

马缨杜鹃组织培养中抗褐技术研究

周 艳¹, 高贵龙², 邹天才¹, 李朝婵³, 陈 训²

(1. 贵州省植物园 贵州 贵阳 550001; 2. 贵州科学院, 贵州 贵阳 550001; 3. 贵州大学 林学院 贵州 贵阳 550002)

摘 要:以马缨杜鹃 2 a 生带芽茎段为外植体, 在组织培养过程中研究了光照强度、温度、抗氧化剂、吸附剂等对褐化的影响。结果表明: 暗培养的抗褐效果较光照培养好, 暗培养的最佳时间为 10 d。在暗培养条件下, 培养基中添加 1.0 g/L Ac 抗褐效果最好, 转接是削弱或减轻褐化现象的有效措施, 把二者结合起来褐化率可以降到 15.03%。低温处理、添加 AgNO₃ 和 PVP 不能有效地抑制褐化。

关键词: 马缨杜鹃; 组织培养; 褐化现象; 抗褐

中图分类号: S 685.210.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)07-0141-02

马缨杜鹃(*Rhododendron delavayi* Franch.) 属杜鹃属长绿亚属杜鹃花科高档花卉植物。经观测, 马缨杜鹃树高 2~5 m, 主枝丛生, 老枝粗壮, 树皮棕色, 木栓层较厚, 纵裂、深裂, 并具垢鳞。顶生总状伞性花序, 花序密度大, 花的数量较多, 每个花序有花 10~20 朵, 花冠钟形, 较大, 亮红色, 在园林绿化中具有独特的品格, 是城乡绿化美化环境的优良品种^[1]。自然状态下的播种繁殖因生长周期长, 远远不能满足园林绿化建设的需要, 因此组织培养是扩大其繁殖系数的有效手段^[2]。但多年的组织培养中褐化是制约其成功与否的瓶颈问题。现对马缨杜鹃组培过程中防止褐化技术专题研究, 旨在为杜鹃组织培养育苗研究提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

取自贵州省东森植物有限公司的马缨杜鹃茎段。

1.2 试验设计

以马缨杜鹃 2 a 生带芽茎段为外植体, 以 1/4MS+NAA 1.0 mg/L+2-ip 2.0 mg/L 为基本培养基, 将外植体做 A、B、C、D、E 5 个处理, 分别进行光照培养和暗培养。处理 A: 将外植体在冰箱中 5℃低温处理 12 h 后经消毒处理接种在培养基中。处理 B: 外植体接于培养基中, 每隔 2 d 转接 1 次。处理 C: 将消毒后的外植体浸泡在灭过菌的 1.0 mg/L AgNO₃ 溶液中 30 min, 再将外植

体插入 2.5%的琼脂凝胶 30 min 后, 接入培养基中。处理 D: 将外植体接入添加了 1.0 g/L Ac 的培养基中。处理 E: 将外植体接入添加了 0.5 mg/L PVP 的培养基中。

2 结果与分析

马缨杜鹃初始培养阶段急需解决的一个关键问题是材料褐变, 接种 2~3 d 由于外植体伤口向外排出大量酚类物质, 氧化后使其周围培养基呈黑紫色, 造成外植体的伤口褐化。若不及时处理, 外植体将被毒害致死。

表 1 不同处理对抑制茎段外植体褐变的效果

观察 时间	处理	光照培养			暗培养		
		数量 /个	褐变数/个	褐变率 /%	数量 /个	褐变数 /个	褐变率 /%
2 d	A	40	14	35.00	42	13	30.95
	B	35	28	80.00	35	20	57.14
	C	50	20	40.00	53	19	35.84
	D	34	11	32.35	34	8	23.52
	E	30	15	50.00	30	13	43.33
10 d	A	40	10	25.00	42	9	21.42
	B	35	12	34.29	35	7	20.00
	C	50	17	34.00	53	15	28.30
	D	34	7	20.58	34	5	17.64
	E	30	12	40.00	30	10	33.33

对马缨杜鹃茎段进行 5 种不同的抗褐处理, 12 d 内统计褐变率。表 1、图 1 和图 2 表明: 对于褐变的减轻程度在培养前期, 处理 D> 处理 A> 处理 C> 处理 E> 处理 B, 几种处理暗培养的效果比光照培养好, 培养中期, 处理 D> 处理 B> 处理 A> 处理 C> 处理 E, 光照培养的褐变率同样比暗培养高。从整个培养的过程来看, 增加光照强度引起外植体褐变严重, 暗培养的外植体褐变发生推迟而且程度轻。所有处理在培养的过程中褐变率逐渐减轻, 其中处理 D 的褐变率最低, 10 d 的褐变率为 17.64%, 处理 B 在培养的过程中褐变率减轻幅度较大, 抗褐效果仅次于加入活性炭, 经 10 d 暗处理后的褐变率为 20.00%。在以后的大量试验过程中, 把二者结合起

第一作者简介: 周艳(1983), 女, 贵州平坝人, 硕士, 研究实习员, 研究方向为植物资源学。
通讯作者: 陈训(1956), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 享受国务院津贴专家, 研究方向为植物资源学。E-mail: chenxunkel1956@163.com。
基金项目: 贵州省科技重大专项资助项目([2007] 6005 号); 国家农业成果转化资助项目(2007)。
收稿日期: 2009-12-21

来的褐化率可以降到 15.03%。以上表明, 不同处理只能在一定程度上减轻褐化, 但不能完全防止褐化, 该研究得出的褐化率不低于 10%, 有可能是马缨杜鹃所含的酚类物质较多, 有待于进一步研究。

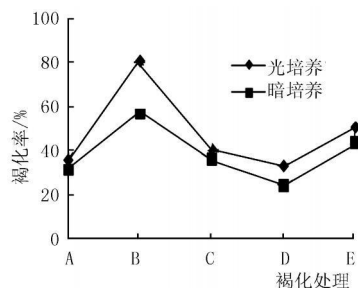


图 1 不同处理和抑制褐化的效果(2 d)

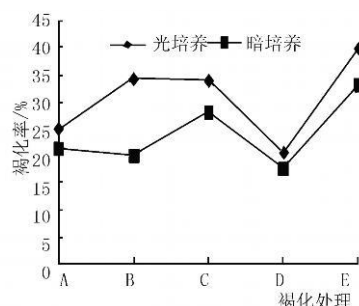


图 2 不同处理和抑制褐化的效果(10 d)

3 讨论

影响褐变的因素是复杂的, 随植物种类、基因型、外植体的部位及生理状态的不同褐变程度也有区别^[3-4]。材料本身的生理状态不同, 接种后褐化的程度也不同。另外湿度过高、光照过强或培养时间过长而未及时转移, 都会引起材料的褐变^[5-6]。针对以上各方面的原因,

宜采取相应的措施来防止和减轻褐变。如选用适宜外植体的培养条件, 在培养基中加入抗氧化剂和吸附剂能够有效减轻褐变程度, 降低培养温度, 暗处理外植体的母株, 给予适宜的激素水平, 并在培养过程中连续转移等措施来减轻褐变。

马缨杜鹃为木本植物, 研究发现: 总酚含量和多酚氧化酶是影响马缨杜鹃组培褐变的两大因素, 褐化的发生与外植体组织中所含酚类化合物的多少和多酚氧化酶活性有直接关系^[7]。在培养过程中酚类物质外渗, 外植体褐化现象严重, 导致组织培养难以进行, 所以必须进行抗褐化处理。该研究得出加入活性碳的抗褐效果最好, 活性碳是一种吸附剂, 能吸附培养物在培养过程中分泌的酚类、醌类物质, 防止导致褐变的有害物质积累, 降低不利影响, 从而促进外植体的生长^[89]。

参考文献

- [1] 陈训, 巫华美. 中国贵州杜鹃花[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 13-15.
- [2] 周艳, 陈训. 马缨杜鹃继代培养培养基配方研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(29): 9213-9214.
- [3] Pythoud F, Buchala A J. Peroxidase activity and adventitious rooting in cutting of *Populus tremula*[J]. Plant Physiol Biochem, 1989, 27(4): 503-510.
- [4] Mcgrath G. In vitro propagation of mature Persian walnut cultivars[J]. Hortsci, 1988, 23(1): 220.
- [5] Cummins J N. Aseptic culture of *Juglans nigra* stem tissues[J]. For Sci, 1969(15): 102-103.
- [6] Zimmernan R H. Rooting apple cultivars. In vitro: Interaction among light, temperature, phloroglucinol and auxin[J]. Plant Cell Tissue Organ Culture, 1984(3): 301-311.
- [7] 周艳, 陈训. 马缨杜鹃组织培养过程中外植体褐变与多酚氧化酶及酚类物质的关系[J]. 种子, 2009, 28(7): 61-62.
- [8] 李琳, 钟昌松, 周香, 等. 活性炭在库拉索芦荟的组织培养中的应用[J]. 西南农业学报, 2004, 18(1): 106-107.
- [9] 李俊明, 朱登云. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002: 256-258.

Research of Preventing Browning on the Tissue Culture of *Rhododendron delavayi* Franch.

ZHOU Yan¹, GAO Gui-long², ZOU Tian-cai¹, LI Chao-chan³, CHEN Xun²

(1. Guizhou Botanical Garden, Guiyang, Guizhou 550001; 2. Guizhou Academy of Sciences Guiyang, Guizhou, 550001; 3. Forestry College of Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550002)

Abstract: Browning phenomenon was a serious problem in plant tissue culture. In this experiment, we studied factors which preventing browning, such as illumination, temperature, explantation frequency of the explant, adsorbents and antioxidant. The results showed that the browning rate of dark treatment was lower than light treatment, the suitable culture time was 10 day. In dark condition, the treatment which added with 1.0 g/L Ac was the best method to decrease browning, explantation frequency of the explant could minimize the browning rate, unified both method browning rate could be fall to 15.03%. decreasing temprature, adding AgNO₃ and PVP could not be effectively prevented Browning.

Key words: *Rhododendron delavayi* Franch.; plant tissue culture; browning; preventing browning