

聚乙烯醇在枣和酸枣组织培养中的作用

王娜,刘孟军*,秦子禹

(河北农业大学中国枣研究中心,河北保定 071001)

摘要:以冬枣、酸枣组培苗为试材,研究了聚乙烯醇不同浓度在冬枣和酸枣组培苗继代增殖中对其玻璃化的影响、在生根培养中对生根效果的影响及在叶片培养中对愈伤组织诱导的影响。结果表明,2.0 g/L 的聚乙烯醇能够有效降低冬枣和酸枣组培苗在继代增殖中的玻璃化现象,并能提高组培苗在生根培养中的生根条数和根长度;1.0、1.5 g/L 的聚乙烯醇可使酸枣和冬枣组培苗叶片愈伤组织发生时期提前,并可提高愈伤组织发生率和发生量、改善愈伤组织的质量。因此,聚乙烯醇在冬枣和酸枣的继代增殖、生根培养及叶片愈伤组织诱导中均有良好的促进作用。

关键词:冬枣;酸枣;聚乙烯醇;组培苗玻璃化;生根培养;叶片培养

中图分类号:S665.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1009-9980(2006)02-301-03

Effects of PVA on tissue culture of Dongzao jujube (*Ziziphus jujuba*) and *Z. acidojujuba*

WANG Na, LIU Meng-jun*, QIN Zi-yu

(Research Center of Chinese Jujube, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001 China)

Abstract: The effects of PVA on tissue culture of *Ziziphus jujuba* Dongzao and Sour jujube (*Z. acidojujuba* C. Y. Cheng et M. J. Liu) were studied. The results indicated that 2.0 g/L PVA can reduce the rate of vitrified plantlets of Dongzao and Sour jujube significantly during proliferation and can also improve both the root number of single plantlet and the length of roots. During leaf culture, using leaves from tissue culture plantlets in Dongzao and sour jujube, 1.0 g/L PVA and 1.5 g/L PVA may quicken callus emergence and increase the rate of callus formation and improve the quality of callus. Therefore, PVA plays an important role in proliferation, rooting culture and leaf culture.

Key Words: Dongzao jujube (*Ziziphus jujuba*); Sour jujube (*Z. acidojujuba*); PVA; Vitrification; Rooting culture; Leaf culture

聚乙烯醇(PVA),分子式为(CH_2CHOH),英文名称为 polyvinyl alcohol,常作为一种渗透调节剂,用来提高种子的活力及幼苗抗寒性、抗旱性^[1-3],在组织培养中也有用其防止组培苗玻璃化的报道^[4]。

组培苗玻璃化是当前植物组培快繁工厂化育苗和试管保存的重大障碍因素,一旦形成玻璃化苗,建立起来的组培系统便不能用于生根和继代增殖培养,失去试管苗的价值。近些年来枣和酸枣的组织培养已取得了一定的进展^[5-8],但在增殖培养中也出现了玻璃化现象,玻璃苗茎叶均呈半透明水浸状,叶片纵向卷曲或向上生长,质脆,缺乏叶绿素,严重影响了枣和酸枣的增殖快繁速度及一系列以其为基础的研究进程。另外在枣和酸枣生根培养中存在由于生根条数少、须根量少造成的移栽成活率低的问题,叶片培养中存在愈伤组织发生率低、发生量少、质地疏

松等问题。因此本试验对聚乙烯醇在枣和酸枣继代增殖、生根培养和叶片培养中的作用作了初步的研究。

1 材料和方法

1.1 材料

试材为继代1年的冬枣和酸枣组培苗($2n=2x=24$),取自河北农业大学中国枣研究中心干果种质资源与分子辅助育种实验室。

1.2 方法

将冬枣、酸枣组培苗进行增殖培养、生根培养和叶片培养,培养过程中分别添加不同浓度的聚乙烯醇,观察组培苗的玻璃化情况、生根情况及叶片愈伤组织增殖情况。聚乙烯醇在各培养过程中的浓度处理见表1。继代培养基、生根培养基、叶片愈伤组织

收稿日期:2005-07-19 接受日期:2005-11-16

基金项目:科技部科技攻关项目(2001BA502B09-04);河北省科技攻关项目(04220111D)。

作者简介:王娜,女,在读博士生。Tel: 0312-7521342, E-mail: wangnalisha@eyou.com

* 通讯作者。Author for correspondence. Tel: 0312-7521342, E-mail: kjliu@mail.hebau.edu.cn

表 1 聚乙烯醇浓度处理表
Table 1 Concentration of PVA

组织培养 Tissue culture	聚乙烯醇浓度处理 Concentration of PVA (mg/L)	对照 Contrast	重复 Repeat(times)
增殖培养 Proliferation	0、1.0、2.0、4.0	不含聚乙烯醇增殖培养基为对照 Proliferation medium without PVA	3
生根培养 Rooting culture	0、1.0、2.0、4.0	不含聚乙烯醇生根培养基为对照 Rooting medium without PVA	3
叶片培养 Leaf culture	0、0.5、1.0、2.0	不含聚乙烯醇叶片愈伤组织诱导培养基为对照 Callus inducing of leaf medium without PVA	3

诱导培养基分别为:MS+BA 2.0 mg/L +IBA 0.5 mg/L;
1/2MS+IBA 1.0 mg/L; 1/2MS+TDZ 1.0 mg/L。

上述试验所用培养基均附加蔗糖 35 g/L (生根培养基为 20 g/L),琼脂 3.5 g/L,pH5.8~6.0,培养温度(25±2)℃,光照强度 1500 Lx,光周期 14 h/10 h。

2 结果与分析

2.1 聚乙烯醇在枣和酸枣继代增殖中的作用

本试验通过在培养基中添加聚乙烯醇,有效防止了酸枣和冬枣组培苗的玻璃化。结果表明,在 0~

2.0 g/L,随着聚乙烯醇浓度的增加,冬枣、酸枣正常苗所占的比例都有增高的趋势,聚乙烯醇浓度为 2.0 g/L 时,玻璃苗率最低,冬枣和酸枣的正常苗率均超过 95%;在 2.0~4.0 g/L,随着聚乙烯醇浓度的继续增加,正常苗率又呈现下降的趋势(表 2),这可能是由于聚乙烯醇的副作用所致,其内部机理有待进一步研究。

可见,在枣和酸枣继代增殖过程中添加 2.0 g/L 的聚乙烯醇可以有效降低玻璃苗率。

2.2 聚乙烯醇在枣和酸枣生根培养中的作用

表 2 聚乙烯醇对组培苗玻璃化的影响
Table 2 Effects of PVA on vitrification of plantlets

聚乙烯醇 PVA(g/L)	接种数 No. of inoculated	玻璃化苗数 No. of vitrified plantlet		玻璃化苗率 Rate of vitrified plantlet(%)	
		酸枣 Sour jujube	冬枣 Dongzao	酸枣 Sour jujube	冬枣 Dongzao
0.0	40	27	29	32.50 d	27.50 d
1.0	40	30	31	25.00 c	22.50 c
2.0	40	39	38	2.50 a	5.00 a
3.0	40	32	34	20.00 bc	15.00 b
4.0	40	30	30	25.00 c	25.00 d

注:玻璃苗率%(玻璃苗数/接种数×100);不同小写字母表示 LSR 测验中 P=0.05 显著差异水平。以下同。
Note: Rate of vitrified plantlet%(No. of vitrified plantlets /No. of inoculated ×100); Followed by the different small letters are significantly different at P=0.05 level (test Duncan, LSR method). The same as below.

由表 3 可以看出,在枣和酸枣生根培养中随聚乙烯醇浓度的增加,生根条数和根长相应增加,浓度为 2.0 g/L 时,生根条数最多,根最长,如酸枣生根条数为 19、根长达 6.7 cm,显著高于对照(分别为 9 条和 5.2 cm)。另外,添加聚乙烯醇后组培苗表现为根粗壮且有一定数量的须根,该状态有利于组培苗的

移栽定植。需要指出的是,加入聚乙烯醇后组培苗的生根率与对照并无明显差异,均能超过 95%。

因此,在枣的生根培养过程中添加 2.0g/L 浓度的聚乙烯醇可有效提高组培苗的生根效果。

2.3 聚乙烯醇在枣和酸枣叶片培养中的作用

在枣和酸枣组培苗叶片培养过程中,培养基中

表 3 聚乙烯醇对组培苗生根效果的影响
Table 3 Effects of PVA on rooting of plantlets

聚乙烯醇 PVA(g/L)	接种数 No. of inoculated	酸枣 Sour jujube			冬枣 Dongzao		
		生根率 Rate of rooting (%)	生根条数 Root No. plantlet	平均根长 Average length of roots(cm)	生根率 Rate of rooting (%)	生根条数 Root No. plantlet	平均根长 Average length of roots(cm)
0.0	40	95.0 a	9 c	5.2 c	97.5 a	6 d	4.2 d
1.0	40	95.0 a	15 b	5.2 c	97.5 a	9 bc	5.0 b
2.0	40	97.5 a	19 a	6.7 a	97.5 a	17 a	5.8 a
3.0	40	97.5 a	14 b	5.8 b	95.0 a	12 b	4.8 bc
4.0	40	95.0 a	10 c	5.0 cd	95.0 a	7 cd	4.5 cd

添加聚乙烯醇可有效提高愈伤组织的诱导效果(表4)。当聚乙烯醇浓度为 1.0 g/L 时,酸枣叶片愈伤组织的发生率和发生量均显著高于对照,且开始出现愈伤组织的时间比对照早。添加聚乙烯醇后

酸枣叶片在 11 d 即可观察到愈伤组织,而对照在 22 d 才开始出现愈伤组织。对于冬枣叶片而言,1.5 g/L 的聚乙烯醇诱导效果较好,即愈伤组织发生早、发生率高、发生量多。另外,添加聚乙烯醇诱导的愈

伤组织为白色，质地致密，而对照的愈伤组织为灰色、松散状。

因此，1.0、1.5 g/L 的聚乙烯醇可分别提高酸枣和冬枣叶片的愈伤组织诱导效果。

表 4 聚乙烯醇对枣组培苗叶片愈伤组织诱导效果的影响
Table 4 Effects of PVA on callus inducing of leaves

聚乙烯醇 PVA(g/L)	接种数 No. of inoculated	酸枣 Sour jujube			冬枣 Dongzao		
		始出愈伤天数 Days needed for callus induction (d)	愈伤发生率 Rate of callus formation (%)	愈伤发生量 Amount of callus	始出愈伤天数 Days needed for callus induction (d)	愈伤发生率 Rate of callus formation (%)	愈伤发生量 Amount of callus
0.0	40	22	52.5 c	+	23	45.0 d	+
0.5	40	17	80.0 b	++	20	77.5 c	+
1.0	40	11	100.0 a	++++	13	83.5 b	++
1.5	40	16	83.5 b	+	18	100.0 a	++++
2.0	40	20	45.0 d	--	24	47.5 d	+

注：+：极少量愈伤；++：少量愈伤；+++：愈伤量一般；++++：大量愈伤；--：无愈伤
Note: +: little callus; ++: a little callus; +++: middling callus; ++++: much callus; --: no callus

3 结论与讨论

前人认为，继代培养过程中 BA 浓度过高是导致组培苗玻璃化的原因之一，可通过降低 BA 浓度来缓解玻璃化现象的发生^[4]，本研究也曾试图通过降低 BA 浓度来减少玻璃化的发生，但效果不明显，同时还降低了组培苗的增殖系数。因此认为，通过添加聚乙烯醇来防止枣和酸枣继代培养中的玻璃化现象，既可保证组培苗的增殖系数，又可有效防止玻璃化现象的发生，不失为一种好的方法。

本研究首次提出聚乙烯醇可提高枣和酸枣组培苗的生根条数和根长，且根粗壮，须根量多，这将对组培苗的移栽定植起到有利的作用，从而提高移栽成活率。本研究还揭示了聚乙烯醇在枣和酸枣组培苗叶片愈伤组织诱导中的作用，可使愈伤组织的发生时间提前，进而缩短了叶片愈伤组织的诱导周期。另外，聚乙烯醇提高了愈伤组织的质量，为进一步的出芽诱导奠定了良好的基础。

在 PVA 的作用机理上，洪法水等^[1]认为 PVA-I-ATP 混合处理增强小麦幼苗的抗寒性与其保护酶系统活性的提高有密切关系。而 PVA+ GA 处理能明显提高玉米种子活力、发芽率，并能促进幼苗的生长，增强抗旱性^[2]，这是因为在种子萌发期间，PVA+ GA 处理提高了淀粉酶、转氨酶、脂肪酶活性，呼吸作用加强，提前启动种子萌发代谢的过程。业已证明，GA 对根的伸长无明显的促进作用，而用 PVA+ GA 混合处理却能明显促进根系的生长发育，根条数增多，根增长，可见 PVA 在玉米幼苗的生根过程中发挥了重要的作用，这一点和本研究结果即 PVA 可提高枣组培苗的生根效果一致。

综上所述，聚乙烯醇在冬枣和酸枣的继代增殖、

生根培养及叶片愈伤组织诱导中均有良好的促进作用。但上述效应可能是聚乙烯醇与植物生长调节剂协同作用的结果，其在组织培养中的作用机制有待更深入的研究。

参考文献 References:

[1] HONG F S, ZHAO H Q(洪法水, 赵海泉). Effect of PEG and Polyvinyl Alcohol on Seed Vigor and Cold Resistance of Cucumber Seedlings[J]. Acta Horticulturae Sinica(园艺学报), 1997, 24(4): 395~396. (in Chinese)

[2] WANG X M, HONG F S, MA C C(王旭明, 洪法水, 马成仓). Effect of Mixture Pretreatment of Polyvinyl Alcohol and Gibberellin Acid on Growth and Yield of Maize[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences (安徽农业科学), 1997, 25(2): 153~155. (in Chinese)

[3] HONG F S, MA C C, WANG X M, et al(洪法水, 马成仓, 王旭明, 等). Effect of Polyvinyl Alcohol Pretreatment on Seed Germination Metabolism and Growth of Wheat[J]. Acta Aeronomica Sinica(作物学报), 1997, 23(2): 131~135. (in Chinese)

[4] REN D Z, LI F, QU Y Q, et al(任东植, 李峰, 曲运琴, 等). Several Physiological Factors Caused Vitrification in Zizyphus jujube and its Curing[J]. Plant Physiology Communications(植物生理学通讯), 2000, 36(1): 157~159. (in Chinese)

[5] WANG J R, LIU M J, DAI L(王玖瑞, 刘孟军, 代丽). Advances in Tissue Culture of Chinese Jujube[J]. Journal of Fruit Science(果树学报), 2002, 19(05): 336~339. (in Chinese)

[6] DAI L, LIU M J, WANG J R, et al(代丽, 刘孟军, 王玖瑞, 等). Micropropagation of Sour Jujube[J]. Journal of Agricultural University of Hebei(河北农业大学学报), 2005, 28(2): 19~22. (in Chinese)

[7] SUN Q R, SUN H Y, ZHENG H J(孙清荣, 孙洪雁, 郑红军). Study on the Plant Regeneration From Leaves of Sour Jujube (Zizyphus spinosus Hu.)[J]. Journal of Fruit Science (果树科学), 2000, 17(1): 48~51. (in Chinese)

[8] WU C H, HE Y H, XIE B X, et al(伍成厚, 何业华, 谢碧霞, 等). In vitro Culture of Jujube Stem Segment [J]. Journal of Fruit Science (果树科学), 2004, 21(6): 601~611. (in Chinese)