

植物组织培养中琼脂浓度和 pH 对培养基凝固程度的影响

杜永光¹ 郝丽珍^{1*} 王萍¹ 姚裕祺² 张智芳²

¹ 内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019; ² 内蒙古马铃薯脱毒种薯繁育中心, 呼和浩特 010010

植物组织培养中多数植物 pH 要求 5.0~6.2, 琼脂浓度一般选用 7~8 mg·L⁻¹, 最高可达 16 mg·L⁻¹, 较低的 5 mg·L⁻¹, 而我们观察到培养基凝固程度受 pH 影响较大, 适当的降低琼脂浓度不仅可以满足外植体的正常支撑需求, 且培养效果更佳。本文研究 pH 和琼脂浓度对培养基凝固程度的影响, 以确定组织培养技术中合理的琼脂浓度。实验以 MS 培养基为基本培养基, 用琼脂粉(天津市英博生化试剂有限公司 2004 年生产)为培养基凝固剂, 以 Sarlorius 分析天平称量, 选用 MX300 多功能测量仪(Schwerzenbach, Switzerland)测定 pH。MS 培养基制备参照崔德才等的方法, 设计的 pH 有: 2.0、4.0、5.0、5.8、6.2、8.0, 琼脂浓度有: 2.5、3.0、3.5、4.0、6.0、8.0 mg·L⁻¹, 共 36 个处理组合。每个处理重复 3 次。准确量取各母液并用蒸馏水定容到 150 mL 容量瓶中, 然后倒入 500 mL 烧杯中, 加入所需要的琼脂, 并在电炉上加热, 使琼脂全部溶解后, 降温至 50℃时调节 pH, 然后分别将 150 mL 培养液分装到 3 个 150 mL 三角瓶中, 置于 121℃高压灭菌锅内 25 min, 室温下自然凝固后观察。凝固等级分 0 级(未凝固)、1 级(轻微晃动培养基即碎裂)、2 级(轻微晃动培养基不易碎裂)、3 级(用力晃动培养基易碎裂), 4 级(用力晃动培养基不碎裂)。得到以下结果:

1. pH 为 2.0 时, 2.5~8.0 mg·L⁻¹ 琼脂浓度的

培养基凝固等级均为 0 级; pH 为 4.0~8.0 时, 各浓度的培养基凝固等级在一定的琼脂浓度内随浓度增加而增高。在相同琼脂浓度下, 凝固等级随 pH 增加而提高, 其中当 pH 5.0~8.0 时, 同一浓度下的凝固等级基本相同(表 1)。说明 pH 和琼脂浓度共同影响培养基的凝固等级, pH 较低(≤ 4.0)时, pH 是影响凝固等级的主要因素, pH 较高(5.0~8.0)时, 琼脂浓度是影响凝固等级的主要因素。

表 1 琼脂浓度和 pH 对培养基凝固程度的影响

pH	琼脂浓度 /mg·L ⁻¹					
	2.5	3.0	3.5	4.0	6.0	8.0
2.0	0 级	0 级	0 级	0 级	0 级	0 级
4.0	0 级	1 级	2 级	2 级	2 级	3 级
5.0	1 级	2 级	3 级	3 级	4 级	4 级
5.8	1 级	2 级	3 级	3 级	4 级	4 级
6.2	1 级	2 级	3 级	3 级	4 级	4 级
8.0	2 级	2 级	3 级	4 级	4 级	4 级

2. 培养以沙芥茎尖诱导形成的愈伤组织、大蒜和马铃薯芽的结果显示, 在 pH 5.5~6.2 范围内, 琼脂浓度为 3.0~3.5 mg·L⁻¹ 的 B₅、1/2B₅、MS 培养基上, 其外植体均生长正常, 并未因培养基种类而影响凝固等级(表 2)。据此认为, 用凝固等级为 2 级、3 级的培养基即可满足大多数外植体

表 2 不同培养基上 3 种植物外植体的培养情况

植物种类	基本培养基	pH	琼脂浓度/mg·L ⁻¹	凝固等级	外植体	培养目标	培养效果
沙芥	B ₅	5.8~6.0	3.5	3 级	愈伤组织	愈伤组织继代	较好
大蒜	1/2B ₅	5.5~5.8	3.0	2 级	芽	诱根	较好
马铃薯	M S	5.8~6.2	3.5	3 级	芽	诱根	较好

的正常支撑需求。对要求 pH 为 5.0~6.2 的植物来说, 无论以何种外植体和培养基培养, 均可用 3.0~4.0 mg·L⁻¹ 的琼脂; 要求 pH 为 4.0~5.0 的植物可适当提高琼脂浓度。如遇琼脂质量差时, 可适当增加用量。

收稿 2004-11-23 修定 2005-03-25
资助 国家自然科学基金(30260067、30460080)、内蒙古自然科学基金(200108020501)、内蒙古自治区攻关项目。
*通讯作者(E-mail:haolizhe@public.hh.nm.cn, Tel: 0471-4318467)。