林业科学研究 2011,24(3):379～384
Forest Research

文章编号:1001-1498(2011)03-0379-06

芍药‘种生粉’离体芽培养及玻璃化苗复壮研究

郑黎文[1], 吴红娟[2], 于晓南[2,3*], 蔡京艳[4]

(1. 中国林业科学研究院,北京 100091; 2. 北京林业大学园林学院,北京 100083;
3. 国家花卉工程技术中心,北京 100083; 4. 中国林业科学研究院华北林业实验中心,北京 102300)

摘要:以芍药品种‘种生粉’地下芽为外植体,研究不同 IAA 浓度、取材时间对启动培养的影响,不同 6 – BA 浓度对丛生芽诱导的影响、不同生长素对丛生芽增殖的影响以及继代过程中玻璃化苗的复壮。结果表明:有利于地下芽的启动培养基为:1/2 MS(Ca^{2+}加倍) +6-BA 1.0 mg · L^{-1} + $GA_3$0.5 mg · L^{-1} + IAA 0.1 mg · L^{-1},在该培养基上地下芽的萌动率、侧芽萌发数和高度达到最大值,分别为 92.80%、2.13 个、4.22 cm。地下芽春季取材好于冬季,春季 3 月取材,萌动率高达 100%,展叶率达 92.60%。冬季 1 月取材萌动率为 96.70%,展叶率仅为 61.50%。丛生芽诱导阶段选择 2.0 mg · L^{-1}的 6-BA 较为适宜,主芽分化芽数达到最大值 5.67 个,枯死率最低为 6.67%。丛生芽增殖过程中,不适宜添加生长素。当组培苗发生玻璃化时,不宜采用 6-BA;在培养基中添加活性炭、完全除去培养基中的硝酸铵、以三角瓶作为培养容器和使用透气性较好的封口膜、增加钙离子含量至 2 倍都可以改善组培苗的玻璃化现象,逆转为正常组培苗的比例为 20.06%～34.37%。

关键词:芍药;组织培养;丛生芽;玻璃化

中图分类:S682.1+2 **文献标识码**:A

Studies on the Micropropagation and Rejuvenation of the Hyperhydric Plantlets of *Paeonia lactiflora* ‘Zhong Sheng Fen’

ZHENG Li-wen[1], *WU Hong-juan*[2], *YU Xiao-nan*[2,3], *CAI Jing-yan*[4]

(1. Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 2. College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 3. National Engineering Research Center for Floriculture, Beijing 100083, China; 4. Experimental Center of Forestry in North China, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: The underground buds of *Paeonia lactiflora* ‘Zhong Sheng Fen’ were used to study various concentration of IAA and sampling time on initiation culture, various concentration of 6 – BA on axillary shoots inducing, and different auxin on axillary shoots proliferation and rejuvenation of hyperhydric plantlets. The results showed that: the best initial medium of ‘Zhong Sheng Fen’ is 1/2 MS(double Ca^{2+}) + 6 – BA 1.0 mg · L^{-1} + $GA_3$0.5 mg · L^{-1} + IAA 0.1 mg · L^{-1}. The highest germination percentage (92.80%), number of lateral shoots (2.13) and height (4.22 cm) were observed in the treatment. It was better to sample underground buds in spring than in winter. The germination percentage was 100.00% in spring and 96.70% in winter. Leaf expansion percentage was 92.60% in spring and 61.5% in winter. 2.0 mg · L^{-1} 6-BA was good for axillary shoots inducing. 5.67 axillary shoots were induced from the main buds. In addition, the lowest death percentage (6.67%) was gained. Auxin was not good for axillary shoots proliferation. Adding AC and removal ammonium nitrate in the medium, using triangular flask as culture vessel and joint filling material, increasing calcium (double Ca^{2+}) in the medium and not using 6-BA were

收稿日期: 2010-11-09
基金项目: 中国林科院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(CAFYBB2008010)
作者简介: 郑黎文(1967—),女,福建建瓯,副教授,研究领域:园林. E-mail:zhenglw@caf.ac.cn
*通讯作者: 于晓南,博士,副教授. 研究领域:园林植物. E-mail:yuxiaonan626@126.com

helpful to the rejuvenation of hyperhydric plantlets. The percentage of normal shoots can reach 20.06% –34.37%.
Key words: *Paeonia lactiflora*; tissue culture; axillary shoots; hyperhydricity

芍药(*Peaonia lactiflora* Pall.)是我国的传统名花,有悠久的栽培历史,自古以来备受广大人民群众喜爱。芍药的常规繁殖方法以分株为主,繁殖系数难以提高,并受季节限制,很难满足现代大规模生产的需要[1]。植物组织培养技术进行快速繁殖,具有保持原有品种优良性状、繁殖周期短、繁殖系数高、便于大规模生产的优势。国内外采用地下芽培养取得了一定进展,对部分品种丛生芽的诱导、增殖和生根进行了研究,但在培养过程中组培苗存在严重玻璃化问题[2-6]。所谓玻璃化,是指离体培养中组织茎芽逐渐变成半透明状畸形植株的现象。玻璃化一旦产生,增殖系数明显下降,所形成的玻璃化苗移植不能成活,如果长时间在相同培养基上继代,则病变更趋严重,甚至死亡[2]。组培苗玻璃化已成为芍药属植物快速繁殖中提高繁殖率和增加培养过程稳定性的主要障碍,严重影响了后期组培苗的生根和移植工作[7]。玻璃化产生的原因是多样的:如培养基水势过高,培养容器相对湿度大,培养基细胞分裂素浓度高,较高的铵态氮比例等都可以导致玻璃化苗急剧增加。在芍药的研究中,有学者指出,外植体的生理状况、光照强度、继代次数、培养基中各成分浓度是芍药玻璃化出现的原因[2]。本研究以芍药重要观赏品种'种生粉'为对象,筛选适合芍药离体培养最佳的启动培养基、增殖培养基,重点解决培养过程中的玻璃化问题,进一步推进芍药离体快繁方面的进展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

所用的外植体取自北京市昌平区白浮试验基地,于2010年1月份和3月份采集芍药品种'种生粉'的地下芽,外植体采后用锡箔纸包封,放入4 ℃冰箱保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体处理 接种前,将地下芽用自来水清洗泥土,去掉外层鳞片,切除基部多余部分(0.5～1.0 cm);然后用洗洁精稀释液(300 mL水加入1～2滴洗洁精)浸泡20 min,自来水清洗1～2 h。在超净工作台上,用75%的酒精浸泡30 s,无菌水清洗1次,然后用0.1%的$HgCl_2$消毒10 min,无菌水清洗5次。用刀片剥去鳞片,切取顶端为外植体,接种到启动培养基上。

1.2.2 启动培养

1.2.2.1 IAA对启动培养的影响 以1/2 MS(Ca^{2+}加倍)+6-BA 1.0 mg·L^{-1}+GA_3 0.5 mg·L^{-1}为基本培养基,分别添加浓度为0、0.1、0.3、0.5 mg·L^{-1}的IAA(芍药常用基本培养基为1/2 MS,本研究在此基础上增加了钙离子含量)。

1.2.2.2 取材时间对启动培养的影响 以2010年1月(北京气温零度以下)和3月份(北京气温零度以上)所取的'种生粉'的地下芽为外植体,以1/2 MS(Ca^{2+}加倍)+6-BA 1.0 mg·L^{-1}+GA_3 1.0 mg·L^{-1}为培养基。

1.2.3 丛生芽诱导 以1/2 MS(Ca^{2+}加倍)+KT 0.5 mg·L^{-1}为基本培养基,并添加浓度分别为0.5、1.0、1.5、2.0 mg·L^{-1}的6-BA。

1.2.4 丛生芽增殖

1.2.4.1 不同生长素对丛生芽增殖的影响 以1/2 MS(Ca^{2+}加倍)+6-BA 0.2 mg·L^{-1}+GA_3 0.1 mg·L^{-1}为对照,并在该培养基上,分别添加0.05 mg·L^{-1}的IAA、IBA、NAA。

1.2.4.2 继代过程中玻璃化苗的复壮 以'种生粉'轻度玻璃化苗为外植体,以不添加任何激素的1/2 MS(Ca^{2+}加倍)为基本培养基,分别研究6-BA、活性炭(Ac)、硝酸铵、培养容器及封口材料对玻璃化苗生长的影响和以1/2 MS为基本培养基研究钙离子含量对玻璃化苗生长的影响。6-BA浓度分别设0、0.2 mg·L^{-1};AC用量分别为0、1、2 g·L^{-1};硝酸铵含量分别为825(CK)、412.5、206.25、0 mg·L^{-1};钙离子含量分别为440(CK)、880、1 320 mg·L^{-1}。1/2 MS培养基中,硝酸铵正常含量为825 mg·L^{-1},钙离子正常含量为440 mg·L^{-1}。

玻璃化苗逆转程度评价标准:+++,组培苗全部逆转,没有玻璃化,长势较为健壮;++,组培苗茎、叶柄轻度玻璃化,叶片没有玻璃化,长势一般;+,组培苗茎、叶柄、叶片严重玻璃化,组培苗畸形。

1.3 培养条件

培养基中均添加蔗糖30 g·L^{-1},琼脂7 g·L^{-1},pH值为5.7～5.8。培养温度为(25±4)℃,

光照时数 14 h · d^{-1},光强 1 500 ～2 000 lx。继代周期 30 d。所有试验均在北京林业大学实验楼进行。

1.4　数据处理

所有试验都进行 3 次或 3 次以上重复,采用 SPSS 软件进行分析,进行差异显著性检验。

2　结果与分析

2.1　启动培养

2.1.1　IAA 对启动培养的影响　由表 1 可以看出:不同浓度 IAA 只对侧芽萌发数的影响差异显著,对其它指标的影响差异不显著。添加 IAA 后,萌动率、侧芽萌发数、高度都有所上升。当 IAA 浓度为 0.1 mg · L^{-1}时,效果最好(图 1a),萌动率、侧芽萌发数、高度都达到最大值,分别为 92.80%、2.13 个和 4.22 cm,并且植株长势最好,萌动也较早,顶端枯黄率也比对照低(对照 IAA 浓度为 0 mg · L^{-1}时)。因此,在‘种生粉’启动培养过程中,添加 0.1 mg · L^{-1} IAA 较为适宜。

表 1　不同浓度 IAA 对启动培养的影响

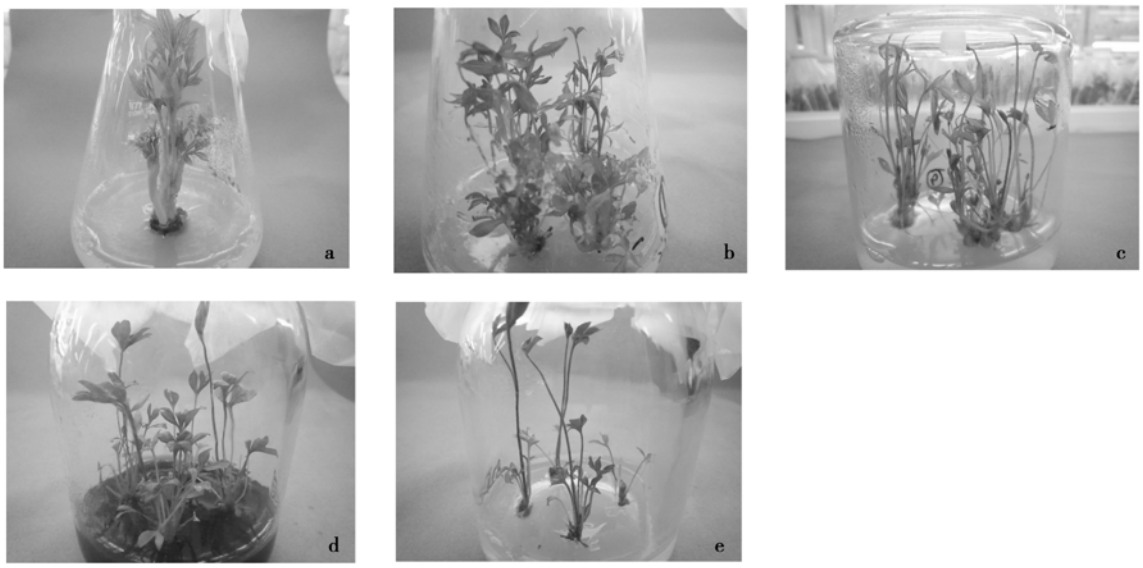
IAA 浓度 /(mg · L^{-1})	萌动率 /%	展叶率 /%	侧芽萌发数/个	顶端枯黄率 /%	高度 /cm
0.0	84.73 a	69.43 a	1.87 ab	22.77 a	4.00 a
0.1	92.80 a	55.67 a	2.13 b	17.43 a	4.22 a
0.3	80.57 a	51.87 a	1.45 a	30.00 a	4.10 a
0.5	92.13 a	60.63 a	1.57 a	26.97 a	4.09 a

注:在同一列数值后的不同字母表示 $P = 0.05$ 水平差异显著,以下同。

2.1.2　取材时间对启动培养的影响　由表 2 可以看出:春季 3 月份的取材效果比冬季 1 月份的好,春季 3 月气温逐渐升高,地下芽已发育充分,并开始萌动。此时取材萌动率高达 100.00%,展叶率、高度以及侧芽萌发数都比冬季 1 月份的高。试验过程中发现,春季 3 月份取材,地下芽非常饱满,侧芽较多,茎尖有红晕;接种后 5 d 开始萌动,萌动较快,10 d 后相继展叶。冬季 1 月份取材,气温较低,北京最低温度可达零下 10 ℃,此时取材的地下芽萌动漫,10 d 以后才开始萌动,20 d 后开始展叶。可见,芍药地下芽取材春季好于冬季,此时地下芽更充实饱满,营养物质充分,萌动更快,启动培养效果更好。

表 2　取材时间对启动培养的影响

取材时间(月)	萌动率/%	展叶率/%	高度/cm	侧芽萌发数/个
1	96.70 ± 5.78	61.50 ± 7.86	4.38 ± 0.15	1.62 ± 0.18
3	100.00 ± 0.00	92.60 ± 12.82	4.98 ± 0.95	1.80 ± 0.38



a. 地下芽的萌发;b. 丛生芽增殖;c. 玻璃化苗;d. 活性炭对玻璃化苗的改善; e. 铵盐对玻璃化苗的改善

图 1　地下芽培养过程

2.2　6-BA 对丛生芽诱导的影响

由表 3 可以看出:6-BA 浓度对丛生芽诱导率、主芽分化芽数、枯死率的影响差异显著,对侧芽分化芽数的影响差异不显著。6-BA 浓度为 0.5 mg ·

L^{-1}时诱导率最高,在1.5 mg· L^{-1}时诱导率最低;6-BA浓度为2.0 mg· L^{-1}时,主芽分化芽数最多,为5.67个,且显著比0.5、1.5 mg· L^{-1}的高。6-BA浓度对侧芽分化芽数的影响不显著,但在浓度为0.5 mg· L^{-1}时最高。6-BA浓度为2.0 mg· L^{-1}时枯死率最低,为6.67%,与浓度为1.5 mg· L^{-1}时差异显著。试验过程中发现,低浓度的6-BA诱导的丛生芽高度较低,长势较弱,叶片不开展。随着浓度的升高,丛生芽高度增加,叶片较伸展,长势较壮。综合以上因素,在"种生粉"丛生芽诱导阶段,选择2.0 mg· L^{-1}的6-BA较好。

表3 不同浓度6-BA对丛生芽诱导的影响

6-BA浓度/(mg· L^{-1})	诱导率/%	主芽分化芽数/个	侧芽分化芽数/个	枯死率/%
0.5	79.83 b	4.00 a	2.47 a	15.17 ab
1.0	79.43 b	4.52 ab	2.33 a	14.33 ab
1.5	62.03 a	3.89 a	2.45 a	20.37 b
2.0	71.67 ab	5.67 b	2.44 a	6.67 a

注:诱导率=诱导产生丛生芽的组培苗数/原接种组培苗数;枯死率=干枯死亡的组培苗数/原接种组培苗数。

2.3 不同生长素对丛生芽增殖的影响

由表4可以看出:不同生长素对丛生芽高度及玻璃化率影响的差异显著,对其(图1b)增殖倍数影响的差异不显著。添加生长素后,与对照相比,增殖倍数有所下降,玻璃化率大幅度升高。添加0.05 mg· L^{-1}的IAA或IBA后,在高度增加的同时,玻璃化率也增加了,尤其是添加IBA后,玻璃化率达到了40.91%。添加生长素NAA后,增殖倍数和高度都达到最低,并且组培苗基部产生了大量愈伤组织,有的组培苗叶片呈现畸形。综合分析认为,在'种生粉'丛生芽增殖过程中,不适宜添加生长素。

表4 不同生长素对丛生芽增殖的影响

生长素/(mg· L^{-1})	增殖倍数/倍	高度/cm	玻璃化率/%
CK	2.40 a	2.52 ab	7.01 a
IAA 0.05	2.36 a	2.62 b	37.45 b
IBA 0.05	2.33 a	2.70 b	40.91 b
NAA 0.05	2.22 a	2.40 a	12.50 a

2.4 玻璃化苗的复壮

2.4.1 *6-BA对玻璃化苗生长的影响* 由表5可以看出:即使在含较低浓度6-BA(0.2 mg· L^{-1})的培养基中,组培苗玻璃化程度也会加重,玻璃化苗逆转为正常苗的比例为0。添加6-BA后增殖倍数以及高度有所增加。在不添加6-BA的空白培养基中,玻璃化苗有所改善,玻璃化苗完全逆转为正常苗的比例为20.26%,严重玻璃化苗(图1c)的比例也相对较低。综合分析认为,较低浓度的6-BA也会加重组培苗的玻璃化,因此,当组培苗出现玻璃化时,应该去掉培养基中的6-BA,或改用其它细胞分裂素。

表5 6-BA对玻璃化苗生长的影响

6-BA/(mg· L^{-1})	玻璃化苗的逆转程度/%			增殖倍数/倍	高度/cm
	+	++	+++		
0.2	92.31	7.69	0	1.43	3.82
0.0	54.24	28.27	20.26	1.29	3.77

注:+++:组培苗全部逆转,没有玻璃化,长势较为健壮;++:组培苗茎、叶柄轻度玻璃化,叶片没有玻璃化,长势一般;+:组培苗茎、叶柄、叶片严重玻璃化,组培苗畸形。

2.4.2 *活性炭对玻璃化苗的改善* 由表6可以看出:活性炭对玻璃化苗的逆转程度、增殖倍数、高度的影响差异显著。添加活性炭后,严重玻璃化的组培苗比例显著降低,玻璃化苗逆转为正常苗的比例显著升高(图1d)。2种活性炭用量对玻璃化逆转程度的影响差异不显著,对增殖倍数和高度的影响差异显著。活性炭为2 g的效果明显优于1 g,玻璃化苗逆转为正常苗的比例达到最大值34.37%,比对照高出29.96%,严重玻璃化的组培苗比例最低,为39.28%,相比对照降低了40.98%。增殖倍数和高度也达到最高值,分别为1.71倍、4.02 cm。组培苗的玻璃化程度有很大改善,丛生芽长势较壮,叶片数量增多,叶片开展、较绿。试验过程中发现,添加活性炭后,个别组培苗叶片有枯黄、萎蔫的现象,可能是因为活性炭较强的吸附作用,在吸收培养基有害物质的同时,也吸附培养基中的营养物质,导致组培苗枯黄、萎蔫。综合分析认为,添加活性炭有利于组培苗玻璃化的克服,但考虑到它有一定的副作用,建议短时间内使用。

表6 活性炭(AC)对玻璃化苗的改善

AC/(g·L^{-1})	玻璃化苗的逆转程度/%			增殖倍数/倍	高度/cm
	+	++	+++		
0(CK)	80.26 b	15.33 a	4.41 a	1.42 a	3.77 b
1	42.61 a	23.17 a	34.22 b	1.34 a	2.79 a
2	39.28 a	26.36 a	34.37 b	1.71 b	4.02 b

注:+++:组培苗全部逆转,没有玻璃化,长势较为健壮;++:组培苗茎、叶柄轻度玻璃化,叶片没有玻璃化,长势一般;+:组培苗茎、叶柄、叶片严重玻璃化,组培苗畸形。

2.4.3 *硝酸铵对玻璃化苗的改善* 由表7可以看出:硝酸铵对玻璃化的逆转程度、高度的影响差异显著。完全去掉培养基中的硝酸铵可以显著改善玻璃

化的组培苗,严重玻璃化的组培苗比例明显比其他 3 种处理方式的低,玻璃化苗逆转为正常苗的比例(28.43%)以及轻度玻璃化的组培苗比例(21.24%)也达到最大,严重玻璃化的组培苗比例相比对照降低了 26.50%,组培苗的玻璃化程度减轻,叶片开展,叶片数量增多,植株转绿,长势逐渐变好(图 1e)。虽然降低硝酸铵含量至 1/2、1/4,并没有逆转玻璃化情况,但是试验过程中发现,降低硝酸铵含量以后,植株长势较好,叶片开展,较绿;而保持正常含量的硝酸铵时,组培苗的叶片会变得皱缩卷曲,组培苗长势较弱。此外,降低硝酸铵含量还可以抑制植株徒长,组培苗高度比对照的低。综合分析认为,完全除去培养基中的硝酸铵可以较为显著的改善组培苗的玻璃化现象。

表 7　硝酸铵和钙离子对玻璃化苗的改善

硝酸铵(钙离子)含量/(mg · L^{-1})		玻璃化苗的逆转程度/%			增殖倍数/倍	高度/cm
		+	+ +	+ + +		
硝酸铵	825.00(CK)	76.84 a	10.02 a	13.14 ab	1.36 a	4.70 b
	412.50	70.87 a	16.56 a	12.58 ab	1.34 a	3.84 a
	206.25	80.24 a	12.72 a	7.04 a	1.25 a	3.57 a
	0.00	50.34 b	21.24 a	28.43 b	1.17 a	4.15 ab
钙离子	440(CK)	78.52 a	10.74 a	10.74 a	1.23 a	4.27 b
	880(2 倍)	44.31 a	29.51 a	26.18 a	1.19 a	3.16 a
	1 320(3 倍)	56.97 a	28.17 a	14.86 a	1.32 a	4.81 b

注:+ + + :组培苗全部逆转,没有玻璃化,长势较为健壮; + + :组培苗茎、叶柄轻度玻璃化,叶片没有玻璃化,长势一般; + :组培苗茎、叶柄、叶片严重玻璃化,组培苗畸形。

2.4.4　钙离子对玻璃化苗的改善　由表 7 可以看出:钙离子含量对玻璃化苗的逆转程度和增殖倍数的影响差异不显著,但是当钙离子含量为 880 mg · L^{-1}(2 倍)时,玻璃化苗的逆转率最高,比对照升高了 15.44%,并且严重玻璃化的组培苗比例也最低,相比对照,降低了 34.21%,植株长势较好。钙离子含量对高度的影响差异显著,当钙离子含量为 440 mg · L^{-1}(CK)和 1 320 mg · L^{-1}(3 倍)时,组培苗高度显著高于 2 倍钙离子含量,高度增加了 1.11 ~ 1.65 cm,但是组培苗玻璃化程度加剧,植株徒长,茎和叶柄更加脆弱,叶片皱缩不开展,组培苗呈畸形。综合分析认为:培养基中较为合适的钙离子含量为 880 mg · L^{-1}(2 倍)较为适宜。

2.4.5　培养容器及封口材料对玻璃化苗的影响　由表 8 可以看出:不同的培养容器及封口材料对玻璃化苗逆转程度的影响差异显著,对组培苗高度和增殖倍数的影响差异不显著。当使用 100 mL 的玻璃三角瓶,以封口膜作为封口材料时,玻璃化苗逆转程度较高(20.06%),严重玻璃化的组培苗比例(52.89%)显著低于其他 2 种处理。虽然使用 200 mL 的圆口瓶时,封口材料对玻璃化逆转程度的影响差异不显著,但是试验中发现,使用塑料盖时,瓶内湿度较大,瓶壁周围有较多水珠,通气效果不好。玻璃化非常严重,组培苗徒长,透明度较高,叶柄变粗;叶片数量较少,叶片皱缩,卷曲,组培苗严重畸形。综合分析认为,培养容器选择 100 mL 的玻璃三角瓶,以封口膜作为封口材料较为适宜,此时严重玻璃化的组培苗比例最低,与其他两种处理的差异显著,瓶内透气性较好,有利于组培苗生长。

表 8　培养容器及封口材料对玻璃化苗的影响

处理	玻璃化苗的逆转程度/%			增殖倍数/倍	高度/cm
	+	+ +	+ + +		
塑料盖(容器:200 mL 的圆口瓶)	78.89 b	16.67ab	4.44 a	1.37 a	3.52 a
封口膜(容器:200 mL 的圆口瓶)	80.68 b	7.30 a	12.03 a	1.33 a	3.33 a
封口膜(容器:100 mL 的玻璃三角瓶)	52.89 a	27.06 b	20.06 a	1.34 a	3.46 a

注:+ + + :组培苗全部逆转,没有玻璃化,长势较为健壮; + + :组培苗茎、叶柄轻度玻璃化,叶片没有玻璃化,长势一般; + :组培苗茎、叶柄、叶片严重玻璃化,组培苗畸形。

3 讨论与结论

国内外一些学者做了丛生芽增殖阶段的相关研究,如郭风云[2]认为6-BA促进腋芽生成最有效,少量生长素可促进芽的生长;也有学者研究发现,单加6-BA可促进牡丹芽的增殖和生长,加入少量生长素后虽然提高了增殖倍数,但刺激了愈伤组织的过量形成,不利于芽的生长[8]。本试验表明:添加生长素后,与对照相比,增殖倍数有所下降,玻璃化率大幅度升高;因此,在'种生粉'丛生芽增殖过程中,不宜添加生长素。

培养基中的6-BA是导致试管苗玻璃化的一个重要原因,选择搭配合适的激素,适当降低培养基中的6-BA浓度或采用KT代替6-BA均可减轻玻璃苗的出现[9,13]。本研究认为,即使在含较低浓度6-BA($0.2\ mg \cdot L^{-1}$)的培养基中,组培苗玻璃化程度也会加重。Mujib等[10]认为BA才是试管苗玻璃化的根源,因此对于容易玻璃化的组培材料,应考虑其它细胞分裂素。此外,培养基中添加聚乙烯醇、活性炭及青霉素G钾等吸附物质可以减轻玻璃化的发生[13]。本研究中,培养基中添加活性炭,能显著改善严重玻璃化的组培苗,但是考虑到活性炭的吸附作用是无选择性的,故要用量适当或短时间内使用。在MS培养基中,减少或除去NH_4NO_3或采用低NH_4^+水平的B5或Heller's培养基,可减轻玻璃化的发生[13]。张翠玉等[11]在MS培养基中减少3/4的NH_4NO_3或完全除去NH_4NO_3,对减少月季玻璃苗产生的效果极显著。在瑞香的MS基本培养基中减去NH_4NO_3可以显著降低玻璃苗的发生频率[12]。国外在芦荟玻璃化的防治中做了大量的研究,比如采用低浓度的细胞分裂素和NH_4NO_3组合[14],使用硝酸盐或谷氨酸盐作为唯一的氮源,降低培养基中NH_4^+与NO_3^-的浓度比[15],改善培养瓶内的自然通风[16]。本研究得出,完全除去培养基中的硝酸铵可以较为显著的改善组培苗的玻璃化现象,仅仅降低硝酸铵含量对玻璃化苗的改善作用效果不明显。至于采用其它培养基或激素是否有助于芍药玻璃化苗的改善还有待进一步研究。

参考文献:

[1] 秦魁杰. 芍药[M]. 北京:中国林业出版社,2004

[2] 郭风云. 芍药组织培养技术的研究[D]. 北京:北京林业大学,2001

[3] 张庆瑞,孙建洲,任凝辉,等. 芍药组织培养技术研究[J]. 河南农业科学, 2006 (4): 88-90

[4] 王吉凤. 芍药组织培养研究[D]. 北京:北京林业大学,2009

[5] Takashi H, Michiko A, Takehito K. In vitro propagation of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) by a longitudinal shoot-split method [J]. Plant Cell Reports, 1989 (8): 243-246

[6] Daike T, Ken M. T, Fenny D. Comparison of shoot induction ability of different explants in herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) [J]. Scientia Horticulturae,2010(123): 385-389

[7] 储成才,李大卫. 牡丹组织培养中玻璃化现象的出现及初步观察[J]. 河南师范大学学报:自然科学版,1992,20(1):70-73

[8] 孔祥生,张妙霞. 牡丹离体快繁技术研究[J]. 北方园艺,1998,3(4):87-89

[9] 李娅莉,张 健,潘远智. 观赏植物组织培养过程中玻璃化现象与解决措施进展[J]. 四川农业大学学报,2004,22(3):278-282

[10] Mujib A, Pal A K. Intervarietal variation in response to in vitro cloning of carnation[J]. Crop Research Hisar,1995,10:190-194

[11] 张翠玉,廖 晴. 月季试管苗玻璃化原因及控制方法研究[J]. 新疆农业科学,1991(2):76-78

[12] 周菊华,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

[13] 刘青林,马 祎,郑玉梅. 花卉组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2003

[14] Ivanova M, van Staden J. Effect of ammonium ions and cytokinins on hyperhydricity and multiplication rate of in vitro regenerated shoots of *Aloe polyphylla*[J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 2008, 92:227-231

[15] Ivanova M, van Staden J. Nitrogen source, concentration, and NH_4^+: NO_3^-ratio influence shoot regeneration and hyperhydricity in tissue cultured *Aloe polyphylla* [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 2009, 99:167-174

[16] Ivanova M, van Staden J. Natural ventilation effectively reduces hyperhydricity in shoot cultures of *Aloe polyphylla* Schonland ex Pillans [J]. Plant Growth Regul, 2010, 60:143-150