

防止香蕉茎尖培养中外植体褐变的研究* (简报)

78-80

黄霞 黄学林 高东微

S668 1055

(中山大学生命科学院, 广州 510275)

摘要 在香蕉茎尖培养的培养基中加入活性炭 (AC) 或与维生素 C (Vc) 配合使用均能改善外植体褐变情况。其中以 AC 2.0 g/L + Vc 0.1 g/L 组合最佳。

关键词 香蕉; 茎尖培养; 活性炭; 维生素 C; 褐变

Studies on preventing explants from brown in shoot tip culture of banana

Huang Xia Huang Xuelin Gao Dongwei

(School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

Abstract In the shoot tip culture of banana, the brown of explants could be decreased by adding activated charcoal or by using both activated charcoal and vitamine C. And using both 2.0 g/L AC and 0.1 g/L Vc was the best choice.

Key words Banana; shoot tip culture; activated charcoal, vitamine C; brown

香蕉是世界第二大宗、也是华南地区第一大宗水果⁽¹⁾。由于香蕉试管苗广为推行,使香蕉的生产得到迅速的发展。然而在实践中出现了一些遗传变异之外的严重问题,就是现在流行的试管苗易带病毒,并易扩散和传染,其抗性亦差。因此急需培育出一些既能抗病、抗寒,又能耐运输,耐贮藏,且无生产淡季的优质香蕉。由于多数栽培香蕉为三倍体,无种子,上述的优质香蕉靠传统的育种方法是难于奏效的,而利用组织培养方法结合基因工程的生物技术可望解决上述问题。但是目前适合于华南地区香蕉基因转化及其植株再生体系的完善技术尚未建立,其中利用茎尖快繁的植株再生方法结合农杆菌介导的基因转化技术是值得探索的有前途的方法。该法已有成功例子⁽⁸⁾,但仍有待完善。其中的问题之一就是在香蕉茎尖培养中茎尖切而极易褐变,导致转化失败,甚至会导致外植体死亡。而农杆菌只能感染到外植体创伤表面活细胞,且其一般只有在创伤部位生存了 16 h (细胞调节期)后,其为植物转化所必须的细菌功能才被诱导出来,才能起转化作用。活性炭和维生素 C 是常用的抗褐化物质,本文研究它们在防止果用香蕉茎尖培养过程中外植体褐变方面的作用。

1997-12-16 收稿

第一作者简介 黄霞,女,1974年出生,中山大学生命科学院96级硕士生,研究方向为植物发育生理和分子生物学。
*广州市科委高科技课题资助项目

1 材料和方法

1.1 材料

广东2号 (*Musa var. AAA Cavendish subgroup*) 香蕉试管苗, 由广州市蔬菜研究所组织培养室提供。各种处理的香蕉试管苗的代数均为第八代, 培养条件和时间均相同。

1.2 方法

将香蕉试管苗茎尖纵剖后, 取生长点部分作外植体, 用无菌镊子浅插入培养基。

培养基以 MS^[8] 为基本培养基, 另加 0.4 mg/L NAA 和 2.0 mg/L 6-BAP 或不加激素。各种浓度的活性炭 (AC, 0~3.0 g/L) 在培养基配制时加入, 维生素 C (Vc, 0~3.0 g/L) 则在无菌条件下过滤加入灭菌后的培养基中。接种后, 放在 26 ± 2 °C 和 1000 lx 12 h 光照下培养。一周后分别统计不变褐外植体的数目和变褐外植体出苗的数目, 并进行结果分析。

2 结果和讨论

2.1 AC 对香蕉茎尖培养过程中外植体褐变的影响

比较表 1、表 2 可知: 激素的存在对不变褐外植体的百分率影响不大, 但会提高变褐外植体的出苗率, 即提高了外植体再生能力。不过, 有或无激素, 不同浓度 AC 对外植体褐变影响趋势是相同的: 即所有处理的香蕉茎尖不变褐百分率均高于对照。

在 0.5~2.0 g/L AC 浓度范围内, 随着浓度的增加, 百分率也逐渐增大, 当 AC 浓度增至 2.5 g/L 后, 百分率开始下降。至于变褐外植体的出苗率, 在 0.5~2.0 g/L 浓度范围内, 随着 AC 浓度的增加而增大, AC 浓度增加到 2.5 g/L 后, 出苗率也开始下降。且较对照的低, 说明在 0.5~2.0 g/L 的范围内, 可发挥 AC 吸附特性的正效应; 当浓度继续增加, 则出现负效应, 并且, 防止香蕉茎尖培养过程中外植体褐变的 AC 最适浓度并不因激素的存在而改变。

2.2 香蕉茎尖培养中, Vc 对外植体褐变的影响

统计分析实验结果后, 发现有或无激素时, Vc 对外植体褐变的影响倾向相同, 即防褐化的最适组合相同, 所以下面只以无激素时的培养结果为代表。

由表 3 可看出: Vc 不但不能增加外植体不变褐的百分率, 而且随着其浓度的增加, 出苗率下降。说明 Vc 会降低外植体的再生能力, 且 Vc 加深褐化程度。

由表 4 可知: Vc 与 AC 配合使用在一定浓度范围内 (0.05~0.10 g/L), 不变褐外植体的百分率

表 1 无激素时, 不同浓度 AC 对外植体褐变的影响

Table 1 The effect of various concentrations of AC on the brown of explant, without hormone

AC 浓度 concentration of AC (g/L)	不变褐外植体百分率 percentage of the non- brown explant (%)	变褐外植体出苗率 shoot regeneration from the brown explant (%)	褐化颜色 degree of brown
0.0	0.00	61.00	++++
0.5	30.00	64.00	++++
1.0	33.33	66.67	+++
1.5	50.00	70.00	++
2.0	65.00	75.00	+
2.5	56.25	47.06	++
3.0	52.63	45.00	++

“+”的多少, 说明外植体褐化的程度, 下同。

表 2 有激素时, (0.4 mg/L NAA + 2.0 mg/L 6-BAP), 不同浓度 AC 对外植体褐变的影响

Table 2 The effect of various concentrations of AC on the brown of explant, with hormone (0.4 mg/L NAA + 2.0 mg/L 6-BAP)

AC 浓度 concentration of AC (g/L)	不变褐外植体百分率 percentage of the non- brown explant (%)	变褐外植体出苗率 shoot regeneration from the brown explant (%)	褐化颜色 degree of brown
0.0	0.00	64.00	++++
0.5	29.47	66.67	++++
1.0	32.58	71.43	+++
1.5	48.62	73.68	++
2.0	63.11	77.78	+
2.5	56.63	52.94	++
3.0	53.56	50.00	++

会增大。虽然变褐外植体出苗率有所下降,但考虑到农杆菌的转化特点,即只能侵入切口表面活细胞,则 2.0 g/L AC 与 0.10 g/L Vc 配合使用时最理想。

3 讨论

茎尖培养时,为防止褐变和有害物质的积累,常在培养基中加入适量 AC,这已有不少报道^[2,12]。一般认为 AC 通过吸附而发生作用^[7,9,10]。其可吸附培养基中的有害物质,包括琼脂中所含的杂质^[3,4],外植体在培养过程中分泌的酚、醌类物质^[2,3,11]以及蔗糖在高压消毒时产生的 5-羟甲基糠醛^[3,4]。但其同时又能吸附生长调节物质、维生素 B₆、叶酸和烟酸^[1,3]等有益物质。因此,必须考虑 AC 的用量。由本试验即可看出,在一定浓度范围内,AC 可发挥其吸附特性的正效应,即吸附对外植体分化发育有害的物质;当浓度继续增加则出现负效应,即吸附对外植体分化发育有益的物质。这与朱海山^[5]在“活性炭对玉米花药培养的影响”一文中所述的结果相似。

在防止褐变方面,王敬驹等^[2]研究表明,AC 的防褐

效果优于 Vc 和半胱氨酸。本试验也发现,AC 可改善外植体褐变情况,而 Vc 不仅不能改善外植体褐变情况,反而使其褐化程度加深。但当 Vc 与 AC 配合使用时,其合适的浓度组合却比只使用相同浓度的 AC 时更能改善外植体褐变情况,其中机理尚不清楚,有待进一步研究。

表3 无 AC 时,不同浓度 Vc 对外植体褐变的影响

Table 3 The effect of various concentrations of Vc on the brown of explant, without hormone AC

Vc 浓度 concentration of Vc (g/L)	不变褐外植体百分率 percentage of the non- brown explant (%)	变褐外植体出苗率 shoot regeneration from the brown explant (%)	褐化颜色 degree of brown
0.0	0.00	62.50	++++
0.5	0.00	31.25	++++
1.0	0.00	30.74	++++
1.5	0.00	28.43	++++
2.0	0.00	20.67	++++
2.5	0.00	18.00	++++
3.0	0.00	14.29	++++

表4 AC 结合 Vc 对外植体褐变的影响

Table 4 The effect of AC together with Vc on the brown of explant

AC 浓度 concentration of AC (g/L)	Vc 浓度 concentration of Vc (g/L)	不变褐外植体百分率 percentage of the non- brown explant (%)	变褐外植体出苗率 shoot regeneration from the brown explant (%)	褐化颜色 degree of brown
2.0	0.00	63.16	74.68	+
2.0	0.05	66.67	63.53	+
2.0	0.10	72.22	62.71	+
2.0	0.50	43.75	33.33	++

参考文献

- 卜学贤,陈维伦.活性炭对培养基中生长调节物质的吸附作用.植物生理学报,1988,14(4):401~404
- 王敬驹,匡柏健,曾慧.提高甘蔗组织培养效果的研究.植物学通报,1983,1(2):17~20
- 刘用生,李友勇.植物组织培养中活性炭的使用.植物生理学通讯,1994,30(3):214~217
- 朱至清.花药和花粉培养.见:罗士书,许智宏主编,经济植物组织培养.北京:科学出版社,1988:37
- 朱海山.活性炭对玉米花药培养的影响.植物生理学通讯,1996,32(1):16~18
- 许林岳(执笔),杨护,韩路,徐少峰编著.香蕉生产技术.广州:中山大学出版社,1992:4
- Fridborg G, Eriksson T. Effects of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell culture. *Physiol plant*, 1975, 34: 306~308
- Gregory D M, Rowan A, Hugh S M *et al.* Generation of transgenic banana (*Musa acuminata*) plants via *Agrobacterium*-mediated transformation. *Biotechnology*, 1995, 13: 486~492
- Kohlenbach H W, Wernicke W. Investigations on the inhibitory effect of agar and the function of active carbon in anther culture. *Z pflanzenphysiol*, 1978, 86: 462
- Martineau B, Hanson M R, Ausubel F M. Effect of charcoal and hormones on anther culture of *Petunia* and *Nicotiana*. *Z. Pflanzenphysiol*, 1981, 102: 109
- Owen H R, Wengerd D, Miller A R. Culture medium pH is influenced by basal medium, carbohydrate source, gelling, activated charcoal and medium storage method. *Plant Cell Reports*, 1991, 10: 583~586
- Rathore T S. Micropropagation of jujube by *in vitro* culture. *Sci Horticult (Amsterdam)*, 1992, 51(1~2): 165~169