

文章编号:1001-411X(2000)01-0060-03

甘蔗组织培养配方中不同激素效应的研究

陈彪¹, 梁钾贤¹, 陈伟栋², 王润华²

(1 湛江海洋大学生物技术中心, 广东 湛江 524088; 2 华南农业大学农学系, 广东 广州 510642)

摘要: 为防止甘蔗接种物的褐变、坏死而在培养基中加入 PVP 条件下, 比较了不同激素对分化苗增殖、分化苗变异率、分化苗的叶绿素含量、促根培养的发根数以及鲜物质与干物质积累的效果。结果表明, 较高浓度 KT 和 6-BA 2 种外源激素混合使用, 不仅有利于促进分化芽增殖, 而且也能获得高素质的分化苗。

关键词: 甘蔗; 组织培养; 聚乙烯吡咯烷酮; 激素效应

中图分类号: Q 946

文献标识码: A

甘蔗组织培养的早期世代几乎不可避免会出现培养物的褐变、坏死, 严重时褐变率可高达 30% 以上。培养物的褐变被认为是多酚氧化物积累的结果^[1-3]。大部分酚类物质在天然浓度下毒性不高, 酚类氧化物醌是最毒的且反应很强^[4,5]。多酚氧化酶被激活是致使醌类物质迅速积累的主要因素。陈彪等^[6]利用聚乙烯吡咯烷酮(PVP)预处理外植体, 并以 PVP 作为培养基的附加成分有效地防止接种物的褐变坏死。但当 PVP 达到有效浓度(50 mg/L 或以上)时, 会延缓分化芽的增殖速度。本研究在培养基中加入 PVP 以克服培养物褐变、坏死的基础上, 调整激素的种类与浓度, 比较其培养效果, 为甘蔗组织培养寻求较为适宜的配方。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试甘蔗品种为 ROC22。经 4 次继代的分化芽。所有接种物用 $\rho(\text{PVP}) = 200 \text{ mg/L}$ 的水溶液浸泡 15 min 作预处理。

1.2 试验方法

1.2.1 试验处理 分 A、B、C、D、E 5 种分化芽配方。各配方每升培养基用量如下:

A: MS + KT 2 mg + NAA 0.02 mg + PVP 100 mg + 糖 35 g;

B: MS + 6-BA 1 mg + NAA 0.02 mg + PVP 100 mg + 糖 35 g;

C: MS + KT 2 mg + 6-BA 1 mg + NAA 0.02 mg + PVP 100 mg + 糖 35 g;

D: MS + KT 3 mg + NAA 0.02 mg + PVP 100 mg + 糖 35 g;

E: MS + 6-BA 1.5 mg + NAA 0.02 mg + PVP 100 mg + 糖 35 g。

5 种分化芽配方中, 除了激素的种类和用量不同外, 其余成分相一致。

促根培养用统一配方:

MS + NAA 0.1 mg + 糖 40 g。

所有培养基均用 5 g 卡拉粉固化, pH 5.8。

1.2.2 培养条件 温度 26 ~ 28 °C; 每天光照 2 000 Lx, 10 h。

1.2.3 叶绿素含量测定 按邹奇^[7]提供的方法。

2 结果与分析

2.1 分化芽的增殖

从接种后第 3 d 起, 每隔 3 d 调查分化芽数。每一种处理调查 20 瓶, 每瓶 5 丛接种物, 得 100 丛接种物的平均分化芽数随时间的增殖如图 1。从图 1 看, 较低激素水平的处理 A 和处理 B, 在接种 21 d 分化芽数达到最高值, 此后开始下降, 这意味着有少数分化芽开始枯死。其余 3 个较高激素水平的处理(C、D、E), 在接种后 24 d 分化芽的增殖仍处于上升趋势。

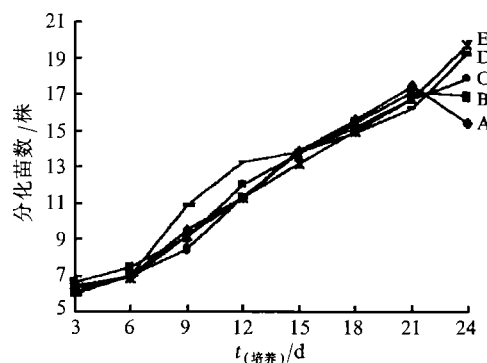


图 1 培养时间与分化苗数的关系

Fig. 1 The relationship between culture time and differentiated

收稿日期: 1999-04-15

作者简介: 陈彪(1954~), 男, 副教授

2.2 分化芽数的比较

以5种处理所得分化芽数按完全随机方差分析, $F = 7.26^{**}$, 差异很明显。每丛接种物所得分化芽数的平均值分别为: A 15.47, B 16.9, C 17.85, D 19.29, E 19.77。大小顺序为 $E > D > C > B > A$ 。多重比较的结果表明, A与B之间无明显差异; C、D、E 3者之间也无明显差异; 而低激素水平的 A、B 与高激素水平的 C、D、E 之间, 达到显著或很显著差异。可见, 分化芽数的多少, 主要决定于激素水平的高低, 与激素种类无关。处理 C 以 KT 与 6-BA 混合使用也未表现明显优势。

2.3 分化苗的变异率

分化苗有2片以上叶片出现异常卷曲被定为变异。以每瓶为基本统计单位, 计数变异率。经反正弦转换后作方差分析。5种处理间 $F = 16.26^{**}$ 。差异很显著。多重比较见表1。

表1 5种处理变异率反正弦值总和和多重比较¹⁾

Tab. 1 The multiple comparisons based on the sum of arc sin variation rates in 5 treatments

处理	T_i	$T_A - T_i$	$T_B - T_i$	$T_C - T_i$	$T_D - T_i$
A	581.29				
B	672.17	-90.88			
C	444.25	137.04*	227.92**		
D	896.52	-315.23**	-224.53**	-452.27**	
E	638.61	-56.72	34.16	-193.76**	258.51**

1) 总和差异显著值: L.S. $D_{0.05} = 114.40$; L.S. $D_{0.01} = 151.52$

将每一种处理反正弦值的平均再反转换得各处理变异苗率的平均百分率分别为: A 23.65%, B 30.64%, C 14.29%, D 49.70%, E 27.29%。大小顺序为: $D > B > E > A > C$ 。从总的趋势看, 高激素水平变异率也高。处理 D 的激素水平最高(KT 3 mg/L), 变异苗率也最高; 处理 B(6-BA 1.0 mg/L) 与处理 E(6-BA 1.5 mg/L) 之间差异不显著。而相比之下, 两者比起激素水平更高的处理 A(KT 2 mg/L) 的变异苗率都稍高, 虽未达到显著水平, 但也似乎可见出, 6-BA 也许比 KT 更容易引起分化苗的变异; 处理 C(KT 2 mg/L + 6-BA 1 mg/L) 的总激素量相当于处理 D, 是最高激素用量的 2 个处理之一, 而其变异苗率显著低于任何一种处理。表明不同激素混合使用更有利于降低分化苗的变异率。

2.4 分化苗的叶绿素含量

测定了5种处理分化苗叶片的叶绿素含量列于表2。

从表2可见, 不同激素及其不同用量水平对叶绿素的形成有明显差异。在试验范围内: ①低水平

的 6-BA(处理 B) 显然有利于叶绿素 a 的形成, 而不利叶绿素 b 的形成; 而低水平的 KT(处理 A) 对叶绿素 a、b 的形成都是不利的; ②6-BA 与 KT 的混合使用(处理 C) 叶绿素 a、b 的含量都达到最高值。这似乎表现出一种互补效应。

表2 5种处理分化苗叶片的叶绿素含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)¹⁾

Tab. 2 The chlorophyll ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) of differentiated bud in 5 treatments

处理	$w(\text{叶绿素 a})$	$w(\text{叶绿素 b})$	$w[\text{叶绿素(a+b)}]$
A	97.29	50.32	147.61
B	187.29	74.22	261.51
C	174.43	144.48	316.91
D	162.13	134.05	296.18
E	160.81	132.96	293.77

1) 叶绿素含量以鲜质量计

2.5 促根培养的效果

经 24 d 分化培养移入促根培养基再经 24 d, 计数出根数, 并经方差分析, $F = 9.83^{**}$, 处理间差异很显著。由于污染的原故, 每种处理只调查 18 瓶。各处理每瓶平均出根数为: A 43.72, B 46.39, C 38.33, D 19.28, E 30.16。大小顺序为 $B > A > C > E > D$ 。多重比较结果见表3。

表3 5种处理促根 24 d 出根数的总和和多重比较¹⁾

Tab. 3 The multiple comparisons based on the sum of foot number in 5 treatments with promoting rooting 24 d

处理	T_i	$T_A - T_i$	$T_B - T_i$	$T_C - T_i$	$T_D - T_i$
A	787				
B	835	-48			
C	690	97	145		
D	347	440**	488**	343**	
E	543	244**	392*	147	-196*

1) 总和差异显著值: L.S. $D_{0.05} = 181.39$; L.S. $D_{0.01} = 241.03$

可见, 低激素培养的分化苗, 有利于后期的促根培养; 但高激素的处理 C, 由于使用的是 KT 与 6-BA 2 种激素的混合, 发根数与处理 A、处理 B 也没有显著差异。

2.6 组培苗的鲜质量与干质量

若以每一瓶作为基本统计单位, 于促根成苗后称量鲜质量与干质量, 并进行方差分析, 鲜质量的 F 值为 1.95, 干质量的 F 值为 0.18。即 5 种处理间差异都不显著, 表明物质积累总量没有差异。

但应该注意到, 由于不同处理最后所得分化苗数有显著差异。若计求单苗平均鲜质量和单苗平均干质量, 并进行方差分析, 则单苗平均鲜质量的 F 值为 5.28**, 单苗平均干质量的 F 值为 7.15**。处理

间差异都很显著. 多重比较见表 4 和表 5.

单苗平均鲜质量与单苗平均干质量理应可作为壮苗程度的质量指标. 从表 4 与表 5 的结果可见, 鲜质量的大小顺序为: A>B>C>E>D; 干质量的大小顺序为: A>C>B>E>D. 而不论鲜质量或干质量, B 与 C 的差异都不显著. 因此可认为, 鲜质量与干质量不同处理间的趋势是相一致的. 总的趋势是, 低激素水平所得的苗较壮. 而以 KT 与 6-BA 2 种激素混合的处理 C, 总激素水平很高, 但也可获得如同低激素水平的处理 A 及处理 B 的壮苗.

表 4 5 种处理单苗平均鲜质量(mg)总和多重比较¹⁾

Tab. 4 The multiple comparisons based on the sum of individual seedling fresh weight (mg) in 5 treatments

处理	T_i	T_A-T_i	T_B-T_i	T_C-T_i	T_D-T_i
A	1643.13				
B	1470.42	172.71			
C	1400.42	242.71*	70.00		
D	1228.00	415.13**	242.42*	172.42	
E	1367.65	275.48**	102.77	32.92	-139.65

1) 总和差异显著值: $L.S.D_{0.05} = 185.50$; $L.S.D_{0.01} = 245.71$

表 5 5 种处理单苗平均干质量(mg)总和多重比较¹⁾

Tab. 5 The multiple comparisons based on the sum of individual seedling dry weight in 5 treatment

处理	T_i	T_A-T_i	T_B-T_i	T_C-T_i	T_D-T_i
A	136.33				
B	124.19	12.14			
C	125.02	11.31*	-0.80		
D	95.49	40.48**	28.70**	29.42**	
E	109.44	26.89**	14.75	15.58	-13.95

1) 总和差异显著值: $L.S.D_{0.05} = 16.62$; $L.S.D_{0.01} = 22.01$

3 结果与讨论

(1) 在培养基中加入 PVP 能有效地防止甘蔗接种物的褐变坏死^[6]. 在这个条件下, 接种物能承受较

高的外源激素水平. 在试验范围内, 高激素水平显然有利于促进分化芽的繁殖而获得较多的分化苗.

(2) 在高激素水平的条件下, 不论单独使用 6-BA 或 KT, 都有可能在一定程度上使分化苗的素质有所降低. 但当以 6-BA 与 KT 混合使用, 即使总量达到较高水平, 不但可望获得较多的分化苗, 而且对分化苗的素质也不会有显著影响.

(3) 甘蔗的种植, 以营养体的蔗茎作为收获物, 通常对组织培养中可能出现的变异苗不予重视. 然而, 变异株率高可能会降低大田生产中群体的整齐度. 这在多大程度上影响蔗茎和蔗糖产量也值得考虑. 本研究以 2 种激素混合使用, 在外源激素总量达到最高的条件下, 也能获得最低的变异苗率. 其中的机理虽有待研究, 而其应用价值却是可以肯定的.

参考文献:

- [1] 林哲甫, 张维钦. 香蕉果肉组织的多酚氧化酶[J]. 植物生理学报, 1965, 2(2): 94~103.
- [2] 何琼英, 张东方, 王润华. 抗坏血酸预处理阻止香蕉吸芽外植体褐变的研究[J]. 华南农业大学学报, 1995, 16(3): 79~82.
- [3] 何琼英, 李斌, 张志诚. 苦丁茶体细胞组织培养再生植株的研究[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(2): 41~44.
- [4] 张尤凯, 周桂元, 王润华. 作物抗病性生化机制的遗传研究进展[J]. 中国农学通报, 1997, 13(5): 43~44.
- [5] Oku H. Role of parasite enzymes and taxins indevelopment of charactristic symptoms in plant disease [A]. Mirocha C J, Uritani I, The Dynamic Role of Molecular Constituents in Plant Parasite Interaction[C]. St paul Minnesota: bruce Publ comp Co, 1967, 237~255.
- [6] 陈彪, 陈伟栋, 梁钾贤, 等. 利用聚乙烯吡咯烷酮防止甘蔗组织培养接种物褐变的研究[J]. 华南农业大学学报, 1999, 20(3): 63~66.
- [7] 邹奇. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 农业出版社, 1998, 36~39.

The Effect of Different Hormone in Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Tissue Culture

CHEN Biao¹, LIANG Jia-xian¹, CHEN Wei-dong², WANG Run-hua²

(1. Biotechnology Centre, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Dept. of Agronomy, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: PVP was added to different media to prevent the tissue from brown-turning. The comparisons were made among the hormone on the planted number, variation rate, root number, fresh and dry weights and chlorophyll content. The result showed that mixture of KT and 6-BA with high concentration not only favored the shoot differentiation but also improved the quality of plantlets.

Key words: sugarcane; tissue culture; polyvinylpyrrolidone; hormone effect

【责任编辑 李玲】