达 5.67 倍,通过切段繁殖还可提高繁殖系数 3 倍;适宜生根的培养基为 MS+IBA 0.5mg/L+NAA 0.02mg/L,生根率达 90%以上。

关键词:罗布麻:离体培养:快繁技术

中图分类号: Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-311X(2006)01-0072-04

Research on Culture *in vitro* and Rapid Multiplication Techniques of *Apocynum venetam*

CHEN Yan – yun¹, CAO Jun – mai², LI Guo – qi¹, MENG Jun¹

维普资讯 http://www.cqvip.com

Ningxia University Life Sciences School, Yinchuan 750021;
Department of Life Science, the Second Northwest Institute for Ethnic Minorities, Yinchuan 750021,
R. China)

Abstract: The techniques of tissue culture and rapid propagation were researched with terminal buds and stem segments below bud of wild dogbanes (Apocynum venetum L.) as explants. The results showed that the basic medium suitable for culturing dogbanes (Apocynum venetum L.) in vitro was MS. The medium suitable for starting the differentiation of explants was MS + BA 1.8mg/L + KT 0.5mg/L with the differentiation rate of over 88.9%. The medium suitable for multiplication of stems was MS + BA 2.0mg/L + KT 0.5mg/L with the highest multiplication factor of 5.67 times, which could also increase 3 times by cutting stem. The medium suitable for rooting was MS + IBA 0.5mg/L + NAA 0.02mg/L with a rooting rate of over 90%.

Key words: dogbane (Apocynum venetam); culture in vitro; rapid propagation techniques

罗布麻又称野麻、茶叶花、吉吉麻,是多年生直立宿根草本植物,成活期可达30年以上,罗布麻属也叫茶叶花属,是夹竹桃科的模式属。罗布麻不仅是适应性极强的盐生植物,也是一种具有多种经济用途的资源型植物,近年来罗布麻的开发利用价值受到人们的日益重视。

目前,对罗布麻组织培养方面的研究还处于初步阶段,有 关文献报道较少^[1-3]。对于利用野生罗布顶芽进行罗布麻离 体培养的培养基筛选和快繁技术的研究尚未见报道。罗布麻 利用种子种植时,出苗后死亡率较高且生长缓慢,为了克服上 述不足,我们开展了此项研究工作,一方面对从国外引进的种 质资源进行保存研究,另一方面为种苗快繁奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料

将从新疆库尔勒地区采集的野生罗布麻(Apocynum venetum L.)种子于2004年8月种植于温室花盆,待幼苗长到3-4对真叶约5cm高时,取其上半部分作为试验材料。

1.1.2 试剂

试验试剂均为分析纯,植物激素均购下 Sigma 公司。 1.1.3 培养基

起始分化诱导培养基为: $MS \setminus B_s \setminus KC$ 三种类型, 每种类型 设 9 种处理, 共 27 种诱导培养基(见表 1), 不同激素组合单位 均为 $mg \cdot L^{-1}$ 。

表 1 罗布麻起始分化诱导培养基

Tab. 1 The inducing medium for starting the differentiation of dogbanes ($Apocynum\ venetam\ L$.)

激素处理组合 (mg·L ⁻¹)	培养基 类型	代号	培养基 类型	代号	培养基 类型	代号
BA 0.6 + KT 0.5	MS	MS1	B ₅	B ₅ 1	ĶС	KC1
BA 0.6 + NAA 0.5		MS2		B_52		KC2
BA 0.6 + 2,4D 0.5		MS3		B_53		KC3
BA 1.2 + KT 0.5		MS4		B ₅ 4		KC4
BA 1.2 + NAA 0.5		MS5		B_55		KC5
BA 1.2 + 2,4D 0.5		MS6		B ₅ 6		KC6
BA 1.8 + KT 0.5		MS7		B ₅ 7		KC7
BA 1.8 + NAA 0.5		MS8		B_58		KC8
BA 1.8 + 2,4D 0.5		MS9		B ₅ 9		KC9

增殖培养基:① MS+BA 1.2+KT 0.5;② MS+BA 1.8+ KT 0.5;③ MS+BA 2.0+KT 0.5;④MS+BA 2.5+KT 0.5。

生根培养基:①1/2MS + IBA 1 + NAA 0.02;② 1/2MS + IBA 2 + NAA 0.02;③ 1/2MS + IBA 3 + NAA 0.02;④ 1/2MS + IBA 0.5 + NAA 0.05。

1.2 方法

1.2.1 材料的消毒与接种

收稿日期:2005-07-15;修回日期:2005-11-17

基金项目:国家林业局"948"项目("罗布麻属耐盐植物新种及其培育技术引进,No. 2004-4-10)

作者简介: 陈彦云(1964 -), 男, 学士, 研究员, 从事植物生物技术及资源植物开发利用研究, 主持多项国家、省部级项目, 发表论文 30 篇, 获省级二等奖 2 项、三等奖 1 项, Tel: 0951 - 2094164, E - mail: nxchenyy@163.com。

11月24日将取回的试验材料用洗洁精漂洗后用自来水冲洗 0.5h,送入超净台。用70%的酒精消毒 15s,立即用无菌水冲洗 3次。然后用 0.1%升汞消毒 5min,再用无菌水冲洗 5遍,放在消毒过的滤纸上吸干水分,分别切成 1cm 长的带顶芽的和芽下带一对真叶的茎段为外植体,接种在各种起始诱导培养基上。每处理接 9 瓶,每瓶接 3 个外植体。

1.2.2 培养条件

培养温度为 20-28 °C, 光照 1~000-2~000 lx, pH 6.0, 琼脂 6.5 g/L。分化、增殖培养基各加蔗糖 30 g/L,生根培养基加蔗糖 20 g/L。

1.2.3 结果统计

愈伤诱导率(%)=愈伤块数/接种个数×100% 分化率(%)=出芽块数/接种个数×100% 增殖系数=出芽总个数/接种个数

2 结果与分析

2.1 罗布麻离体培养的基本培养基筛选

将不同外植体接种在表 1 的各种培养基上,培养 40d 后,其结果统计于表 2。由表 2 得出,在不同类型的培养基上愈伤组织的诱导和不定芽的诱导效果顺序为: MS > B, > KC(见图 1),以顶芽为外植体的高于芽下茎段;在相同的基本培养基中,对不同激素浓度配比处理条件下,以顶芽和芽下茎段为外植体诱导愈伤组织,其诱导效果顺序均为: BA + NAA > BA + KT > BA + 2,4 - D,与郝玉蓉等利用 MS 培养基的研究结果基本一致^[3];不定芽的诱导效果顺序为: BA + KT > BA + NAA > BA + 2,4 - D,其中,以 BA 1.8 + KT 0.5 组合为宜,分化率达88.9%以上,顶芽诱导效果比芽下茎段好。

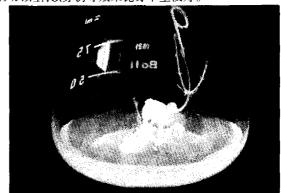


图 1-1 MS 培养基的愈伤组织及不定芽的诱导

Fig. 1-1 The induction of MS medium to calli and adventitious buds



图 1-2 B₅ 培养基的愈伤组织及不定芽的诱导

Fig. 1-2 The induction of B_5 medium to calli and adventitious buds

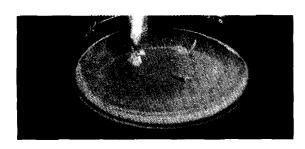


图 1-3 KC 培养基的愈伤组织及不定芽的诱导

Fig. 1-3 The induction of KC medium to calli and adventitious buds

图 1 KC 培养基的愈伤组织及不定芽的诱导

Fig. 1 The inductions of different mediums to calli and adventitious buds

以上结果表明, MS 培养基是罗布麻离体培养的最适宜的培养基, 细胞分裂素特别是在添加 KT 的基础上, 更有利于罗布麻胚性愈伤组织的形成和不定芽的分化。生长素 NAA 影响了不定芽分化的数量, 但有利于愈伤组织的形成, 2,4-D 对罗布麻愈伤组织的诱导效果不如 NAA, 与大多数植物愈伤组织诱导效果有所不同。适宜外植体起始分化的培养基为: MS+BA 1.8mg/L+KT 0.5mg/L, 分化率为 88.9%以上。

表 2 不同培养基类型对不同外植体愈伤组织 及不定芽诱导率的影响

Tab.2 The effects of different kinds of mediums to the inducing rates of the calli and adventitious buds of different explants

培		Ī	页芽	芽	下茎段
养 基	激素组合	愈伤诱导 率(%)	不定芽诱导 率(%)	愈伤诱导 率(%)	不定芽诱导 率(%)
	BA, KT	88.9	88.9	555	55.5
ме	BA, NAA	92.6	77.8	7 7.8	33.3
MS	BA,2,4 - D	66.7	7.4	44.4	0
	平均	82.7	58.0	59.2	29.6
	BA , KT	44.4	44.4	11.1	11.1
B ₅	BA ,NAA	50	11.1	22.2	11.1
D5	BA .2,4 - D	33.3	3.7	0	0
	平均	42.6	19.7	11.1	7.4
	BA、KT	7.4	7.4	0	0
KC	BA, NAA	11.1	3.7	0	0
N.C.	$BA \cdot 2 \cdot 4 - D$	3.7	0	0	0
	平均	7.4	3.7	0	0

2.2 不同激素浓度对罗布麻增殖的影响

2.2.1 不同接种密度对不定芽增殖和生长的影响

将分化的罗布麻切成 1cm 长的带芽茎段,接种在下列不同激素组合的增殖培养基上,经 25d 培养,结果统计见表 3。

由表 3 看出,无论在相同的处理中,还是在不同处理中接种株数低于 3 棵时,增殖系数在 3 倍以下,而接种株数在 5~6 棵时,增殖系数为 3.4~5.67 倍,接种株数增加到 7 棵时,增殖系数开始降低。在相同的处理中株高与接种密度无规律性变化;在不同的处理中,3 处理平均株高最高,达 3.3cm,其次为 4 处理为 3.11cm,最差为 1 处理为 1.94cm。结果表明,罗布麻在不同接种密度下,增殖系数不同。一般适宜的接种密度为 5~6 棵,繁殖系数为 3.4~5.67 倍。在最佳激素组合中,接种密度为 5 时,繁殖系数高达 5.67 倍,株高达 3.73cm。

2.2.2 不同激素组合对株高、增殖系数的影响

从图 2 看出,在四种不同激素浓度配比中,随着 BA 浓度的增加,增殖系数、株高呈上升趋势,但 BA 浓度超过 2mg/L 时增殖系数、株高都开始出现回落。结果表明适宜罗布麻增殖的最佳激素组合为 BA 2 + KT 0.5; 其次为 BA 1.8 + KT 0.5; 其余两种略差。在最佳激素组合中,平均株高和繁殖系数最高。

表 3 不同接种密度对不定芽增殖和生长的影响

Tab. 3 The effect of different transferring densities to the multiplication and growth of adventitious buds

7 - 7 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1 -	妾种密度	接种株	増殖株	增殖系	平均株
代号 不同激素组合	(棵/瓶)	数(棵)	数(棵)	数(倍)	高(cm)
M4 BA 1.2,KT 0.5	1	10	20	2	0.75
	2	20	50	2.5	2.35
	3	30	87	2.9	2
	4	40	120	3	2.41
	5	50	190	3.8	2.6
	6	60	240	4	2.63
	7	70	231	3.3	2.11
平均				3.07	2.12
M3 BA 1.8, KT 0.5	1	10	22	2.2	2
	2	20	50	2.5	2.5
	3	30	90	3	1.48
	4	40	132	3.3	2.53
	5	50	210	4.2	2.74
	6	60	240	4	2.71
	7	70	252	3.6	2.27
平均				3.26	2.32
M2 BA 2.0, KT 0.5	1	10	23	2.3	2.3
	2	20	50	2.5	3.7
	3	30	90	3	3
	4	40	178	4.45	3.4
	5	50	284	5.67	3.73
	6	60	270	4.5	3.29
	7	70	254	3.63	3.68
平均				3.72	3.3
M1 BA 2.5, KT 0.5	1	10	20	2	2.25
	2	20	33	1.67	3.9
	3	30	95	3.17	2.86
	4	40	140	3.5	3.51
	5	50	170	3.4	,2.57
	6	60	220	3.67	3.58
	7	70	233	3.33	3.09
平均				2.96	3.11

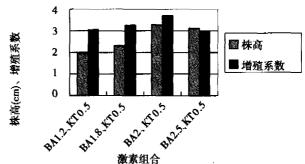


图 2 不同激素组合对株高、增殖系数的影响

Fig. 2 The effect of different hormone combinations to plant height and multiplication factor

2.2.3 利用切段繁殖可再次提高增殖系数

在增殖培养基中培养的增殖苗再经1周培养,主茎苗株高长到10-15cm,增殖苗株高长到5-6cm时,这样通过切段繁,还可提高繁殖系数3倍。即每瓶中接种5段,培养30d后,每段丛生芽的繁殖系数按3.4计算,切段繁殖系数按3计算时,则最终的繁殖系数可达10.2倍。

2.3 生根培养基的筛选

将株高 4cm 以上的幼苗切下接种在生根培养基上。经过

20d左右的培养,可形成完整植株。不同处理其生根情况见下表。

表 4 不同激素组合对生根的影响

Tab.4 The effect of different hormone combinations to rooting

代号	接种数 (棵)	根形成的时间(d)	根条数 (棵)	生根数 (棵)	生根率 (%)
1	50	19	2 - 5	20	40
2	50	15	3 – 6	35	70
3	50	18	1	5	10
4	100	19	3 – 5	91	91

由表 4 得出,在 4 号培养基上生根率达 91%且根条数多; 2 号培养基次之;3 号培养基生根率最差为 10%。因此,4 号培养基是一种较为理想的生根培养基。

3 讨论

(1)外植体的选择:选取苗高 5cm 左右的健壮、无病的幼苗,切取 2cm 长带芽的顶部,进行组培是较为理想的外植体,与魏凌基^[1]、马森^[2]、郝玉蓉^[3] 所取的外植体均不同。因为顶端分生组织是细胞生长、分裂与分化活动最旺盛的区域,所以在进行离体培养时,更容易获得成功。

(2)根据不同培养基对罗布麻培养效果来看, MS 培养基适宜罗布麻的生长和发育。因为 MS 属高盐培养基, 罗布麻又是耐盐植物, 这与它本身生理特点相吻合。因此, MS 培养基是罗布麻离体培养的最适培养基。

(3)Skoog 和 Miller(1957)提出的植物器官的分化是两类激

素(生长素和细胞分裂素)的互作控制的,器官分化的性质是由这两种激素的相对浓度决定的,当细胞分裂素对生长素的比率较高时,可促进茎芽的形成;当生长素对细胞分裂素的比率较高时,有利于根的分化^[4]。本试验研究发现,在没有生长素,只有细胞分裂素的培养基上罗布麻仍可形成愈伤组织,说明 NAA 对罗麻愈伤组织的形成不是必要的;在细胞分裂素与生长素 NAA 配比的情况下,形成的愈伤组织生长良好,但进一步分化出丛生芽的数量较少;在细胞分裂素和激动素配比的培养基上,有利于罗布麻胚性细胞团的形成和不定芽的分化。这与 Skoog 和 Miller 提出的器官分化理论不相一致,其原因可能是由于内源激素不同所致。因此,我们认为器官分化除受到上述两类外源激素影响外,还可能受到培养对象内内源激素的影响。

(4)罗布麻在组培繁殖过程中表现出即能切段繁殖,同时 又能通过丛生芽进行繁殖的特点,这样对提高繁殖系数,进行 工厂化生产是极为有利的,是一个适宜组培快繁的优良物种。 参考文献:

[1]魏凌基,王咏星,徐海霞,等.罗布麻茎段的组织培养[J].植物生理学通讯,2000,36(5):434.

[2]马森,魏凌基,陆嘉惠,等.资源植物罗布麻的茎段组织培养与植株再生[J].中草药,2001,32(9):841.

[3]郝玉蓉,李明世.罗布麻子叶和下胚轴再生植株的培养[J].西北植物学报,2002,22(7):82-84.

[4]李浚明.植物组织培养教程[M].2版.北京:中国农业大学出版社, 2002:51.

油菜试管苗玻璃化发生机理的研究初探

王艳1.2,曾幼玲1,贺宾2,李金耀1,高燕2,张富春1*

(1.新疆生物资源基因工程重点实验室,新疆大学生命科学与技术学院,新疆乌鲁木齐830046;

2.新疆农业科学院经济作物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:研究了影响甘蓝型油菜离体下胚轴再生过程中试管苗玻璃化产生的几个因子,试验发现:调整激素 6-BA与 NAA的 浓度、增加蔗糖的浓度提高渗透势对玻璃化无影响;降低培养基中 NH、浓度不仅没有有效地防止玻璃苗的发生反而降低了芽的诱导率;采用牛皮纸代替聚乙烯塑料膜作为封口材料的措施受到了地区的限制,没有得到有效的统计数据;选择 1%的琼脂浓度可使玻璃化率显著降低 55%,但诱芽率在一定程度上降低了 6.9%。

关键词:油菜下胚轴;玻璃化;影响因素;诱芽

中图分类号: Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-311X(2006)01-0075-03

Study on the Vitrification Mechanism of Rape Hypocotyl in vitro

WANG Yan^{1,2}, ZENG You – ling¹, HE Bin², LI Jin – yao¹, GAO Yan², ZHANG Fu – chun¹*

(1. Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering of Xinjiang, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China; 2. Institute of Industrial Crops, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830000, China)

Abstract: Some factors affecting vitrification of rape in vitro were studied. The results showed there were no effects by adjusting concentration of 6 - BA and NAA and improving sucrose concentration to increase osmosis. The reduction in NH₄ NO₃ dose couldn't solve the vitrification effectively and lowered the rate of inducing shoots. Since the method that polyethylene film as the sealed material of conical flask was substituted for kraft paper was restricted by region climate, valid date couldn't be attained. 1% concentration agar could reduce vitrification by 55%, however, at the same time reducing the inducing shoot by 6.9%.

Key words: hypocotyl; vitrification; effective factors; inducing shoots

玻璃化现象(vitrification)是植物组织培养过程中经常遇到的一种现象。普遍的症状是试管苗矮小肿胀、半透明玻璃状,叶片呈浅绿色或黄绿色,叶片增厚且易脆,叶表面缺少角质层或蜡质发育不全^[1]。虽然试管苗玻璃化后偶尔可在延长培养期间回复正常^[2],也可通过诱导形成愈伤组织后重新分化成正常苗^[3],但由于玻璃化植株组织畸形,呼吸与光合作用功能不全,且分化能力降低,难以继代扩繁,更难以诱根并移栽成活^[4]。

收稿日期:2005-06-20;修回日期:2005-10-25

基金项目:国家"863"项目(No. 2004AA227110 - 2);国家科技攻关项目(No. 2001BA901A32)资助

作者简介:王艳(1978 -),女,硕士研究生,从事植物生物技术研究;* 通讯作者:张富睿(1962 -),男,博士,教授,博士生导师, Tel:0991 -8583259,E-mail:zfcxju@xju.edu.cn。 玻璃化问题在各种类型的植物组培中都有可能出现,玻璃苗的百分率可达 100%^[5]。玻璃化现象除了在卜学贤等列出的 29 种植物组培中发现外,目前国内报道的还有油菜、甘蓝^[6]、西瓜^[7]、珠美海棠^[8]、月季、芥菜^[9]、芦荟^[10]等。

我们在建立甘蓝型油菜离体下胚轴再生体系的过程中,发现试管苗玻璃化现象十分严重,不仅大大降低了组培时正常植株的获得,而且阻碍了后期遗传转化工作的顺利开展。尽管国内的研究者在玻璃化植株的解剖学特点、生理生化变化、形成原因及控制方法上取得了可喜的进展,但是对于玻璃化发生规律和机理至今尚无定论。因此目前尚未找到一个普遍适用的预防性措施和行之有效的解决方法。

不同植物玻璃化诱发因素很不相同,只有从不同的侧面和因素进行阐述。为建立油菜高效的离体再生和转化体系, 笔者以甘蓝型油菜离体下胚轴为外植体,对其再生过程中发