

TDZ在番木瓜组织培养中的应用研究*

范鸿雁¹ 何凡^{1*} 林松² 华敏¹ 李向宏¹ 何舒¹ 彭湖南¹

(1 海南省农业科学院热带果树研究所 海口 571100; 2 华南热带农业大学种苗组培中心)

番木瓜 *Carica papaya* L. 果实营养丰富, 具有较高的食疗保健价值和工业价值, 经济价值较高, 是当前发展热带高效农业非常看好的重要推广项目和热带农业产业结构调整项目之一。近年来广东、广西、福建、海南和云南等省区番木瓜的栽培面积大幅度增加。但由于番木瓜实生苗的株性及花性复杂, 其农艺性状包括花性、果形、果肉颜色等受温度影响变化较大^[1]。因此, 通过组织培养技术生产株性稳定的两性株, 是解决番木瓜实生苗株性及花性不稳定, 提高番木瓜产量及抗病性的有效措施^[2]。

TDZ(苯基噻二唑基脲, N-phenyl-N-1, 2, 3-thidiazol-5-ylurea, Thidiazuron)是一种新型的植物生长调节剂, 具有促进愈伤组织生长^[3], 打破果树休眠, 促进萌芽^[4]等功效, 目前尚未见到TDZ用在番木瓜组培上的报道。因此, 本文在已有的番木瓜组培研究基础上, 通过TDZ对番木瓜诱导和生根培养的研究, 探索其对番木瓜不定芽和不定根生长的影响, 为番木瓜的组培工作提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试材为番木瓜“穗中红48”实生苗幼苗、无菌试管苗, 由海南省农业科学院热带果树研究所提供。

供试试剂包括无机试剂: 硝酸氨(NH_4NO_3)、硝酸钾(KNO_3)、氯化钙(CaCl_2)、硫酸镁(MgSO_4)、硼酸(H_3BO_3)、活性炭(AC)等; 有机试剂: 肌醇、烟酸、盐酸吡哆醇、盐酸硫胺素、甘氨酸等; 植物生长调节剂: 苯基噻二唑基脲(TDZ)、萘乙酸(NAA)、6-苄基嘌呤(6-BA)、糠氨基嘌呤(KT)等。均由海南省农业科学院热带果树研究所提供。

1.2 试验方法

1.2.1 不定芽的诱导培养 采用 $L_9(3^4)$ 正交表布置试验设计, 试验中各因素水平选择其常见的剂量水平; 切取消毒后长约0.5 cm的顶芽或侧芽, 每次接种50个芽, 10瓶, 重复3次, 接种4周后统计结果; 所有培养基均用琼脂6 g/L固化, pH值为5.8, 用常规方法灭菌。计算萌芽率时接种的总芽数已减去了污染的外植体数。

萌芽率(%)=(萌芽数/接种总芽数)×100

1.2.2 不定根的诱导培养 采用 $L_9(3^4)$ 正交表布置试验设计, 试验中各因素水平选择其常见的剂量水平; 选取培养了20~25天、生长健壮的不定芽, 切取1~1.5 cm长的茎尖, 每次接种50个不定芽, 10瓶, 重复3次, 接种4周后统计结果; 所有培养基均用琼脂6 g/L固化, pH值为5.8, 用常规方法灭菌。

生根率(%)=(生根芽数/接种总芽数)×100

平均生根数(%)=(总根数/接种总芽数)×100

培养温度均为25~28℃, 光照12小时/天, 光照强度2 000 Lx。

2 结果与分析

2.1 TDZ对番木瓜不定芽诱导的结果

试验结果表明, TDZ 0.25~0.50 mg/L对不定芽的诱导效果较好, 与TDZ 0.75 mg/L达到极显著差异, 即3/2MS+TDZ 0.25 mg/L、3/2MS+TDZ 0.25 mg/L+BA 0.2 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 0.05 mg/L和3/2MS+TDZ 0.50 mg/L+BA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L对不定芽诱导萌芽率均达到63.0%以上。愈伤组织形成量与TDZ浓度成正比, 浓度达到0.75 mg/L时愈伤组织大量生长, 导致不定芽无法生长, 芽点变黄, 部分坏死。直观分析结果, TDZ 0.25 mg/L时形成丛生芽, 芽粗壮, 生长正常, 且仅有微量的愈伤组织, 对不定芽的生长和增殖无影响。因此, 正交试验获得的优化培养基配方为: 3/2MS+TDZ 0.25 mg/L, 该配方获得了试验的最高萌芽率74.5%, 最有利于不定芽的诱导培养(见表1)。

2.2 TDZ对番木瓜不定根诱导的结果

试验结果表明, 经过20~25天培养之后, G1、G2诱导不定根的生根率与其他处理均达到了极显著差异, 其中直观分析结果, 正交试验获得的优化培养基配方为: MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L

* 国家“948”项目“Eksotika II 番木瓜品种及配套栽培技术及其产后商品化处理技术”(2003-T34), “番木瓜种质资源收集保存及快繁技术研究”(琼科[2005]1173号)资助。

** 通讯作者。何凡(1958-), 男, 研究员, 硕士研究生导师。现任海南省农科院热带果树研究所所长。

+AC 0.2% (G2)。含有 TDZ 的处理组合与不含 TDZ 的处理组合相比,生根率明显偏低,难以生根,说明 TDZ 对番木瓜诱导生根有明显的抑制作用。

含有高浓度的 TDZ 处理组合促使不定芽严重玻璃化及其基部产生大量愈伤组织,致使根系无法生长或生成海绵状根,使其无法移栽(见表2)。

表1 TDZ对番木瓜不定芽诱导培养结果

处理	培养基成分(3/2MS)				生长情况	愈伤组织 生长情况	萌芽率/ %
	TDZ	6-BA	NAA	KT			
Y1	0.25	0.0	0.0	0.0	形成丛生芽,生长正常,芽粗壮	微量	74.5A
Y2	0.25	0.2	0.1	0.05	形成丛生芽,生长正常,芽粗壮、密	微量	66.2AB
Y3	0.25	0.4	0.2	0.01	有少量芽点变黄,形成丛生芽,芽短、弱	微量	56.4BC
Y4	0.50	0.0	0.2	0.01	有少量芽点变黄,有侧芽生长,芽短、弱	大量	46.7CD
Y5	0.50	0.2	0.2	0.0	从愈伤处长芽,生长正常,芽粗壮	大量	63.8 AB
Y6	0.50	0.4	0.0	0.05	部分芽点变黄,少量坏死,芽长,长势弱	中量	36.5CD
Y7	0.75	0.0	0.2	0.05	部分芽点变黄,少量坏死,芽细小,长势弱	大量	35.9D
Y8	0.75	0.2	0.0	0.01	部分芽点变黄,少量坏死,芽长,长势弱	大量	43.1CD
Y9	0.75	0.4	0.1	0.0	部分芽点变黄,形成丛生芽,芽细长、弱	中量	39.2D

注:培养基中添加物单位为 mg/L;表中数据均为 3 次重复的平均值;采用 F 测验, Duncan's 多重比较,当 Alpha=0.01 处理时,表示差异达极显著,用大写字母表示。表 2 同。

表2 TDZ对番木瓜不定根诱导培养结果

处理	培养基成分(MS)				生长情况	愈伤组织 生长情况	生根率/ %
	TDZ	6-BA	NAA	AC			
G1	0.0	0.0	0.0	0.1	根部膨大,海绵状,叶片增大,部分黄化	中量	46.2A
G2	0.0	0.1	0.1	0.2	根部正常,有大量侧根,长势强	微量	43.7A
G3	0.0	0.2	0.2	0.3	根部轻微膨大,有侧根生长,有少量叶片黄化	微量	39.9B
G4	0.1	0.0	0.1	0.3	根部膨大,海绵状,植株玻璃化	大量	8.8C
G5	0.1	0.1	0.2	0.1	根部膨大,海绵状,植株玻璃化	大量	6.7C
G6	0.1	0.2	0.0	0.2	少量长根,叶片逐渐变黄,植株玻璃化明显	中量	9.5C
G7	0.2	0.0	0.2	0.2	少量长根,叶片逐渐变黄,植株玻璃化明显	大量	0D
G8	0.2	0.1	0.0	0.3	无根系生长,植株玻璃化明显,枯死	大量	0D
G9	0.2	0.2	0.1	0.1	无根系生长,植株玻璃化明显,部分枯萎	中量	5.6CD

注:活性炭(AC)用量为培养基总量的百分比,其余单位为 mg/L。

3 讨论

低浓度 TDZ 对芽(侧芽)萌发和不定芽的萌发及诱导产生促进作用,极低浓度的 TDZ 就能促进组织中心部位的生长,且芽再生效应与其他细胞分裂素相当^[5,6],但高浓度 TDZ 诱导大量愈伤组织产生,抑制了不定芽的正常生长。

本研究中不定芽诱导生根的结果表明,含有 TDZ 的处理与不含 TDZ 的处理相比,生根率明显偏低,难以生根;同时,高浓度 TDZ 促使不定芽严重玻璃化及其基部产生大量愈伤组织,致使根系无法生长或生成海绵状根。因此,TDZ 这种强细胞激动素不适合用于番木瓜不定根的诱导,其对诱导生根有明显的抑制作用。但也有报道称,在其他植物组织培养过程中未观察到 TDZ 对不定根生成的抑制^[7-9]。

参考文献

- [1] 叶长明,魏祥东,陈东红.番木瓜无性繁殖技术的改进[J].中国南方果树,2003,5(32):36-37
- [2] Chen C, Ye C M, Huang J C, et al. Cloning of Lhe papaya ringspot virus (PRV) replicase gene and generation of PRSV resistant papayas through the introduction of the PRV replicase gene [J]. Plant Cell Rep, 2001, 20: 272-277
- [3] Arndt F, Rusch R, Stiefried H V. A New Cotton Defoliant [J]. Plant Physiology, 1976, 57: 99-101
- [4] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures [J]. Physiol Plant, 1962, 15: 473-497
- [5] Murthy B N S, Murch S J, Saxena P K. Thidiazuron: A potent regulator of in vitro plant morphogenesis [J]. In Vitro Cell Dev Biol, 1998, 34: 267-275
- [6] 徐晓峰,黄学林.应用正交设计建立青花菜植株的再生体系[J].广西植物,2002,22(6):513-516
- [7] Fasolo F, Zimmerman R H, Fordham L. Adventitious shoot formation on excised leaves of in vitro grown shoots of apple cultivars [J]. Plant Cell Tissue Org Cult, 1989, 16: 75-87
- [8] Preece J E, Huettnerman C A, Ashby W C, et al. Micro- and cutting propagation of silver maple. I. Results, with adult and juvenile propagules [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1991a, 16: 142-148
- [9] Yusnita S, Geneve R L, Kester S T. Micropropagation of a white flowering form of Eastern redbud [J]. Journal of Environmental Horticulture, 1990, 8(4): 177-179

收稿日期:2007-08-18;修回日期:2007-12-01

作者简介:范鸿雁(1979-),女,研究实习员,果树病理学硕士研究生。主要从事热带果树育种及病虫害研究。电话:(0898)65341589, E-mail: fanhongyan_1979@126.com