

# 几种药物抑制桑树组培苗褐化的研究

王照红<sup>1</sup>, 衣葵花<sup>1</sup>, 周象海<sup>1</sup>, 杜建勋<sup>1</sup>, 孙日彦<sup>1</sup>, 李竹林<sup>2</sup>

(1. 山东省蚕业研究所, 山东 烟台 264002; 2. 招远市夏甸镇政府, 山东 招远 265415)

**摘要:** 组培苗褐化是桑树组培中的难题。培养基中加入聚乙烯吡咯烷酮(PVP K-90)、L-赖氨酸、活性炭粉和L-抗坏血酸均能抑制组培苗褐化, 添加聚乙烯吡咯烷酮(PVP K-90)0.7 g/L可使转接时间延长至25~30天, 效果显著, 其它药物不明显。

**关键词:** 褐化; 组培苗; 聚乙烯吡咯烷酮(PVP K-90); 桑树

**中图分类号:** S888.3<sup>+</sup>22 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-4942(2008)07-0069-02

## Study on Several Medicaments for Browning Inhibition of Mulberry Seedling During Tissue Culture

WANG Zhao-hong<sup>1</sup>, YI Kui-hua<sup>1</sup>, ZHOU Xiang-hai<sup>1</sup>, DU Jian-xun<sup>1</sup>, SUN Ri-yan<sup>1</sup>, LI Zhu-lin<sup>2</sup>

(1. Sericultural Research Institute of Shandong Province, Yantai 264002, China;

2. Government of Xiadian Town, Zhaoyuan 265415, China)

**Abstract** The seedling browning is a puzzle during tissue culture of mulberry. It could be restrained by adding PVP K-90, L-lysine, activated carbon powder and L-ascorbic acid respectively into the culture medium. The translating time could be prolonged to 25~30 days after the culture medium had been added PVP K-90 of 0.7 g/L, whose effect was more significant than that of the other medicaments in this test.

**Key words** Browning; Seedling of tissue culture; PVP K-90; Mulberry

基因工程越来越多地应用于桑树育种及桑苗快繁等方面<sup>[1-3]</sup>, 组培是其重要一环。桑树组培过程中, 组培苗极易出现根部褐化现象。在褐变过程中, 产生醌类物质, 多呈棕褐色, 当扩散到培养基后, 就会抑制其它酶的活性, 从而影响所接种外植体的培养<sup>[4-6]</sup>。邱璐等<sup>[7]</sup>研究了桑树生理、培养基组分、转种周期和光照等因素对组培苗褐化的影响。目前, 抑制桑树组培苗褐化的方法主要有频繁转接、加入L-赖氨酸、活性炭粉等, 频繁转接最有效, 一般以15~20天转接一次为宜, 但工作量大; 而上述几种药物对组培苗褐化的抑制影响不大。本研究就是通过几种药物的对比试验, 以期筛选出能有效抑制组培苗褐化的药物。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 试验桑树品种 昌盛, 为本所选育的新品种, 取自本所试验桑园。

1.1.2 药物 聚乙烯吡咯烷酮K-90(PVP K-90), Xamen Sanland Chemicals Company Limited; 活性炭粉(C), 天津市瑞金特化学品有限公司; L-抗坏血酸(C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>), Xamen Sanland Chemicals Company Limited; L-赖氨酸(C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Sanland-chem International Inc.。

### 1.2 试验处理

1.2.1 药物筛选 试验设5个处理: ①普通培养基+PVP K-90(1 g/L); ②普通培养基+L-赖氨酸(1 g/L); ③普通培养基+活性炭粉(1 g/L); ④普通培养基+L-抗坏血酸(1 g/L); ⑤对照为普通培养基: MS+6-BA 1.2 mg/L+2, 4-D 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂粉 8 g/L, 灭菌前 pH 值 5.8。

收稿日期: 2008-04-22

基金项目: 山东省农业科学院高新技术自主创新基金项目(编号 2007-YCX014)

作者简介: 王照红(1969-), 男, 副研究员, 主要从事桑树保护和育种方面研究。E-mail: wzh1788@163.com

外植体为3年生昌盛春季顶梢芽,每种培养基接入外植体50个,在温度(25±1)℃、光照12h/d、光照强度3000Lx下培养。分别在15、20、25、30d调查褐化情况。

1.2.2 药物浓度筛选 普通培养基同“1.2.1”。设计普通培养基分别加入PVP K-90 1.0、0.7、0.5g/L 3个处理。外植体处理同“1.2.1”。

## 2 结果与分析

### 2.1 药物筛选

表1表明,4种药物对桑树组培苗的褐化均有一定的抑制作用,其褐化率均低于对照。但加入赖氨酸、活性炭及L-抗坏血酸的培养基,15天时已有40%以上的组培苗出现褐化现象,25天时有80%左右出现褐化,并有部分组培苗死亡;而加入聚乙烯吡咯烷酮(PVP K-90)的培养基则在培养15、25天时的褐化率分别为0和16%,极显著低于其它处理,表明加入聚乙烯吡咯烷酮(PVP K-90)对抑制桑树组培苗褐化有良好的作用。

表1 药物对褐化的影响

处理	接种芽数(个)	15天		20天		25天		30天	
		褐化苗数(株)	褐化率(%)	褐化苗数(株)	褐化率(%)	褐化苗数(株)	褐化率(%)	褐化苗数(株)	褐化率(%)
1	50	0	0	6	12	8	16	20	40
2	50	22	44	33	66	41	82**	45	90
3	50	23	46	34	68	41	82**	46	92
4	50	21	42	32	64	38	76**	43	86
5	50	26	52	39	78	45	90**	47	94

### 2.2 药物浓度筛选

由表2看出,15天时3种浓度处理的组培苗褐化率无差别。20天时出现了较大差别,添加0.5g/L PVP K-90的组培苗褐化率明显高于另两浓度处理,但未达显著水平;至25天时,其褐化率已显著高于其它处理。由于25天时,1.0g/L和0.7g/L浓度处理的组培苗褐化率无明显差异,

综合考虑,在培养基中加入0.7g/L的聚乙烯吡咯烷酮(PVP K-90)即可显著抑制桑树组培苗的褐化,达到试验目的。

表2 培养基中PVP K-90浓度对褐化的影响

PVP K-90浓度(g/L)	接种芽数(个)	15天		20天		25天	
		褐化苗数(株)	褐化率(%)	褐化苗数(株)	褐化率(%)	褐化苗数(株)	褐化率(%)
1.0	50	0	0	6	12	9	18
0.7	50	0	0	6	12	10	20
0.5	50	0	0	10	20	20	40*

## 3 结论

桑树在组培过程中,组培苗褐化现象严重,如不加入抑制药物或进行频繁转接,则会导致组培苗中毒褐化而死,影响组培进程。

本研究探讨了在培养基中加入抗氧化剂对抑制桑树组培苗褐化的作用效果。聚乙烯吡咯烷酮(PVP)是酚类物质的专一性吸附剂,在培养基中加入0.7g/L的聚乙烯吡咯烷酮K-90(PVP K-90)对抑制桑树组培苗的褐化效果显著,可使转接时间延长至25~30天,减少无菌体系建立过程中的转接次数,减轻工作量。

## 参 考 文 献:

- [1] 管志文,张清杰,庄楚雄,等. 农杆菌携带柞蚕抗菌肽基因转入桑树的研究[J]. 蚕业科学,1994,20(1):1-6.
- [2] 王洪利. 桑树转水稻半胱氨酸蛋白酶抑制剂(Oryzacystatin)基因的研究[D]. 杭州:浙江大学,2002.
- [3] 王勇,陈爱玉. 植物基因工程技术及其在桑树上的应用前景[J]. 蚕业科学,1994,20(4):235-238.
- [4] 王秀丽,杨煜,徐平丽,等. 植物组织培养的应用及进展[J]. 山东农业科学,2005,3:78-80.
- [5] 王玉珍,徐进,罗景兰,等. 草樱花组培快繁技术的研究[J]. 山东农业科学,2004,6:6-8.
- [6] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1990,67-219.
- [7] 邱璐,陈善娜,杨跃仙,等. 云桑组织培养中褐化问题的研究[J]. 蚕业科学,2000,26(2):118-119.