



金丝小枣 组织培养中的抗褐化研究

■ 朱金英, 王友平, 高凤菊 (山东省德州市农业科学研究院 253015)

近几年, 利用金丝小枣的主芽、不定芽、茎段、胚等进行组织培养, 已经有很多成功的报道。但对金丝小枣组织培养中褐化问题的研究, 还鲜见报道。金丝小枣是落叶木本植物, 组织中含有较高的酚类化合物, 组织培养中褐化现象严重, 对诱导外植体的脱分化和再分化产生严重影响, 甚至导致组培苗的褐化死亡。本文以乐陵无核金丝小枣为材料, 研究了影响外植体褐化的有关因素, 旨在探索控制褐化现象发生的有效途径。

材料与方法

材料

乐陵无核金丝小枣(3月初采于山东乐陵市百枣园)的当年生优质、粗壮根蘖条的健壮水培芽。

试验方法

采用单因子试验, 每组试验均设对照并重复3次, 接种后30天统计褐化率。

生长调节剂对褐化的影响

采用改良MS培养基, 设MS + BA 0.5 + IBA 0.2、MS + BA 1.0 + IBA 0.2、MS + BA 1.5 + IBA 0.2和MS + BA 2.0 + IBA 0.2等4个处理, 每组接种50个芽, 白砂糖30 g/L, 琼脂7 g/L, 灭菌前pH值6.2, 光照16 h/d, 光照度3000 Lx, 温度25~28℃(以下试验培养条件均相同)。

培养基硬度对褐化的影响

培养基均为改良MS + BA 0.5 + IBA 0.2, 白砂糖30 g/L, 琼脂用量分5.0、6.0、7.0 g/L等3种。

pH值对褐化的影响

改良MS + BA 0.5 + IBA 0.2, 琼脂7 g/L, 白砂糖30 g/L(以下试验培养基均同此), pH值分5.4、6.2、6.7等3种。

不同防褐剂对褐化的影响

培养基中分别加入抗坏血酸(Vc)、硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和活性炭(AC)等4种防褐剂。

转种周期长度对褐化的影响

将培养基分每15天转种1次和每30天转种1次两种处理。

培养条件(光照及培养温度)对褐化的影响

分为2种处理: 接种后进行3天的暗处理, 温度15~18℃和接种后置于3000 Lx, 25~28℃条件下培养。

结果与分析

BA的浓度对褐化的影响

从表1可知, BA浓度低, 褐化率低, 褐化轻; 随BA浓度的提

高, 褐化率升高, 褐化变重。

表1 BA浓度对褐化的影响

BA (mg/L)	接种芽数(个)	褐化芽数(个)	褐化率(%)
0.5	50	7	14
1.0	50	8	16
1.5	50	10	20
2.0	50	12	24

培养基硬度对褐化的影响

从表2可知, 琼脂用量大, 培养基硬度大, 褐化率低。随琼脂用量的减少, 培养基硬度减小, 褐化率升高, 褐化严重。

表2 培养基硬度对褐化的影响

琼脂用量(g/L)	接种芽数(个)	褐化芽数(个)	褐化率(%)
5.0	50	17	34
6.0	50	6	12
7.0	50	3	6

pH值对褐化的影响

从表3可知, pH值6.2时, 褐化率最低, 外植体排出的褐化物少, 植株长势旺; pH值升高或降低, 均使褐化严重, 排出的褐化物较多, 植株黄弱。

表3 pH值对褐化的影响

pH值	接种芽数(个)	褐化芽数(个)	褐化率(%)
5.4	50	11	22
6.2	50	6	12
6.7	50	15	30

防褐剂对褐化的影响

从表4可知, 不同种类的防褐剂对乐陵无核金丝小枣的褐变有不同的影响。硫代硫酸钠的防褐效果最佳, 褐变得到一定控制, 茎尖生长与其它组合相比也有明显的改善。吸收剂PVP和AC能有效抑制褐化, 但吸收剂吸收酚类物质的同时, 也吸收培养基内部分养分, 从而使其组培苗长势较弱。

表4 防褐剂对褐化的影响

防褐剂	浓度(g/L)	接种芽数(个)	褐化芽数(个)	褐化率(%)
Vc	1	50	10	20
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	1	50	5	10
PVP	1	50	10	20
AC	2	50	9	18

转种周期长短对褐化的影响

从表5可知, 转种周期长短也是影响褐变的重要因子。在试验中, 15天转瓶1次者, 植株色泽正常, 生长正常, 培养基中无浑浊物产生; 30天转瓶1次者, 植株色泽暗灰, 生长缓慢, 培养基

较浑浊，褐变较重。由此可知，接种初期勤转种（每15天转种1次），是削弱褐化的有效方法。

表5 转种周期长短对褐化的影响

转种周期 (d)	接种芽数 (个)	褐化芽数 (个)	褐化率 (%)
15	50	4	8
30	50	20	40

光照和温度对褐化的影响

由表6可知，接种初期进行适当的低温暗处理，可有效地减弱褐化现象。但低温使细胞分裂减慢，不利于愈伤组织的增殖，因此，必须准确把握低温处理的时间。

表6 光照和温度对褐化的影响

接种3天处理	接种芽数 (个)	褐化芽数 (个)	褐化率 (%)
低温暗处理	50	5	10
正常光照处理	50	28	56

讨论

乐陵无核金丝小枣组织中含有较高的酚类化合物，在其初代培养中褐化现象严重。褐变是由于外植体组织被切割和接种时，损伤切面细胞中酚类物质外露，多酚氧化酶 (PPO) 被激活，使细胞的代谢发生变化^[1]。酚类物质被氧化后产生呈棕褐色的醌类物质，它们会逐渐扩散到培养基中，抑制其它酶的活性，毒害培养的材料^[2]。

本文通过试验探索出了乐陵无核金丝小枣初代培养的适宜的BA浓度、培养基硬度、pH值、防褐剂、培养条件及转种周期等。影响褐化的因素有很多：BA可刺激多酚氧化酶的活性^[3]；pH值可能对酚类与酚氧化酶结合部位产生影响^[4]；Vc将酚氧化酶的Cu²⁺还原成Cu⁺，抑制了酶活性^[5]；PVP和AC可吸收醌类物质，但有一定副作用；低温可抑制酚类化合物的形成，一部分酚氧化酶系统的活性是受光诱导的^[6]。另外，外植体的生理状态、外植体的种类和大小、培养基^[7]、水的硬度、糖的浓度^[8]等对褐化现象的产生也有一定的影响。随着科学的发展和研究的深入，对于木本植物褐化机理研究将更加深入，减少褐化的措施将更完善。■

参考文献

- [1] 潘瑞炽.植物组织培养.广州:广东高教出版社,2000
- [2] 廖耀梅,李开彪,叶添谋.组织培养过程中污染和褐化的防治.韶关学院学报(自然科学版),2003,24(6):101-103
- [3] 陈正华主编.木本植物组织培养.北京:高等教育出版社,1986,466-480
- [4] 谭兴杰,李日标.荔枝果皮多酚氧化酶的部分纯化及性质.植物生理学报,1984,10(4):339-345
- [5] 万连忠.抗坏血酸衍生物抑制蘑菇的多酚氧化酶.食品科学,1991,67(2):22-25
- [6] 程广有编著.名优花卉组织培养技术.北京:科学技术文献出版社,2001,101-103
- [7] 周俊辉,周家容等.园艺植物组织培养中的褐化现象及抗褐化研究进展.园艺学报,2000,27(增刊):481-486
- [8] 贝奇(YPS).林木和果树生物技术.张培泉译,北京:中国林业出版社,1991,341-351



草莓，以其营养丰富、味美多汁、气味芳香而受到广大消费者的青睐。在矿区、城郊开发草莓生产，已成为发展“两高一优”农业的优势项目。但露地栽培结果期中，果实采收期仅限于5月上旬至5月下旬，加之果实不耐贮运，易造成烂果，给果农带来较大的经济损失，鉴于此，笔者等根据专家的建议，在建平县深井镇果园村进行了草莓小拱棚栽培。这种方法既简便易行，又能明显提高经济效益。现将草莓小拱棚早熟增产栽培的主要技术总结如下，供生产推广。

增产栽培技术 草莓小拱棚早熟

任宝君

(辽宁省建平县果树发展中心 122400)