

活性炭在高山杜鹃组织培养中的应用

周艳¹, 陈训^{2*} (1. 贵州师范大学生物技术与工程学院, 贵州贵阳 550001; 2. 贵州科学院, 贵州贵阳 550001)

摘要 [目的] 了解活性炭(AC)的添加量与植物激素添加量的关系, 以及活性炭的加入对高山杜鹃试管苗出芽、褐化的影响。[方法] 通过高山杜鹃的组织培养试验探索活性炭的添加量与植物激素添加量的关系及对高山杜鹃外植体出芽率和褐化率的影响。[结果] 在 MS 固体培养基中, 活性炭的吸附作用较复杂; 高山杜鹃外植体出芽的较好培养基为 1/4 MS + 2-ip 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.5 g/L 和 1/4 MS + 2-ip 4.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.5 g/L, 有较好的出芽率, 较低的褐化率。最高出芽率为 56.7%, 最低褐变率为 40.0%。[结论] 在 MS 固体培养基中, 活性炭对生长激素的吸附量不能简单套用 MS 液体培养基中的吸附量, 了解活性炭的吸附作用与完全克服高山杜鹃组织培养中的褐化现象, 均有待进一步探索。
关键词 高山杜鹃; 活性炭; 植物激素; 出芽率; 褐化率
中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)04-01419-02

Application of Active Carbon in the Tissue Culture of Alpine Rhododendron

ZHOU Yan et al (School of Biological Technology and Engineering, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001)
Abstract [Objective] The purpose was to know the relationship between addition amounts of active carbon (AC) and plant hormone, and the influence of adding AC on the budding and browning of *Alpine rhododendron* seedling in vitro. [Method] The relationship between addition amounts of active carbon (AC) and plant hormone, and its influence on the budding rate and browning rate of *A. rhododendron* explants were explored through tissue culture. [Result] The sorption of AC in MS solid medium was more complex. The better media for the budding of alpine rhododendron explants were 1/4 MS + 2-ip 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.5 g/L and 1/4 MS + 2-ip 4.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.5 g/L with better budding rate and lower browning rate. The highest budding rate was 56.7% and the lowest browning rate was 40.0%. [Conclusion] In MS solid medium, the adsorption capacity of MS liquid medium couldn't be simply and mechanically applied as the adsorption amount of AC on growth hormone. It needs further explorations to know the sorption of AC and overcome the browning phenomena in tissue culture of *A. rhododendron* completely.
Key words *Alpine rhododendron*; Active carbon; Plant hormone; Budding rate; Browning rate

高山杜鹃(*Rhododendron delavayi* Franch)是杜鹃花科杜鹃属灌木类高档花卉植物, 原产我国中西部地区的高山密林, 后由德国等国引种栽培驯化, 并且改良选育出优良品种^[1]。高山杜鹃通常靠种子繁殖、扦插繁殖^[2], 而这 2 种繁殖方式易受母株材料和繁殖季节的影响, 往往无法满足市场的需要。采用组织培养技术进行观赏植物的繁殖, 具有繁殖速度快、不受季节影响等特点, 对于优良品种的推广意义重大。在高山杜鹃组织培养中, 首要困难是褐化问题, 严重地影响试管苗成活率; 在组织培养中, 一般加入活性炭来防止褐变。据报道, 活性炭一方面能吸附抑制植物外植体生长的有害物质, 防止褐化, 促进植物试管苗生长分化; 另一方面, 由于活性炭的吸附作用没有选择性, 它又能吸附培养基中的其他物质^[3], 从而影响植物试管苗的生长。为此, 笔者比较了在添加不同量的活性炭和植物激素的培养基中高山杜鹃的出芽、褐化情况, 以期了解活性炭添加量与植物激素添加量的关系以及活性炭的加入对高山杜鹃试管苗出芽、褐化的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为贵州省东森花卉有限公司苗圃提供的 2 年生嫩枝。
1.2 方法 取高山杜鹃嫩枝, 将其分为茎尖、茎段、叶片 3 种外植体, 分别浸泡于适当浓度的盐白洗洁精中 10 min, 在超净工作台上用 75% 酒精浸泡 30 s, 再用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒 8 min, 并用无菌水冲洗 6 次。将消毒后的 3 种外植体分别接入不同的培养基, 培养温度 (25 ± 2) °C, 先进行 1 周的暗培养, 再进行光照培养, 光照强度为 1 000 ~ 2 000 lx, 光照时间为 12 h/d^[4]。

以 1/4MS 培养基为基本培养基, 添加琼脂 8 g/L、蔗糖

30 g/L, pH 值 5.8, 附加不同浓度的 2-ip、NAA 及活性炭(AC), 高压灭菌。培养基的编号、激素和活性炭的组成、浓度见表 1。

2 结果与分析

2.1 3 种外植体分化能力的比较 将高山杜鹃茎尖、茎段、叶片分别接种于 16 种培养基中, 培养 7 d 左右大部分茎尖褐化死亡; 培养 10 d 左右, 茎段腋芽处开始萌动, 并且逐渐长成小芽, 32 d 左右小芽渐渐长大(图 1); 培养叶片一开始保持绿色, 后褐化死亡。



图 1 高山杜鹃组织培养茎段诱导出的芽
Fig.1 The bud produced from stem piece of *Rhododendron delavayi* Franch

表 1 附加激素和活性炭的组成及浓度

Table 1 AC and hormone composition and concentration

编号 No.	培养基组成 Medium constitutes
1	1/4 MS + 2-ip 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L
2	1/4 MS + 2-ip 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L
3	1/4 MS + 2-ip 4.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L
4	1/4 MS + 2-ip 6.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L
5	1/4 MS + 2-ip 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.0 g/L
6	1/4 MS + 2-ip 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.0 g/L
7	1/4 MS + 2-ip 4.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.0 g/L
8	1/4 MS + 2-ip 6.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.0 g/L
9	1/4 MS + 2-ip 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.5 g/L
10	1/4 MS + 2-ip 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.5 g/L
11	1/4 MS + 2-ip 4.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.5 g/L
12	1/4 MS + 2-ip 6.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 1.5 g/L
13	1/4 MS + 2-ip 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 2.0 g/L
14	1/4 MS + 2-ip 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 2.0 g/L
15	1/4 MS + 2-ip 4.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 2.0 g/L
16	1/4 MS + 2-ip 6.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + AC 2.0 g/L

作者简介 周艳(1983-), 女, 贵州平坝人, 硕士研究生, 研究方向: 植物学。* 通讯作者。
收稿日期 2007-10-11

由表 2 可知,茎段生长分化较明显,并且在添加活性炭的培养基中较易诱导芽。有少量的茎尖能诱导芽,极少的叶片能诱导愈伤组织,且该组织的生长势不好,易褐变。因此,在建立高山杜鹃无菌体系方面,外植体取茎段为好。

表 2 活性炭、激素组合对外植体出芽率(出愈率)和褐化率的影响
Table 2 The influence of AC and hormone composition on the bud rate (callus rate) and browning rate of *Rhododendron delavayi* Franch

编号 No.	外植体 类型 Explant type	接种 数//No. of inoculated	出芽率 (出愈率) Rate of Budding forming// %		褐变率 No. of browning rate %	
			出芽数 (出愈数) No. of Budding rate	出芽率 (出愈率) Rate of Budding forming// %	褐变数 No. of browning	褐变率 Browning rate %
1	茎尖 Shoot tip	30	0	0	30	100.0
	茎段 Stem segment	30	0	0	28	93.3
	叶片 Leaf	30	0	0	25	83.3
2	茎尖 Shoot tip	30	0	0	29	96.7
	茎段 Stem segment	30	1	3.3	27	90.0
	叶片 Leaf	30	0	0	30	100.0
3	茎尖 Shoot tip	30	1	3.3	21	70.0
	茎段 Stem segment	30	1	3.3	25	83.3
	叶片 Leaf	30	0	0	30	100.0
4	茎尖 Shoot tip	30	0	0	26	86.7
	茎段 Stem segment	30	0	0	29	96.7
	叶片 Leaf	30	0	0	22	73.3
5	茎尖 Shoot tip	30	5	16.7	21	70.0
	茎段 Stem segment	30	9	30.0	18	60.0
	叶片 Leaf	30	0	0	26	86.7
6	茎尖 Shoot tip	30	3	10.0	27	90.0
	茎段 Stem segment	30	8	26.7	22	73.3
	叶片 Leaf	30	2	6.7	28	93.3
7	茎尖 Shoot tip	30	2	6.7	28	93.3
	茎段 Stem segment	30	11	36.7	19	63.3
	叶片 Leaf	30	3	10.0	27	90.0
8	茎尖 Shoot tip	30	1	3.3	29	96.7
	茎段 Stem segment	30	5	16.7	25	83.3
	叶片 Leaf	30	0	0	30	100.0
9	茎尖 Shoot tip	30	2	6.7	27	90.0
	茎段 Stem segment	30	9	30	21	70.0
	叶片 Leaf	30	1	3.3	28	93.3
10	茎尖 Shoot tip	30	4	13.3	26	86.7
	茎段 Stem segment	30	17	56.7	12	40.0
	叶片 Leaf	30	3	10.0	25	83.3
11	茎尖 Shoot tip	30	5	16.7	25	83.3
	茎段 Stem segment	30	15	50.0	14	46.7
	叶片 Leaf	30	2	6.7	24	80.0
12	茎尖 Shoot tip	30	0	0	27	90.0
	茎段 Stem segment	30	10	33.3	19	63.3
	叶片 Leaf	30	3	10.0	25	83.3
13	茎尖 Shoot tip	30	0	0	30	100.0
	茎段 Stem segment	30	2	6.7	25	83.3
	叶片 Leaf	30	0	0	23	76.7
14	茎尖 Shoot tip	30	1	3.3	26	86.7
	茎段 Stem segment	30	6	20	22	73.3
	叶片 Leaf	30	0	0	27	90.0
15	茎尖 Shoot tip	30	0	0	29	96.7
	茎段 Stem segment	30	1	3.3	28	93.3
	叶片 Leaf	30	0	0	28	93.3
16	茎尖 Shoot tip	30	3	10.0	27	90.0
	茎段 Stem segment	30	5	16.7	25	83.3
	叶片 Leaf	30	0	0	28	93.3

注:有少部分外植体受到污染,故部分出芽数(出愈数)和褐化数目的总和少于30。

Note: Because a small portion of explant contaminated, the sum of No. of buds (No. of buds callus) and No. of browning less than 30 in some treatments.

2.2 活性炭对高山杜鹃出芽、抗褐化的影响 将活性炭浓度为0的培养基归为A类,包括1、2、3、4号培养基;活性炭浓度为1.0 g/L的归为B类,包括5、6、7、8号培养基;活性炭浓度为1.5 g/L的归为C类,包括9、10、11、12号培养基;活性炭浓度为2.0 g/L的归为D类,包括13、14、15、16号培养基。由表3可知,A类培养基的平均出芽率最低,褐化率最高,B、C、D类培养基的平均出芽率较A类高,褐化率较A类低。这可能是由于加入的活性炭吸附了引起褐化的酚类、萘醌类等物质。其中,以C类培养基的平均出芽率最高,在一定程度上降低了平均褐化率。

表 3 活性炭对茎段出芽、抗褐化的影响
Table 3 The influence of AC on the bud and browning

类别 Sorts	活性炭浓度 AC concentration mg/L	接种茎 段数 No. of stem seg- ments inocu- lated		平均出芽率 Mean bud- ding rate %	褐化数 No. of browning	平均褐化率 Mean brow- ning rate %
		出芽数 No. of buds	接种数 No. of inoculated			
A	0	2	120	1.7	109	90.8
B	1.0	42	120	35.0	84	70.0
C	1.5	51	120	42.5	66	55.0
D	2.0	14	120	11.7	100	83.3

2.3 活性炭、激素组合诱导出芽的效果 研究表明,10号培养基1/4 MS+2-ip 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+AC 1.5 g/L、11号培养基1/4 MS+2-ip 4.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+AC 1.5 g/L的芽诱导率较高,有较高的出芽率,在一定程度上较好地抑制外植体褐化。

3 讨论

高山杜鹃组织培养需要解决的关键问题是褐化。该试验以A类培养基为对照,在B、C、D类培养基中分别加入不同量的活性炭及不同的激素配比,探索活性炭和激素对比对高山杜鹃组织培养的关系及对高山杜鹃出芽率、褐化率的影响。活性炭在培养基中的吸附作用是没有选择性的。一方面,活性炭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;另一方面,活性炭也能吸附植物激素等生长调节物质,不利于诱导出芽和愈伤组织。在活性炭与激素之间找出合适的浓度配比,既可以保证较高的出芽率,又可以减轻外植体的褐化程度。研究表明,1/4 MS+2-ip 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+AC 1.5 g/L、1/4 MS+2-ip 4.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+AC 1.5 g/L为实现这一目标的较好培养基。

在MS液体培养中,1 mg活性炭大约能吸附100 μg生长调节物质^[5]。由此可知,只需要极少量活性炭就可以全部吸附液体培养基中的生长调节物质,使得外植体无法生长分化。该试验采用的培养基为MS固体培养基,研究表明当AC 1.5 g/L、2-ip 1~6 mg/L以及NAA 1.0 mg/L时,生长激素都能起到一定作用。研究还表明,用茎段诱导出芽的出芽率较高,外植体生长状况良好。因此,在MS固体培养基中,活性炭对生长激素的吸附量不能简单地套用MS液体培养基中的吸附量,活性炭的吸附作用情况较复杂,有待进一步研究。该试验的最高出芽率为56.7%,最低褐变率为40.0%。要完全克服高山杜鹃组织培养中的褐化现象,还有待进一步的

(下转第1704页)

息化管理与服务体系建设,推动安徽农业信息化和现代化,促进农村经济的全面可持续发展。

4.2 建设原则 应包括:①坚持遵循国家和安徽省信息化总体规划的总原则;②坚持统一规划、信息资源共享原则,充分利用已有基础,打破行业界限,避免重复建设,实现信息资源共享;③以需求为主导,面向实际应用,从“三农”尤其是从农村信息服务和规范化、程序化、现代化管理等当前最迫切的需求出发,确保体系建设的针对性、实用性和长效性;④突出重点,根据安徽现代农业建设和管理的需要,优先选择对其发展有重大影响和重大应用前景的技术为突破口和切入点,进行系统规划;⑤按国家规范标准设计,保障系统的安全运行,不断扩展升级系统,数据表示、专业分类、编码标准、记录格式等都必须按照统一的规定,以保证软件和数据匹配、交换和共享,使分级用户最大限度地进行各种需求操作,使应用系统实现可维护性、可扩展性、可移植性,同时在系统设计时留有接口,在现行系统上增加功能模块来实现功能的扩充;⑥遵循先进性和超前性原则,系统的平台选择和软硬件配置应立足于实际,在满足系统功能要求和尽可能降低资金投入的同时,满足系统先进性的要求,同时数据库和地理信息系统的平台选型、体系架构设计、软硬件配置以及数据和图层结构的优化等应能满足未来中长期发展的需要,保持技术的先进性;⑦充分考虑常规媒体应用,按照网络与常规媒体应用相结合的思路设计传播手段,建成信息网络与电视、广播、报刊等传统媒体相结合的农业信息服务体系,其中省一级主要建设承担环境资源信息监测、核心网站信息采集、协调的“农业信息监测采编中心”和承担数据库及核心网站开发、维护及各系统服务器承载的“农业信息数据中心”组成的省农业信息中心,17个地级市和76个涉农县级农业管理部门应建设负责信息采集、发布及技术指导的市、县级农业信息服务中心,乡镇级政府及其村级自治组织建设直接面对本地农民、农村、农业和相关企业及组织,负责信息采集和发布、信息技术推广普及应用的农业信息服务站;⑧采用在岗培训提高、引进、从大中专院校招聘录用等办法,使全省建立并保持一支6 000人左右的专兼职信息员队伍。

4.3 组织保障措施 主要有:①由省政府成立建设领导小组,领导协调各部门的工作,在农业厅设立办公室,具体负责项目的规划、计划和检查、监督工作,办公室下设综合组、计财组、项目组,加强对建设的综合管理工作,其中,综合组具体负责各系统建设的日常事务、监督检查,计财组具体负责各系统的基建投资计划及资金管理,项目组具体组织工程实施和管理,负责系统建设方案的规划设计、仪器设备的选型、

招标和订货、设备的安装调试和试运行;②成立各有关单位、市、县、区项目领导组织协调和实施机构,实行省、市、县三级和部门领导小组负责制,并建立联席会议制度,及时解决建设运行中出现的问题;③成立建设监理小组,制定一系列规章制度和有关措施,配备懂专业、有一定管理能力和经验的领导和专业技术人员严把质量关,确保建设质量;④聘请国内外权威专家和学者成立省农业信息化专家委员会作为农业信息化管理与服务体系建设的智囊团,提高建设管理水平。

4.4 资金筹措与投入机制 中央和地方财政要按照建设需要,设立专项资金,制订优惠政策,多渠道筹集资金。建立建设引导基金,鼓励个人、集体、企业和外商投资,形成多元投资机制,且互为补充,共同推进信息体系建设。

4.5 人才培养与发展 要加强农村信息员队伍建设,保证每个乡镇有2~3名、每村有1名合格的专兼职信息员。加快培养农业信息化专门人才,在省属大中专院校设置相关专业,争取与国内、国外教育研究机构联合培养高级管理和技术人才,在实践中挖掘和培养一批优秀的信息采集、传输、处理和应用服务型人才。加大对农民的教育和培训,使他们能够熟练上网,及时获得所需要的信息;加强农业信息化知识的普及,逐步提高农业生产者、经营者的素质,使他们有意识地利用农业信息网络为生产、经营决策服务。

4.6 政策与法制保障 加快研究制定有关信息化的政策和法规,把信息化相关建设纳入法制化轨道。将信息产业列入产业统计科目,并且争取列入国民经济发展总体规划,在财政预算中列支信息产业这一科目;明确信息化工作的法律地位,规定信息化建设行为规范,将管理信息活动作为决策过程的一个法定程序;尽快组织制订地方信息法规,用法律手段调整和处理围绕信息化发展所产生的一系列新型的社会关系和社会问题;建立信息法律体系框架,包括信息资源管理法、信息技术法、信息产业法、信息流通法、信息人才法、信息机构组织法、信息物资管理法、信息安全保密法、信息产权法、国际信息合作交流法律制度等。

参考文献

- [1] 赵元凤.发达国家农业信息化的特点[J].中国农村经济,2002(7):74-78.
- [2] 曲春红.印度的农业信息化发展趋势及成功经验[J].世界农业,2003(11):33-35.
- [3] 吕晓燕,卢向峰,郝建胜.国内外农业信息化现状[J].农业图书情报学刊,2004(11):121-125.
- [4] 梅方权.中国农业信息化建设的前景展望[J].计算机与农业,2000(3):8-9.
- [5] 佚名.长江三角洲经济区概况[EB/OL].[2007-08-21]http://csj.xinhuanet.com/jianjie.htm.

(上接第1420页)

研究。

参考文献

- [1] 汤桂钧,张建安,蒋建平,等.高山杜鹃的组织培养快速繁殖技术研究[J].上海农业学报,2004,20(3):15-18.
- [2] 张长芹,冯宝钧,刘昌礼,等.几种常绿高山杜鹃的扦插试验[J].园艺

学报,1994,21(3):307-308.

- [3] 李琳,钟昌松,周香,等.活性炭在库拉索芦荟(*Aloe vera*)的组织培养中的应用[J].西南农业学报,2001,18(1):106-107.
- [4] 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.
- [5] 卜贤贤,陈维纶.活性炭对培养基中植物生长调节物质的吸附作用[J].植物生理学报,1988,14(4):401-405.