

聚乙烯醇对菘蓝组培苗玻璃化现象发生的影响

张胜珍, 客绍英, 祝维芳, 鄂丽媛

(唐山师范学院 生命科学系, 河北 唐山 063000)

摘要:以菘蓝为材料,研究了在培养基中添加不同浓度聚乙烯醇对菘蓝组培苗玻璃化现象的发生影响。结果表明,随聚乙烯醇浓度的升高,组培苗玻璃化率降低,但浓度过高会抑制组培苗的生长,对叶片的分化抑制作用也较大。此外试验还发现适宜浓度的聚乙烯醇(1.5g/L)可起到促进组培苗生根的效果。

关键词:菘蓝;玻璃化;聚乙烯醇

中图分类号:R282.2

文献标识码:B

文章编号:1009-9115(2007)05-0036-03

菘蓝(*Isatis indigotica*)是常用传统药材与中药的原材料,以根、叶入药,具有清热解毒、凉血利咽功能。菘蓝喜凉爽忌炎热,在夏季炎热气候下,特别是菘蓝组培苗在培养容器小环境相对湿度较高和其他外源因素的影响下,易产生玻璃化现象,其表现为叶片、嫩梢呈水晶透明或半透明,水浸状。玻璃化现象发生后,可造成组培苗生长缓慢或死亡,移栽不能成活,严重影响繁殖率的提高。玻璃化现象在植物组织培养中普遍存在,在草本与木本植物中均有发生,已报道出现玻璃化苗的植物已达70多种^[1],玻璃苗的出现率有时可高达100%^[2],因而玻璃化现象是组培苗生产中亟待解决的问题。对组培苗玻璃化发生机理的研究曾多有报道,石磊利等^[3]认为培养容器的透气性可促使组培苗发生玻璃化现象,孔祥生等^[4]认为培养基中的水分状态和相对湿度是导致玻璃化的主要原因,也有研究认为玻璃化苗的发生与细胞分裂素的浓度和温度有密切关系^[5-6]。到目前为止,对试管苗玻璃化的原因和机理尚无定论,也未找到行之有效的解决方法。

本试验对菘蓝玻璃苗的发生及克服途径进行了初步研究,旨在建立良好的菘蓝快繁体系,改善市场药材的供应和提高药材的品质,并为其他植物玻璃化现象的防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

菘蓝种子,由唐山师范学院生物科学技术系药用植物研究室提供。

1.2 试材培养

菘蓝种子于水中浸泡3~4h后,在超净工作台上用70%乙醇表面消毒1min,无菌水冲洗4次后再用0.1%升汞消毒10~12min,无菌水冲洗4次,接种于1/2MS培养基中。15天后进行继代增殖培养。

1.3 试验方法

1.3.1 以MS+NAA0.2 mg/L+6-BA2.0 mg/L+蔗糖30g/L+琼脂5.5g/L为基本培养基,pH5.8,分别向培养基中附加不同浓度的聚乙烯醇。取继代培养所得的试管苗的茎尖(2~3cm)和叶片(0.3~0.5cm²)接种于培养基中进行分组对比试验。每浓度处理各接种20瓶以上,每瓶接种3个试材。培养条件温度为(25±2)℃,光照时间12h/d,光照强度1500lx~2500lx。15天后观察统计不同处理下正常苗与玻璃苗的百分率。

1.3.2 聚乙烯醇对菘蓝组培苗生根的影响

以MS+NAA0.3 mg/L+蔗糖30g/L+琼脂5.5g/L为基本培养基,分别向培养基中附加不同浓度的聚乙烯醇。取菘蓝组培苗的茎尖(2~3cm)接种于上述培养基中进行生根诱导。每浓度处理各接种20瓶以上,每瓶接种3个试材。培养条件与上同。

2 结果与分析

2.1 聚乙烯醇对菘蓝叶片分化及生长状态的影响

将菘蓝组培苗叶片接种于附加了不同浓度的聚乙烯醇的培养基中。培养一段时间后进行观察,结果见表1。

基金项目:唐山市科技攻关项目(03132001A),河北省科技攻关项目(05276416)

收稿日期:2007-06-08

作者简介:张胜珍(1979-),女,河北新乐人,硕士,讲师。

张胜珍, 客绍英, 祝维芳, 鄂丽媛: 聚乙烯醇对菰蓝组培苗玻璃化现象发生的影响

表 1 培养基中加入聚乙烯醇对接种叶片分化及玻璃化的影响

聚乙烯醇 (g/L)	分化率 (%)			玻璃化率 (%)		
	23d	27d	30d	23d	27d	30d
0 (ck)	97	97	97	94	97	100
1.5	57	77	84	23	45	73
2.0	59	76	78	0	19	46
2.5	19	47	52	0	0	3

从表 1 可看出聚乙烯醇对预防玻璃化有一定的效果, 并随聚乙烯醇浓度的增加, 玻璃苗比率显著降低。但同时培养基中添加聚乙烯醇又明显的抑制了叶片的分化, 对照接种 30 天后达到 97% 的分化率, 且分化较早。而加聚乙烯醇的处理, 分化率明显低于对照, 且分化速度慢, 仍有一定比例的叶片处在未分化或愈伤状态。因此, 综合利弊本试验认为 2.0g/L 聚乙烯醇为适宜浓度, 可有效控制组培苗的玻璃化现象发生, 同时对叶片的分化无明显影响。

2.2 聚乙烯醇对菰蓝组培苗茎尖培养玻璃化的影响

表 2 聚乙烯醇对组培苗茎尖培养玻璃化的影响

聚乙烯醇 (g/L)	玻璃化率 (%)		
	17d	20d	25d
0 (ck)	90	97	100
1.0	77	77	77
1.5	47	51	51
2.0	55	55	61
2.5	30	50	50
3.0	20	41	41

由表 2 可见, 除加聚乙烯醇 2.0g/L 处理之外, 随着聚乙烯醇加入量的增加, 玻璃化发生率呈减少的趋势。与叶片培养试验结果相符。但随聚乙烯醇浓度的提高, 组培苗增殖率降低, 而且长势受到明显抑制, 表现为植株矮小, 叶片小而皱曲。因此虽然聚乙烯醇浓度为 3.0g/L 时, 组培苗的玻璃化率最低, 但综合组培苗的长势分析, 本实验认为聚乙烯醇浓度为 1.5g/L 为最适宜浓度, 可在一定程度上抑制玻璃化现象的发生, 同时不会对组培苗长势造成太大影响。

2.3 聚乙烯醇对菰蓝培养苗生根及玻璃化现象的影响

从表 3 中可看出聚乙烯醇浓度为 1.5g/L 时, 组培苗生根率最高, 同时玻璃化率也较低。此外在观察中还发现, 向培养基中添加聚乙烯醇的处理生根早于对照, 且根数较多。这表明适宜浓度的聚乙烯醇具有促进组培苗生根和预防玻璃化现象发生的双重作用。

表 3 生根培养基中加入聚乙烯醇对生根率和玻璃化率的影响

聚乙烯醇 (g/L)	生 根		玻璃化率 (%)		
	接种数	生根率 (%)	16d	20d	30d
0 (ck)	96	21	27	31	35
1.0	96	44	23	23	29
1.5	88	55	16	16	16
2.0	88	30	14	14	14

3 讨论

3.1 聚乙烯醇防治菰蓝组培苗玻璃化的作用

聚乙烯醇是一种水分胁迫剂, 本试验针对引起玻璃化的可能原因是培养基中水分过多, 而在培养基中加入了聚乙烯醇。结果表明: 适宜浓度的聚乙烯醇可以达到抑制菰蓝组培苗玻璃化的作用。这与师校欣等^[7]在培养基中添加聚乙烯醇可抑制苹果组培苗玻璃化的结果相同。由此推测菰蓝组培苗玻璃化的原因可能是培养基中水分对于组培苗来说过量, 或组织培养中各种不利因素导致植株吸收过多水分而发生生理病变。

此外在试验中并未观察到聚乙烯醇会加重培养材料褐变的现象, 这与孔祥生等^[4]在甜柿组织培养玻璃化现象的发生与防

治中的阐述不同,推测原因可能为不同材料对聚乙烯醇的适应性不同。

3.2 聚乙烯醇促进组培苗生根作用

最早聚乙烯醇作为土壤改良剂用于培养的土壤中。经聚乙烯醇改良后的土壤,具孔隙多,空气含量高,土质疏松,微生物活动好,促进根部发育;土壤的毛细管错综分布,水分保持好团粒间的空隙大,土壤的透气性好等特点^[8]。针对聚乙烯醇的这种用途,本试验将聚乙烯醇加入生根培养基中。结果表明 1.5g/L 聚乙烯醇可以促进组培苗的生根,在生根速度、生根率、生根数目等方面等都优于对照,即聚乙烯醇的加入对菰蓝组培苗起到了促进生根和预防玻璃化双重效果。但聚乙烯醇能否广泛的用于培养基中来促进组培苗生根还有待于试验研究。

此外向培养基中附加聚乙烯醇的浓度过高时会抑制组培苗的生长,因此在利用聚乙烯醇防治组培苗的玻璃化时,应综合考虑PVA的防治效果和不利影响,酌量添加。

参考文献:

- [1] 陶铭.组织培养中畸形胚状体及超度含水态苗的研究[J].西北植物学报,2001,21(5):1048-1058.
- [2] 周菊花,林证明,梁海曼.控制瑞香试管苗玻璃化的研究[J].园艺学报,1990,17(3):229-232.
- [3] 石磊利,马新华,李亚玲,等.影响葡萄组培苗玻璃化的环境因素试验[J].新疆农垦科技,2000,(6):21-22.
- [4] 孔祥生,张妙霞,张益民.甜柿组织培养中玻璃化现象的发生与防治[J].北方园艺,1999,(4):5-16.
- [5] 丰峰,李洪波,谢建英.芦荟组织培养中试管苗玻璃化的发生与防止[J].西南农业大学学报,2001,23(5): 449-451.
- [6] 周莉娟,姜秀勇.影响香石竹组培苗玻璃化现象的若干因素[J].福建农业学报,1999,14(增刊):102-106.
- [7] 帅校欣,马宝琨,高仪.植物离体繁殖中玻璃苗的发生与防治[J].植物学通报,1992,9(增刊):20-21.
- [8] 化工百科全书编辑部.化工百科全书(第九卷)[M].北京:化学工业出版社,1995.

The Influence of Polyvinyl Alcohol on Vitrification in Tissue Culture of Woad

ZHANG Sheng-zhen, KE Shao-ying, Zhu Wei-fang, E li-yuan

(Department of Life Sciences, Tangshan Teachers College, Hebei Tangshan 063000, China)

Abstract: Taking woad as the maternal plant, the influence of different concentration of polyvinyl alcohol on vitrification in tissue of woad were studied. The results showed that vitrification was inhabited by the supplement of the polyvinyl alcohol in the mdium. But higher concentration of polyvinyl alcohol suppressed the growth of the tissue culture, and the polarization in lamina is relatively great. It is also found that suitable concentration of polyvinyl alcohol (1.5g/L) could advance taking root.

Key words: woad; vitrification; polyvinyl alcoholt

责任编辑、校对: 李春香