

· 小方法 ·

从事植物组织培养工作的点滴经验

郑春明^{1,*} 赵鹏² 徐礼根³¹台州科技职业学院, 黄岩 318020; ²丽水职业技术学院, 丽水 323000; ³浙江大学生命科学院, 杭州 310012

植物组织培养中常常遇到试管苗的根向上生长和污染率居高不下的问题。如何解决这一问题? 我们就自己近年来从事组织培养工作所积累的一些经验作些介绍, 以供同行参考。

1 用遮光方法防止根向上生长

植物组织培养中, 经常遇到试管苗的根不向下生长。其原因在于植物组织培养室中, 培养架的搁板多数采用透明玻璃, 每个架子少则4层, 多则十几层, 每层均有2盏40 W日光灯, 这样, 放在玻璃搁板上的培养物既受到上方日光灯(该灯距培养物的距离较远)的照射, 又受到下方日光灯(该灯距培养物的距离较近)的照射, 根的生长同时受到向地性生长和背光性生长的作用, 后者的作用大于前者时, 根就会翘向上方生长; 反之, 根就会向下生长。我们在菊花和百合等组织培养时均观察到根向上生长的现象。为了改变根的生长方向, 我们根据根的背光性生长原理, 在菊花培养物的底部用黑色薄膜遮住来自下方的光照, 结果, 翘向空中约3 cm的菊花根在第2天就开始往下生长, 到5 d就扎入约2 cm深的培养基处。后来, 为了改进对根的遮光和减少根对光的吸收, 我们用2层布, 即下层用白布(增加光的反射, 减少光的吸收), 上层用黑布(以增强对来自下方光的吸收作用)平铺在玻璃板上, 效果非常理想。虽然也有报道说活性炭能促进根的生长, 但并未谈及解决根向上生长的问题。我们认为, 加活性炭虽然能解决这个问题, 但存在很多弊端。例如, 增加了配制培养基的难度(灭菌后的活性炭

易沉淀, 必须在培养基凝固前不断摇动才能使活性炭分布均匀一些), 成本提高; 活性炭缺少选择性吸收, 会吸收掉培养基中的有效成分, 从而影响培养物的生长发育。因而, 不要轻易使用活性炭。

2 流水冲洗外植体, 降低污染率

污染是植物组织培养中三大难题(污染、褐变和玻璃化现象)之一。常规的解决方法是先做选择有较好效果的灭菌剂种类、浓度和灭菌时间的试验, 这对多数植物来说有一定的效果, 但对有些污染率高的就不一定能达到预期效果。我们在水仙的组织培养中, 曾按照这种方法操作, 污染率几乎达到100%。经反复观察污染发生的部位、时间以及污染的微生物种类, 推测是水仙鳞茎形成过程中有霉菌孢子随雨水进入到鳞茎基部, 化学灭菌剂难以渗透到鳞茎基部而杀死孢子, 无论用哪种灭菌剂, 以及如何提高灭菌剂的浓度和延长灭菌的时间, 都难以灭菌。为此, 我们改用延长流水冲洗时间以冲走嵌在水仙鳞叶基部的霉菌孢子, 污染率可降低到10%。而且, 由于化学灭菌剂的处理时间比较短, 对水仙组织的损害程度也比较轻, 在短短的19 d中就诱导出了较大的小鳞茎。用此法比一般水仙组培所报道的最低污染率还要低4%左右, 诱导出小鳞茎的时间也缩短约10 d。

收稿 2003-09-16 修定 2004-01-15

*E-mail: chunming 863@163.com, Tel: 0576-8389986