

特种石墨材料在植物组织培养中的作用*

李玉峰** 赖 奇 刘国钦 龚子端 杨建松

(攀枝花学院生物与化学工程系, 攀枝花市细鳞片石墨深加工重点实验室)

摘 要 以膨胀石墨为 MS 培养基的辅助成分、月季和苏铁为外植体, 进行组织培养。通过对照实验, 研究膨胀石墨对培养基成分、组织细胞的生长变化的影响。结果发现: 加入了膨胀石墨的 MS 培养基的染菌比例在 40% 以下, 成活率达到 87.5%, 而未加膨胀石墨的染菌比例在 70% 以上, 成活率为 25%。实验证实: 加入了膨胀石墨的 MS 培养基有明显的抑菌能力, 并能促进植物生长。

关键词 膨胀石墨 组织培养 抑菌作用 成活率

0 前言

膨胀石墨是由天然鳞片石墨经插层处理、水洗、干燥、高温膨化制得的一种疏松多孔的蠕虫状物质, 也叫蠕虫石墨。因膨胀石墨的孔结构丰富, 且以大孔居多, 因而有良好的吸附性能。膨胀石墨以石墨为原料, 碳含量丰富, 而碳对于植物的组织生长具有重要意义。此外, 随膨胀石墨的制备条件不同, 还含有 N、P、S 等元素, 而这些元素对植物生长同样具有重要意义。同时, 采用与膨胀石墨有相似作用的活性炭作为组织培养的辅助成分的研究已得到应用^[1]。因而膨胀石墨有可能作为植物生长的理想载体。目前膨胀石墨主要应用在无机工业如密封、吸附等领域中, 在生物方面应用的研究较少, 仅有清华大学曹及珍等^[2]提到膨胀石墨具有一定抑菌作用, 有部分文献^[3]介绍了膨胀石墨对生物体液吸附的研究, 但在生物其它方面的应用研究还未见报道。本

文通过在培养基中添加膨胀石墨, 以月季等为培养对象, 研究了膨胀石墨在植物培养^[4~7]中的作用。

1 实验

实验采用天然鳞片石墨为原料, 通过化学氧化法经酸化将石墨置入硫酸及硝酸的混酸溶液中搅拌均匀, 待 10min 后加入 12% 的强氧化剂再次搅拌均匀, 再间歇搅拌 50min, 完成氧化处理。将经氧化处理的石墨分别进行脱酸、水洗, 至 pH 值为 5~7 后将其晾干, 即成为可膨胀石墨。将可膨胀石墨在普通箱式电阻炉中于 $950 \pm 20^\circ\text{C}$ 下膨胀, 形成为膨胀石墨。将膨胀石墨与 MS 培养基混合后置于锥形瓶中。以观赏月季的茎尖作为培养材料, 在灭菌条件下, 将月季外植体立即接种在培养基中, 每瓶培养基接种 3~5 个。接种后, 锥形瓶用无菌药棉封口。然后将月季置于 LRH-300-CSI 型智能人工气候箱中培养, 温度为

* 四川省应用基础研究项目 (03JY029-011); 攀枝花市科技计划项目。

** 李玉峰, 男, 1975 年生, 讲师。攀枝花市, 617000。

21~25℃, 光照度为 1000Lx, 湿度为 70%~85%, 间歇光照。通过对照实验, 记录培养成功的植株的比例, 由成活率的高低作为判断培养成功的标准, 从而得出膨胀石墨在植物组织培养中的作用。

2 实验结果

2.1 膨胀石墨的抑菌现象

以加入膨胀石墨的培养基和未加膨胀石墨的培养基为对照组, 在自然条件下放置 12 天后观察其染菌情况。三次实验的结果如表 1 所示。

表 1 培养基的抑菌对照实验结果

培养基	接种数	染菌数	染菌率/%
加入膨胀石墨	16	4	25
未加膨胀石墨	8	8	100
加入膨胀石墨	10	2	20
未加膨胀石墨	10	7	70
加入膨胀石墨	5	2	40
未加膨胀石墨	5	2	100

由表 1 可见, 普通 MS 培养基在自然条件下放置 12 天后, 其染菌情况分别为 100%、70% 及 100% 以上, 而加入了膨胀石墨的 MS 培养基的染菌情况为 25%、20% 及 40%, 加入膨胀石墨的培养基抑菌能力得到了明显改善。

2.2 膨胀石墨在促进生长方面的作用

培养基经高压灭菌后, 以 6BA 及 IAA 为激素, 观赏月季的茎尖作为培养材料, 以加入膨胀石墨的培养基和未加膨胀石墨的培养基为对照组, 在人工气候箱中培养 28 天后, 进行观察。月季组织的发芽情况如表 2 所示。

表 2 月季在培养基中的对照培养结果

检测项目	接种数	发芽数	成活率/%
加入膨胀石墨	16	14 (10)	87.5 (62.5)
未加膨胀石墨	8	2 (1)	25 (12.5)

注: 括号内数字为发芽情况较好者。

由表 2 可知, 月季外植体在普通 MS 培养基中 28 天后有 25% 成活率, 其中 12.5% 长势

良好。而在加入膨胀石墨的 MS 培养基中, 月季外植体成活率达到了 87.5%, 其中 62.5% 长势良好。

同样以加入膨胀石墨的培养基和未加膨胀石墨的培养基为对照组, 以 NAA 及 IAA 为激素, 苏铁作为培养材料, 在人工气候箱中培养 28 天后, 苏铁组织的发芽情况如表 3 所示。

表 3 苏铁在培养基中的对照培养结果

检测项目	加膨胀石墨样	未加膨胀石墨样
接种数	32	16
发芽数	10	0
愈伤组织数	6	0
褐变强度	高	低

由表 3 可知, 对于苏铁而言, 不管培养基中是否有膨胀石墨, 苏铁外植体都没有发芽。但可明显观察到苏铁组织有愈伤组织出现, 且不加膨胀石墨的苏铁褐化现象严重。

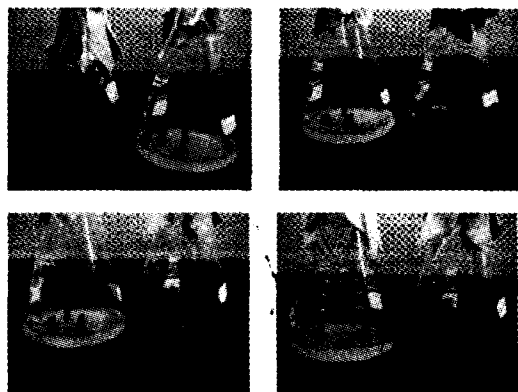


图 1 加膨胀石墨与未加膨胀石墨的培养基中月季发芽情况对比 (试瓶中黑色者为添加了膨胀石墨的培养基)

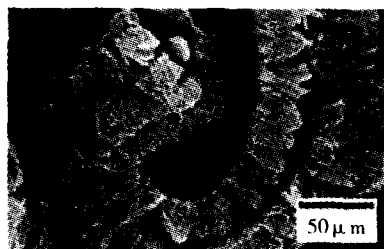
3 结果讨论

3.1 膨胀石墨的吸附作用

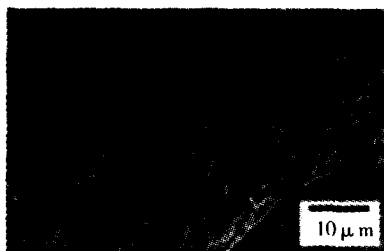
文献[2]对膨胀石墨抑菌能力方面有一定的研究, 认为膨胀石墨较强的吸附作用改变了细菌生长的环境, 同时也对细菌产生了吸附, 从而产生抑菌现象。

通过扫描电镜, 可以比较清楚地显示出膨

胀石墨的孔隙结构(如图2所示),而且还可观察到膨胀石墨的孔隙尺寸以微米量级的大孔为主。作为对扫描电镜观察的补充,压汞法测试能测到膨胀石墨的孔隙直径在 $0.2567\mu\text{m}$ 左右的分布是最为广泛的(见表4)。



(a)



(b)

图2 膨胀石墨的孔结构

表4 不同粒度膨胀石墨的孔容积、中值孔径和平均孔径

检测项	孔容积/ $\text{ml}\cdot\text{g}^{-1}$	中值孔径/ μm	平均孔径/ μm
膨胀石墨	3.3463	1.2047	0.2567

然而,就膨胀石墨的抑菌能力来讲,膨胀石墨的孔隙与之不存在明显的直接关系,因此其抑菌能力的存在原因还有待于进一步研究。

3.2 膨胀石墨的促生长作用

在组织培养中,膨胀石墨首先是作为一种非极性物质出现的。由于非极性的作用,膨胀石墨能在组织培养基中吸附营养大分子物质及其它非极性的物质。在吸附过程中,其吸附对组织生长不利的物质的能力大于吸附营养大分子物质,从而在总体上降低了植物组织培养中的不利因素的影响,进而对植物的生长产生一定的促进作用。这种影响由膨胀石墨对有机物

的吸附能力实验(如表5所示)可得到证实。

表5 膨胀石墨对有机物的吸附能力

种类	酚	油	氨、氮
吸附率/%	15~25	60~80	10~20

当然,膨胀石墨中的元素成分对组织培养也有着重要作用。这些元素对促进植物生长的作用已得到广泛的证实。表6是膨胀石墨的主要成分含量。

表6 膨胀石墨的成分

元素	C	S	N
含量/%	98	1.4	<0.1

4 结论

(1) 在MS培养基中,膨胀石墨抑制细菌生长的效果明显;

(2) 在MS培养基中,膨胀石墨对月季的组织培养的成活率有明显的促进作用;

(3) 在MS培养基中,膨胀石墨对促进苏铁组织形成愈伤组织及抑制褐化现象有一定的作用。

参 考 文 献

- [1] 汤福生,李欣华,陈锐.生物医学工程用炭质植入物和吸附材料[J].炭素,2001(2):29-32.
- [2] 曹乃珍,沈万慈,温诗铸,刘英杰.特种石墨材料的抑菌作用研究[J].中国生物医学工程学报,1996(3):287-288.
- [3] 康飞宇,郑永平,兆恒,王海宁,王鲁宁,沈万慈,稻垣道夫.膨胀石墨对重油和生物体液的吸附——来自中国的研究(英文)[J].新型炭材料,2003(3):161-173.
- [4] 姜洪波,贾桂霞,丁琼.草本威灵仙的组织培养与快速繁殖[J].园艺学报,2004(3):400-402.
- [5] 刘真华,葛红,郭绍霞,刘洪涛,曹灿景,周玉杰,李秋香.蝴蝶兰组织培养中的褐化控制研究[J].园艺学报,2005(4):732-734.
- [6] 朱靖杰,莫玲华,陆升团.鸡蛋花组织培养的研究[J].园艺学报,2005(3):540.
- [7] 陈银龙,赖小芳,王伯诚,刘守坎.植物组织培养中液体生根培养基的研究与应用[J].植物生理学通讯,2006(3):596.

(收稿日期:2007-06-01)