

· 小经验 ·

飘香藤离体培养中茎尖枯死现象的控制

梁乃斌¹, 吴坤林^{2,*}, 方中明^{2,3}, 廖文君¹¹华南农业大学生命科学学院, 广州 510642; ²中国科学院华南植物园, 广州 510650; ³中国科学院研究生院, 北京 100049

茎尖枯死或枝叶枯萎是由植物生理调节混乱而引起的一种普遍现象。茎尖枯死现象的出现, 可能是钙元素的缺乏引起的, 硼的缺乏也会引起这一现象。因此怎样防止这一现象的发生, 是组织培养中十分关注的问题。本文以飘香藤(*Mandevilla sanderi* Hemsl.)离体培养的不定芽为材料, 对茎尖枯死的控制和对优质芽的保护进行了研究。

试验材料为在增殖培养基 TB1 (MS+0.10 mg·L⁻¹ IBA)上诱导培养的飘香藤不定芽。实验有: (1) TB1增殖培养基中添加不同浓度的氯化钙(0~960.0 mg·L⁻¹), 诱导出的新芽接种于其上。(2) TB1 增殖培养基中添加不同浓度的 IBA (0~8.00 mg·L⁻¹), 诱导出的新芽接种于其上。(3)每隔 2 个星期, 向培养新芽的广口瓶中加入 5 mL 无植物生长调节剂的 MS 液体培养基, 2 d 后去掉加入的液体。(4)培养基表面覆盖一层经过高压灭菌后的羊毛脂降低培养基表面的蒸发量, 从而降低广口瓶的湿度。每隔 2 个星期, 打开广口瓶的盖子 10 s, 以增加其通风量。(5)少量棉花堵住橡皮塞的 4 mm 直径圆孔, 以增加广口瓶与周围空气的交换。

5种处理的增殖培养基皆为TB2 (MS+0.05 mg·L⁻¹ 6-BA)。所有试验中所用的培养容器均为 100 mL 的广口玻璃瓶, 每瓶分装 20 mL 培养基, 每处理接种 30 瓶, 每瓶接种 4 个不定芽, 培养温度为 (25±1) °C, 光照时间 16 h·d⁻¹, 光照强度为 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹。所有培养基的 pH 均为 5.8。培养 8 周后测定所有长度大于 3 mm 的芽长, 并记录芽的个数和茎尖枯死的芽个数。计算茎尖枯死率并对每个平行实验结果进行分析。计算芽的平均数、芽的平均长度、茎尖枯死的平均值。其中, 茎尖枯死率=(茎尖枯死芽数/总芽数)×100%。得到如下结果。

(1)不同浓度钙离子下的茎尖枯死率均明显地降低, 钙离子浓度为 480.0 mg·L⁻¹ 的茎尖枯死率最低(仅为 11%)(表 1)。但顶芽伸长受到的影响不明显。据此认为, 茎尖枯死的发生, 与钙的缺乏可能

有关。

(2)低浓度 IBA (0~0.08 mg·L⁻¹)下的茎尖枯死率明显降低(表 2)。飘香藤的出芽数随着 IBA 浓度的降低而下降, 0.02 mg·L⁻¹ IBA 最有效。

表 1 不同浓度钙对茎尖枯死的影响

钙浓度 /mg·L ⁻¹	出芽数	茎尖枯死芽数	茎尖枯死率 /%
0	11.20±0.37 ^a	4.08±0.33 ^{de}	36±0.03 ^{cd}
2.4	10.98±0.57 ^a	3.78±0.75 ^{de}	34±0.06 ^{bcd}
4.8	10.76±0.56 ^{ab}	3.74±0.33 ^{de}	35±0.04 ^{cd}
9.6	10.73±0.38 ^{ab}	3.07±0.41 ^{bcd}	28±0.03 ^{bc}
12.0	9.78±0.37 ^{abc}	2.85±0.56 ^{bcd}	29±0.05 ^{bc}
24.0	9.94±0.29 ^{abc}	3.25±0.54 ^{cde}	33±0.06 ^{bcd}
48.0	9.04±0.33 ^c	3.04±0.21 ^{bcd}	34±0.02 ^{bcd}
96.0	9.90±0.44 ^{abc}	4.43±0.30 ^e	45±0.03 ^d
120.0*	9.36±0.60 ^{bc}	3.24±0.20 ^{cde}	35±0.04 ^{cd}
240.0	9.34±0.49 ^{bc}	1.92±0.52 ^{abc}	21±0.06 ^{ab}
480.0**	9.31±0.49 ^{bc}	1.01±0.41 ^a	11±0.04 ^a
960.0	8.81±0.51 ^c	1.84±0.30 ^{ab}	21±0.03 ^{ab}

不同字母表示在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著。*MS 培养基中钙浓度, **茎尖枯死的最佳控制数。表 2 和表 3 同此。

表 2 不同浓度 IBA 对茎尖枯死的影响

IBA 浓度 /mg·L ⁻¹	出芽数	茎尖枯死芽数	茎尖枯死率 /%
0	11.20±0.37 ^a	3.78±0.22 ^{ab}	34±0.01 ^{ab}
0.02*	11.20±0.58 ^a	3.08±0.45 ^a	28±0.04 ^a
0.04	11.20±0.58 ^a	3.41±0.36 ^{ab}	30±0.03 ^a
0.08	11.40±0.40 ^a	3.64±0.30 ^{ab}	32±0.02 ^a
0.10	10.60±0.40 ^a	4.55±0.18 ^{bcd}	43±0.02 ^{cd}
0.20	11.00±0.32 ^a	3.71±0.36 ^{ab}	34±0.03 ^{ab}
0.40	10.20±0.37 ^a	4.09±0.55 ^{abc}	40±0.05 ^{bc}
0.80	11.40±0.51 ^a	5.54±0.32 ^d	49±0.01 ^d
1.00	11.00±0.71 ^a	5.05±0.44 ^{cd}	46±0.01 ^{cd}
2.00	11.20±0.58 ^a	5.20±0.33 ^{cd}	46±0.01 ^{cd}
4.00	11.40±0.60 ^a	5.15±0.37 ^{cd}	45±0.01 ^{cd}
8.00	11.00±0.63 ^a	5.53±0.37 ^d	50±0.01 ^d

收稿 2009-07-17 修定 2009-08-19

资助 广州市科技攻关重大项目(2004Z1-E0041)。

* 通讯作者(E-mail: wu_kunlin@163.com)。

(3)液体培养基有利于芽的伸长,但茎尖枯死率不降低,而且对芽的增殖也无促进作用(表3)。同

样地,广口培养瓶通风量增加的茎尖枯死率也未受到明显的影响(表3)。

表3 不同湿度和通风量对茎尖枯死的影响

处理	出芽数	茎尖枯死芽数	茎尖枯死率/%
空白对照*	9.34±0.49 ^a	3.65±0.12 ^a	39±0.02 ^a
添加液体培养基	9.36±0.60 ^a	3.24±0.20 ^a	35±0.04 ^a
添加羊毛脂	9.34±0.49 ^a	3.61±0.13 ^a	39±0.01 ^a
增加棉花	9.36±0.60 ^a	3.24±0.20 ^a	35±0.04 ^a

参考文献

- Biddulph O, Nakayama FS, Cory R (1961). Transpiration stream and ascension of calcium. *Plant Physiol*, 6: 429~436
- Kohl HC, Oertli JJ (1961). Distribution of boron in leaves. *Plant Physiol*, 36: 420~424
- Kohle H, Jeblick W, Poten F, Blaschek W, Kauss H (1985). Chitosan-elicited callose synthesis in soybean cells as a Ca⁺ dependent process. *Plant Physiol*, 77: 544~551