

活性炭和不同碳源对烟草苯乙酸一步成苗培养的影响

彭耀东¹, 黄英金², 何宽信¹, 颜金明³, 张正杨¹

(1.江西省烟草公司, 南昌 330025; 2.江西农业大学, 南昌 330045; 3.安福县烟草公司, 江西 安福 343200)

摘要: 通过将生长素苯乙酸(PAA)应用于烟草单倍体植株叶脉组织培养, 研究了活性炭和不同碳源在烟草单倍体植株叶脉组织苯乙酸(PAA)一步成苗培养中的作用及机理。结果表明, 麦芽糖并不是促使PAA一步成苗培养成功的唯一碳源, 葡萄糖具有同麦芽糖相同的功效。添加活性炭后, 蔗糖也可促进PAA一步成苗的发生, 主要机理是活性炭吸附了培养基中的5-羟甲基糠醛而促使PAA一步成苗的发生。果糖(或蔗糖分解出果糖)不是一步成苗的直接抑制因子, 只是在高温高压灭菌时易分解成5-羟甲基糠醛的前体物质, 一定浓度的5-羟甲基糠醛是PAA一步成苗的直接抑制因子。试验还表明, PAA对一步成苗的促进效应与碳源的种类和活性炭的添加与否有关。

关键词: 活性炭; 不同碳源; 烟草单倍体植株; 叶脉组织; PAA一步成苗培养

中图分类号: S572.04

文章编号: 1007-5119(2015)01-0084-06

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2015.01.016

The Effect of Active Carbon and Series of Carbohydrates Used in Tobacco on Haploid Plantlet Somatic Tissue PAA One-Step Seedling Formation Culture

PENG Yaodong¹, HUANG Yingjin², HE Kuanxin¹, YAN Jinming³, ZHANG Zhengyang¹

(1. Jiangxi Tobacco Company, Nanchang 330025, China; 2. Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 3. Anfu County Tobacco Company, Anfu, Fujian 343200, China)

Abstract: By applying the auxin phenylacetic acid (PAA) in tobacco haploid plantlet leaf vein tissue somatic culture, the action and mechanism of active carbon and different category of the carbohydrate effect PAA used in leaf vein tissue culture one-step seedling formation of tobacco haploid plantlet was researched. The results showed that maltose is not the sole carbon source prompting PAA one-step seedling formation success, the glucose have the same effect with the maltose. After adding activated carbon, sucrose may also promote the occurrence of PAA one-step seedling formation. the reason was proved by the experiment that sucrose will be decomposed into fructose and glucose in the condition of high-pressure-killing-bacterium. And, in the same condition, fructose can be decomposed into 5-hydroxymethyl furfural (HMF). HMF is an inhibitor of one-step seedling formation which can be absorbed by active carbon. The experiments show that the effect of PAA stimulating one-step seedling formation appears to depend on the category of the carbohydrate and active carbon.

Keyword: active carbon; series of carbohydrates; tobacco haploid plantlet; somatic tissue culture; PAA one-step seedling formation

苯乙酸(phenylacetic acid, PAA)是一种天然存在的植物生长素, 其活性比吲哚乙酸(IAA, Indole-3-acetic acid)和萘乙酸(NAA, Naphthaleneacetic acid)都要弱得多, 但在高等植物中存在的浓度却比IAA高出4~6倍, 和人工合成的高活性的植物生长调节剂相比, 其诱发突变的可能性要小得多^[1]。苯乙酸(phenylacetic acid, PAA)应用于烟草单倍体植株叶脉组织培养并成功获得一

步成苗, 降低克隆培养过程遗传变异已有报道^[2], 但目前培养中所用碳源必须是麦芽糖才能获得一步成苗, 而蔗糖却不能获得一步成苗, 麦芽糖造价昂贵, 使用起来很不经济。本试验根据碳源在高温灭菌条件下的分解机理, 将活性炭和多种碳源以不同方式和组合加入培养基中, 旨在进一步完善苯乙酸一步成苗培养系统和烟草花培育种技术, 加快烟草新品种选育的进程。

作者简介: 彭耀东, 男, 硕士, 农艺师, 主要从事烟叶生产管理与技术研究工作。E-mail: 35696288@qq.com

收稿日期: 2014-04-29

修回日期: 2014-08-21

1 材料与方法

1.1 供试材料

取烟草 (*N. tabacum* L.) 品种 K326、“CF965 × 中烟 90”杂种 1 代 F1(简称 CF1)、“K326 × G28”杂种 1 代 F1(简称 KF1) K346 经花药培养再生植株后移栽成活的单倍体植株倒 2 叶 5 mm 的主脉切段为外植体接种培养。

1.2 试验设计

1.2.1 添加活性炭对 PAA 一步成苗培养的影响 基本培养基采用 MS 配方, 另添加 50 mg/L 的谷氨酰胺。通过采用 $L_{16}(4^4 \times 2^3)$ 正交表设计试验对欲研究的 5 种培养基添加成分进行研究, 各因子及其水平具体如下: PAA 用量 (X1): 5.0、10、15、25 mg/L; 6-BA 用量 (X2): 0.5、1.0、1.5、2.5 mg/L; NAA 用量 (X3): 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L; 活性炭用量 (X4): 0、5、10、15 g/L; 碳源种类及用量 (X5): 蔗糖 30 g/L, 麦芽糖 30 g/L。各处理组合如表 1。

表 1 按 $L_{16}(4^4 \times 2^3)$ 正交表设计因子及其水平组合
Table 1 Surface design factors and levels of orthogonal combination, $L_{16}(4^4 \times 2^3)$

处理	X1	X2	X3	X4	X5
D1	5.0	1.0	2.0	5.0	麦
D2	15.0	2.5	0.5	5.0	蔗
D3	10.0	2.5	2.0	10.0	蔗
D4	25.0	1.0	0.5	10.0	麦
D5	5.0	1.5	0.5	15.0	麦
D6	15.0	0.5	1.5	15.0	蔗
D7	10.0	0.5	0.5	0.0	麦
D8	25.0	1.5	2.0	0.0	蔗
D9	5.0	0.5	3.0	10.0	蔗
D10	15.0	1.5	1.0	10.0	麦
D11	10.0	1.5	3.0	5.0	蔗
D12	25.0	0.5	1.0	15.0	麦
D13	5.0	2.5	1.0	0.0	麦
D14	15.0	1.0	3.0	0.0	蔗
D15	10.0	2.5	1.0	15.0	麦
D16	25.0	1.0	3.0	5.0	蔗

1.2.2 不同碳源对 PAA 一步成苗的影响 基本培养基采用 MS 配方 附加 PAA 20 mg/L、NAA 0.5 mg/L、6-BA 1.0 mg/L, 谷氨酰胺 50 mg/L。在移栽单倍体植株的温室内用手术剪刀取移栽成活后生长旺盛

的单倍体植株的倒二或倒三叶, 置于加放冰块的保温瓶内。洗净污物后在超净工作台上用添加了几滴吐温-80 的 0.1% 的升汞溶液进行消毒, 消毒时间为 10 min, 用无菌水冲洗 3~4 次后, 置于垫有无菌滤纸的无菌培养皿内, 用解剖剪将其切割成约 5 mm 长的叶脉切段并接种于 100 mL 三角瓶内培养基上, 每瓶接种 6 小段。接种好的试验材料置于 22~28 °C 的培养室内暗处进行培养。当愈伤组织表面长出绿色芽点后转移至约 22~28 °C、2000 Lux、12 h 的光照下继续培养。

本试验设 9 个处理对蔗糖、麦芽糖、果糖、葡萄糖等 4 种碳源及活性炭进行研究。具体如下:

(1) 添加的碳源都经高温高压灭菌的处理: R1: 蔗糖 30 g/L; R2: 麦芽糖 30 g/L; R3: 果糖 30 g/L; R4: 葡萄糖 30 g/L; R5: 葡萄糖 15 g/L+果糖 15 g/L; R6: 蔗糖 30 g/L+活性炭 10 g/L; R7: 麦芽糖 30 g/L+活性炭 10 g/L, 以上 7 处理的碳源与基本培养基同时在高压灭菌锅内 121~125 °C 灭菌 15 min。

(2) 添加的碳源经过滤灭菌的处理: R8: 果糖 30 g/L; R9: 蔗糖 30 g/L; R10: 葡萄糖 30 g/L+5-羟甲基糠醛 (HMF) 0.5 mg/L, 然后通过过滤灭菌加入所需用量的果糖、蔗糖。

1.3 操作过程

除须设置处理外的其他无菌操作及培养过程参照李俊明^[3]的方法进行。

1.4 评价项目与方法

愈伤组织诱导率/% = (愈伤组织块数/接种叶脉切段数) × 100

愈伤组织分化率/% = (有分化的愈伤组织块数/愈伤组织块数) × 100

一步成苗率/% = (一步成苗再生植株数/接种叶脉切段数) × 100

一步成苗愈伤比例/% = (一步成苗的愈伤组织块数/愈伤组织总块数) × 100

仅分化无根苗的愈伤比例/% = (分化无根绿苗的愈伤组织块数/愈伤组织总块数) × 100

无根苗成苗率/%=(再生无根植株数/接种叶脉切段数)×100

愈伤大小、苗长势、根长势等指标可参照谭文澄^[4]、吕芝香^[5]的标准及方法通过打分方法量化。

愈伤组织诱导率在下文中简称为诱导率,愈伤组织分化率在下文中简称为分化率。

1.5 数据处理

参照萧兵^[6]提出的方法对正交试验统计结果进行分析。按照统计学要求,部分数据进行方差分析时对百分数资料经过了反正弦转换。

1.6 培养基中糖及 HMF 的测定

培养基配制好后,每处理的 2/3 用来接种单倍体叶脉切段进行培养,另外 1/3 用来进行糖及 HMF 的测定。糖的测定采用蒽酮比色法^[7],测定的指标有蔗糖、果糖、葡萄糖含量,未添加蔗糖的处理不进行蔗糖测定;HMF 的测定采用 WINKER 法,在培养基高温高压灭菌后的第 2 天进行测定。

2 结果

2.1 添加活性炭对 PAA 一步成苗培养的影响

表 2 表明,3 种基因型来源的单倍体植株叶脉切段培养结果具有相似的规律性。添加 PAA 的培养基对烟草叶脉切段的培养结果与培养基中活性炭的含量及碳源的种类有关。未加活性炭,添加了麦

芽糖的 D7、D13 培养基上的叶脉接种后 10 d 左右,伤口部位开始胀大,并逐渐形成乳白色愈伤组织,愈伤组织体积随培养时间延长而增大;未加活性炭,添加了蔗糖的 D8、D14 培养基上的叶脉切段接种 10 d 后也胀大,并形成乳白色愈伤组织,愈伤组织大小与 D7、D13 并无差异,但随着培养时间的延长并无不定芽的分化。未加活性炭,添加了麦芽糖的 D7 培养基与添加了蔗糖的 D14 培养基在愈伤组织诱导率上差异不显著,与 D8 差异极显著;未加活性炭,添加了麦芽糖的 D13 培养基与添加了蔗糖的 D14 培养基在愈伤组织诱导率上差异显著,与 D8 差异极显著。

大部分添加了活性炭处理,其碳源无论是蔗糖还是麦芽糖,如在 D2、D3、D12、D15、D16 等培养基上都有烟草小苗的直接再生。在含活性炭的培养基上再生的小苗具有较好的素质,如叶色浓绿,展开正常,根长且粗。但在这些培养基上的一步成苗率很低,如用 K326 培养的 D2 处理为 36.11%、D3 为 66.67%、D12 为 40%、D15 为 50%、D16 为 33.33%,各处理间差异极显著。与未加活性炭,添加了麦芽糖的 D7、D13 培养基在一步成苗率上差异也极显著,也有些添加活性炭的处理没有一步成苗再生植株。

从添加生长素 PAA 的不同成分培养基对烟草叶脉切段培养的一步成苗率来看,接种在无活性导

表 2 各处理出苗情况

Table 2 The emergences of each treatment

处理	K326			CF1			KF1		
	接种叶脉切段数	愈伤组织诱导率/%	一步成苗率/%	接种叶脉切段数	愈伤组织诱导率/%	一步成苗率/%	接种叶脉切段数	愈伤组织诱导率/%	一步成苗率/%
D1	36.00	22.22fFG	0.00hH	36.00	24.36fF	0.00 gG	36.00	20.62fgFG	0.00gG
D2	36.00	41.67dE	36.11fF	36.00	40.77eE	38.10efEF	36.00	39.84eE	35.17fF
D3	36.00	58.33cD	66.67cC	36.00	60.32cdCD	68.96cC	36.00	54.33dD	67.69cC
D4	36.00	16.67hH	0.00hH	36.00	14.35hH	0.00gG	36.00	16.43gG	0.00gG
D5	36.00	0.0j	0.00hH	36.00	0.00j	0.00gG	36.00	0.00iI	0.00gG
D6	36.00	19.64gGH	0.00hH	36.00	18.45gG	0.00gG	36.00	19.76gG	0.00gG
D7	36.00	100.00aA	455.56aA	36.00	100.00aA	450.86aA	36.00	100.00aA	465.33aA
D8	36.00	16.67hH	0.00hH	36.00	16.28ghGH	0.00gG	36.00	15.46gG	0.00gG
D9	36.00	0.00j	0.00hH	36.00	0.00j	0.00gG	36.00	0.00iI	0.00gG
D10	36.00	5.56iI	0.00hH	36.00	5.85iI	0.00gG	36.00	5.08hH	0.00gG
D11	36.00	25.00eF	0.00hH	36.00	20.00fgFG	0.00gG	36.00	26.00fF	0.00gG
D12	30.00	56.67cD	40.00eE	30.00	54.39dD	43.41eE	30.00	58.67dD	46.30eE
D13	36.00	88.89bB	294.44bB	36.00	82.36bB	284.42bB	36.00	85.39bB	300.12bB
D14	36.00	100.00aA	0.00hH	36.00	100.00aA	0.00gG	36.00	100.00aA	0.00gG
D15	36.00	75.00cC	50.00dD	36.00	68.00cC	54.23dD	36.00	73.00cC	58.36dD
D16	36.00	41.67dE	33.33gG	36.00	42.58eE	36.93fF	36.00	44.01eE	32.76fF

注:同行数据后不同小写字母表示处理间差异达到 5%显著水平,大写字母不同表示处理间差异达到 1%极显著水平,下同。

炭、碳源为蔗糖的培养基上的叶脉切段，只能诱出愈伤组织而不能一步成苗。但如果碳源为麦芽糖，则可以诱导出愈伤组织进而再生植株一步成苗，并且具有很高的成苗率。在添加了活性炭的培养基上，无论碳源是蔗糖还是麦芽糖都可以诱导一步成苗，但出苗率较低。究其原因可能是蔗糖经高压灭菌后的分解产物不利于一步成苗的发生，而添加一定量的活性炭后这种分解产物被吸附，从而又可诱导一步成苗的发生。

2.2 不同碳源影响 PAA 一步成苗培养的机理

从表 3 的结果直观分析，两种基因型之间有一定的差异，但总的趋势是一致的。R2、R4 两个处理能促进烟草叶脉切段培养获得一步成苗，同时还能产生无根绿苗，这说明麦芽糖和葡萄糖均能促进一步成苗及无根绿苗的发生；从 R1、R3 两个处理的结果看，果糖和蔗糖不能促使产生一步成苗，并且也不能产生无根绿苗，只能诱导出愈伤组织。本试验中蔗糖和麦芽糖对一步成苗的效应与前文的结果相符。从 R5 处理的结果看，葡萄糖和果糖配合使用也只能诱导出愈伤组织而不能促使一步成

苗的发生，但 R4 中用葡萄糖单独处理叶片却能获得一步成苗，这说明果糖与培养基中抑制一步成苗及无根绿苗发生的效应有关。在分化率、一步成苗比例、苗长势、根长势方面 R2、R4 两个处理与 R1、R3、R5 差异极显著，在诱导率方面 R2 与 R1、R3、R5 差异不显著，在愈伤大小方面 R4 与 R1、R3、R5 差异不显著。同时通过对培养基中碳源成分的检测结果显示，不能促进一步成苗及无根绿苗发生的 R1 中含有浓度高达 9.06 g/L 的果糖，这是蔗糖经高压灭菌后分解成果糖和葡萄糖的结果；只添加果糖作碳源的 R3 处理的果糖浓度则更高，为 19.6 g/L。这进一步说明一定浓度的果糖与抑制一步成苗的效应有关。从检测结果看，R6 中也含有高达 8.88 g/L 的果糖，但却有了一步成苗的发生。并且从单独添加果糖的 R8 处理及添加蔗糖的 R9 处理的培养结果看，R8 处理有无根绿苗的发生，R9 处理有了一步成苗的发生。R8 及 R9 处理的检测结果表明，两个处理分别含有 24.01 g/L 及 5.78 g/L 的果糖。综上所述，果糖不是抑制一步成苗发生的根本原因，而应该是与抑制一步成苗发生有相关关系的物质。

表 3 不同碳源对烟草单倍体植株叶脉切段培养的效应

Table 3 Effect of different carbon sources on culture haploids in tobacco leaf cutting

基因型	处理	接种叶脉切段数	诱导率/%	愈伤大小	分化率/%	仅分化无根苗愈伤比例/%	一步成苗愈伤比例/%	苗长势	总绿苗数(无根+有根)	根长势	每瓶根数	愈伤颜色
K326	R1	30.00	100.00aA	1.70deD	0.00eE	0.00eE	0.00eE	0.00cC	0.00	0.00cC	0.00dD	乳白
	R2	30.00	100.00aA	4.80aA	100.00aA	6.66dD	93.33aA	4.60aA	21+262	4.40aA	4.16aA	乳白
	R3	25.00	56.00dD	1.20efD	0.00eE	0.00eE	0.00eE	0.00cC	0.00	0.00cC	0.00dD	乳白
	R4	30.00	80.00bB	1.30eD	91.67bB	54.16bB	37.50bB	0.50bB	25+20	0.50bB	0.50cC	乳白
	R5	30.00	96.6aA	1.3eD	0.00eE	0.00eE	0.00eE	0.00cC	0.00	0.00cC	0.00dD	乳白
	R6	30.00	67.00cC	0.80fE	34.50dD	0.00eE	19.00dD	5.00aA	0+52	5.00aA	1.33bB	乳白
	R7	30.00	74.00bBC	0.50fE	28.80dD	0.00eE	23.00cdCD	5.00aA	0+43	5.00aA	0.50cC	乳白
	R8	30.00	96.67aA	2.20cdCD	86.20bB	86.21aA	0.00eE	0.70bB	76+0	0.00cC	0.00dD	乳黄
	R9	30.00	100.00aA	2.80cC	56.66cC	30.00cC	26.67cC	0.70bB	23+21	0.70bB	0.67cC	黄褐
	R10	30.00	100.00aA	3.50bB	0.00eE	0.00eE	0.00eE	0.00cC	0.00	0.00cC	0.00dD	乳白
K346	R1	25.00	100.00aA	3.60bB	0.00cC	0.00eD	0.00dD	0.00dD	0.00	0.00dD	0.00cC	乳白
	R2	30.00	100.00aA	4.80aA	100.00aA	6.66dC	93.33aA	3.90aA	16+211	4.00bB	3.33aA	乳白
	R3	30.00	70.00cC	3.80bB	0.00cC	0.00eD	0.00dD	0.00dD	0.00	0.00dD	0.00cC	乳白
	R4	20.00	95.00bAB	4.30abAB	100.00aA	26.32bB	73.68bB	1.40bB	22+61	0.75cC	0.75bB	乳白
	R5	25.00	92.00bB	2.90cC	0.00cC	0.00eD	0.00dD	0.00dD	0.00	0.00dD	0.00cC	乳白
	R6	30.00	58.00eE	0.50eE	27.60bB	0.00eD	25.00cC	4.00aA	0+69	4.00bB	0.83bB	乳白
	R7	30.00	64.00dD	0.90dD	19.80bB	0.00eD	20.00cC	4.00aA	0+49	5.00aA	0.50bB	乳白
	R8	30.00	93.33bB	4.00bB	100.00aA	100.00aA	0.00dD	0.80cC	50+0	0.00dD	0.00cC	黄褐
	R9	30.00	100.00aA	4.30abAB	100.00aA	20.00cB	80.00bB	0.60cC	12+48	0.80cC	0.83bB	黄褐
	R10	30.00	100.00aA	3.80bB	0.00cC	0.00eD	0.00dD	0.00dD	0.00	0.00dD	0.00cC	乳白

R8及R9二处理诱导出的愈伤组织及产生的绿苗培养到约60d后全部褐化坏死,并且愈伤组织的颜色由前期的乳黄色逐渐变为黄褐色。这可能因为碳源未经过高温消毒的培养基更有利于多酚氧化酶的合成或活性的提高,有关机制尚待进一步研究证实。按照这一假设,我们进行了重复试验并设置了R10处理,同时对糖类在高温高压下易分解产生对植物组织培养成苗有抑制作用的5-羟甲基糠醛(HMF)在培养基中的浓度进行了测定。测定结果如表4所示,只能诱导愈伤组织的处理其HMF的含量都是能一步成苗处理含量的10倍甚至100倍,差异达极显著水平。这说明一定浓度的HMF很有可能是抑制成苗的根本原因。并且所有果糖含量高的处理,HMF的含量也很高,经相关分析,果糖含量与HMF浓度的相关系数达0.9756^{**}。只有添加了活性炭的R6、R7处理及未经高温消毒的R8及R9处理例外。导致R6、R7处理产生这一例外现象的原因是由于活性炭大量吸附了培养基中的HMF。导致R8及R9处理中这一现象的原因则是果糖和蔗糖未经高温消毒因而只分解产生少量的HMF,同时R10处理的培养结果也充分证明一定浓度的HMF是抑制一步成苗的真正原因。总而言之,在本试验中一定浓度的HMF是抑制成苗的直接原因,而果糖只是在高温条件下更易分解成HMF,是抑制一步成苗的间接原因。

在植物组织培养中添加碳源,既是为细胞提供合成新化合物的碳骨架,也是为细胞的呼吸代谢提供底物与能源,还可以维持一定的渗透势^[4,8]。在未添加活性炭的PAA一步成苗培养试验中,当以蔗糖或果糖为碳源时,只能诱导出愈伤组织;但当添加的蔗糖或果糖不经高温高压灭菌,而是过滤灭菌时则有一步成苗的发生,但诱导出的愈伤组织和获得的一步成苗再生植株在培养的后期易褐变坏死。而添加的碳源为麦芽糖或葡萄糖时,则可以诱导出愈伤组织进而获得一步成苗的发生;如果在培养基中再添加一定量的活性炭时,则无论添加的是蔗糖还是麦芽糖都可以获得一步成苗的发生,并且具有很高的幼苗素质,但成苗的数量明显减少。

表4 培养基中糖及HMF含量
Table 4 The sugar and HMF contents in culture medium

处理	糖的测定		HMF/ (mg·L ⁻¹)	培养 结果
	糖种类	浓度/(g·L ⁻¹)		
R1	蔗糖	13.15	0.6394cC	愈伤 组织
	果糖	9.06		
	葡萄糖	6.55		
R2	果糖	0.96	0.0833eE	一步 成苗
	葡萄糖	17.38		
R3	果糖	19.61	2.0383aA	愈伤 组织
	葡萄糖	1.96		
R4	果糖	0.9375	0.0368ghFGH	一步 成苗
	葡萄糖	18.05		
R5	果糖	6.04	0.8079bB	愈伤 组织
	葡萄糖	5.43		
R6	蔗糖	7.88	0.062efEF	一步 成苗
	果糖	8.88		
	葡萄糖	1.2		
R7	果糖	1.05	0.0097iH	一步 成苗
	葡萄糖	23.31		
R8	果糖	24.01	0.0465fgFG	无根 绿苗
	葡萄糖	0.22		
R9	蔗糖	13.32	0.0136hiGH	一步 成苗
	果糖	5.78		
	葡萄糖	4.01		
R10	果糖	0.6375	0.5021dD	愈伤 组织
	葡萄糖	19.12		

3 讨论

通过设计专门试验进行验证表明,果糖是抑制成苗的间接因子,而其在高温高压灭菌过程中分解出的高浓度的HMF才是抑制成苗的直接因子;高浓度的果糖在高温条件下是HMF产生直接原因。而添加适量的活性炭则可以大量吸附糖类在高温高压灭菌过程中产生的HMF。Weatherhead等^[9]认为,在添加了活性炭的烟草花药培养中,雄核发育频率的增高是由于活性炭吸附了有害的HMF,并且认为HMF是高压消毒时由蔗糖分解产生的。朱至清等^[10]也认为蔗糖在高压灭菌时易分解产生HMF。谭文澄等也提到蔗糖在高压灭菌时产生一种降解产物-5-羟甲基糠醛(HMF),当采用活性炭时,HMF可被活性炭吸附,因此受HMF抑制的烟草花药培养物就能顺利生长^[4]。本文通过试验证实HMF主要是由果糖高温高压条件下产生的,而蔗糖分解成HMF是因为蔗糖高温高压下会分解出果糖。这与

Weatherhead 等^[9]的论点是一致的。颜昌敬^[11]也介绍添加 0.5% 的活性炭能使分化的幼苗生长健壮, 根系发达。这与本文研究中获得的结果一致。活性炭对苗素质的促进作用还可能与活性炭增加了培养基中微量元素含量, 协调培养基中大量元素与微量元素的平衡有关^[12]。谭文澄等^[4]还提到加入活性炭使培养基变黑而类似于土壤, 对一些植物的诱导生根有利。但活性炭的具体功能及其作用过程如何目前仍处于摸索和积累经验的阶段。

4 结 论

麦芽糖并不是该类一步成苗成功的唯一碳源, 葡萄糖具有同麦芽糖相同的功效。添加活性炭的主要作用是吸附培养基中的 5-羟甲基糠醛而促使一步成苗的发生。而一定浓度的 5-羟甲基糠醛则是一步成苗的直接抑制因子, 果糖只是一种在高温灭菌时易分解成 5-羟甲基糠醛的前体物质, 而并不是一步成苗的直接抑制因子。

参考文献

[1] 卓丽圣, 斯华敏, 程式华, 等. 苯乙酸促进水稻花药愈伤组织的再分化和直接成苗[J]. 中国水稻科学,

1996, 10 (1) : 37-42.

- [2] 彭耀东, 黄英金, 何宽信, 等. 苯乙酸对烟草单倍体植株叶脉组织培养一步成苗的效应研究[J]. 中国烟草学报, 2004, 10 (2) : 27-34.
- [3] 李俊明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1992.
- [4] 谭文澄. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991.
- [5] 吕芝香. 碳源种类和浓度对愈伤组织生长的影响[J]. 植物生理学通讯, 1981 (6) : 1-5.
- [6] 萧兵. 农业多因素试验设计与统计分析[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985.
- [7] 何照范. 粮油籽粒品质及其分析技术[M]. 北京: 农业出版社, 1985.
- [8] 詹祥灿. 植物细胞胚状体与器官发生的激素调节[J]. 植物生理学报, 1983, 9 (3) : 313-323.
- [9] 奚元龄. 植物组织培养手册[J]. 北京: 农业出版社, 1989.
- [10] 朱至清. 花药和花粉培养[D]//罗士韦、徐智宏. 经济植物组织培养. 北京: 科学出版社, 1988.
- [11] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 61.
- [12] 张宪银. 烟草花药培养中活性炭与大量元素的互作效应[J]. 贵州农学院学报, 1996, 15 (2) : 1-6.