

芒果离体胚轴的植株再生*

王晓峰 傅家瑞

黄惠玲

(生物学系)

(广东省医药学校)

摘要 试验了不同抗氧化剂及活性炭防止芒果离体胚轴褐变的效果,发现0.5%活性炭可有效抑制其褐变。WPM液体培养基外加0.5%活性炭,3%蔗糖,6mg/L IBA,4mg/L KT及pH5.5~5.8,适宜芒果离体胚轴的萌发与生长。

关键词 植株再生,离体胚轴,芒果

芒果是世界五种热带名果之一,果实色、香、味极佳,且富含维生素A,多采用实生、嫁接、压条等方法繁殖^[1]。芒果种子是顽拗性种子,寿命非常短,不耐脱水及零下低温^[2],目前还没有适宜方法能将其长期贮藏。现在有人发现油棕^[3]、南洋杉^[4]的离体胚能耐干燥及液氮保存,这为顽拗性种子的长期贮藏开辟了一条新的途径。要进行芒果离体胚轴的液氮保存,首先要求一套体外培养技术使离体胚轴在经过干燥及贮藏后能再生植株。可是,芒果离体胚轴的植株再生较困难,外植体常常发生褐变而死亡。目前,芒果的组织培养国内未见报道,国外则有从珠心组织诱导出体胚并再生植株^[5~8]。本试验旨在探讨芒果种子离体胚轴植株再生的条件,为继续深入研究其脱水及低温贮藏特性以及为研究芒果的快速繁殖奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料及消毒处理 海南本地芒果(*Mangifera indica* L.)采自海南省昌江县石碌水库果场。成熟果实用自来水洗净后,在70%乙醇中浸泡5min,再用0.1%HgCl₂溶液消毒10min,用无菌水冲洗3次,然后剥出种子,再分离出胚轴(包括胚芽及胚根),为了不伤害胚轴,剥取的胚轴留有少量子叶。

1.2 防止外植体褐变的方法 采用DK液体培养基,附加6mg/L IBA和4mg/LKT,3%蔗糖,pH为5.5,再向培养基中分别添加不同浓度的硫代硫酸钠、大牛血清蛋白、抗坏血酸与半胱氨酸的混合物以及聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和活性炭。另外也试验光照对外植体褐变的影响。

1.3 基本培养基的筛选 基本培养基为DK,MS,1/2 MS,WPM培养基,附加6mg/L IBA,4mg/L KT,0.5%活性炭,3%蔗糖,pH值为5.5。

1.4 培养条件 25℃±2℃,每天照光12h,光强1000~2000Lx

2 结果与讨论

2.1 外植体褐变的防止

本文1990年6月6日收到

• 国家自然科学基金资助项目

2.1.1 不同抗氧化剂的效果. 于DK培养基中加入不同浓度的硫代硫酸钠、大牛血清蛋白以及抗坏血酸与半胱氨酸的混合物, 试验结果如表1.

表1 不同抗氧化剂及吸附剂防止芒果离体胚轴褐变的效果

Tab.1 Effects of different antioxidants and activated charcoal on preventing oxidative browning of excised embryonic axes of mango.

抗氧化剂和吸附剂种类及浓度	防止褐变效果
1,5,10(g/L)硫代硫酸钠	接种一周后, 外植体全部褐变死亡.
0.5,1,1.5(g/L)大牛血清蛋白	同上.
10g/L抗坏血酸+2g/L半胱氨酸	接种10天后, 外植体逐渐褐变死亡.
0.1%,0.5%,1%PVP	褐变程度减轻,但培养20天后外植体最终全部褐变死亡.
0.1%,0.5%,1%活性炭	外植体在0.5%及1%活性炭的培养基上未褐变,发芽率达100%,可成苗

2.1.2 不同吸附剂的效果. 试验了3种浓度的PVP及活性炭(表1): 0.1%,0.5%及1%,发现培养基中加入0.5%~1%的活性炭可有效地抑制外植体褐变.

2.1.3 铁的影响. 在分离外植体时,若用铁刀,则外植体切面很快褐变,但若用自制的铝刀来分离外植体,则其切面褐变较慢.同时,我们也试验了不加铁元素的液体DK培养基来培养外植体,发现外植体褐变较慢,但最终仍全部褐变死亡.

2.1.4 光照的影响. 试验了在光下(1000~2000Lx)及黑暗中培养外植体,结果发现黑暗中培养的外植体褐变程度及速度与光下培养的外植体相同,说明光对芒果离体胚轴的褐变影响不显著.

褐变是外植体中的酚类物质被多酚氧化酶氧化后产生棕褐色的醌类物质,然后扩散到培养基中,抑制其它酶的活性,毒害整个外植体组织^[9].在培养基中加入抗氧化剂,可以防止某些外植体的褐变,如硫代硫酸钠可防止核桃外植体褐变^[10,11].但我们的结果表明培养基中加入硫代硫酸钠、大牛血清蛋白以及抗坏血酸与半胱氨酸的混合物,不能有效地控制芒果离体胚轴的褐变.0.1%~0.5%活性炭对吸附酚类氧化物也有明显效果^[9],同样可有效地防止某些植物外植体的褐变.如0.5%活性炭可防止龙眼外植体褐变^[12],0.25%活性炭+0.6%蔗糖溶液预处理油棕叶片,可以减少其褐变^[13].我们的试验结果也表明用0.5%活性炭就可有效地防止芒果离体胚轴的褐变.

2.2 基本培养基的筛选 基本培养基为DM,MS,1/2 MS,WPM液体培养基,每种培养基外加6mg/L IBA,4mg/L KT,0.5%活性炭,3%蔗糖,pH5.5.结果如表2.

结果表明,芒果离体胚轴可在DK及WPM液体培养基中正常成苗,WPM培养基效果更好.芒果离体胚轴在MS及1/2 MS液体培养基中皆可萌发,但最后仍褐变死亡,不能成苗,其原因有待进一步研究.

2.3 蔗糖浓度及pH值的影响 WPM液体培养基中各加入1%,3%,5%,7%蔗糖,同时加入6mg/L IBA,4mg/L KT,0.5%活性炭,pH5.5.结果发现3%~5%的蔗糖浓度较适宜芒果离体胚轴的萌发和生长.

表2 芒果离体胚轴在不同培养基中的萌发及生长情况
 Tab. 2 Germination and growth of excised embryonic axes of mango
 on different media

培养基种类	培养结果
DK	100%发芽率, 接种10天后, 根长约1.5cm, 长芽约1mm, 可成苗。
MS	100%发芽率, 接种10天后, 根长约0.5cm, 刚出芽。但20天后, 全部褐变死亡, 不能成苗。
1/2 MS	同上。
WPM	100%发芽率, 接种10天后, 根长约1~3cm, 芽长1~3mm, 可成苗

WPM液体培养基中加入3%蔗糖, 0.5%活性炭, 6mg/L IBA, 4mg/L KT, 然后将pH值分别调至5.2, 5.5, 5.8, 6.2, 6.7, 7.0。结果发现芒果离体胚轴在pH5.2~7.0的范围内皆可萌发, 但在pH5.2的培养基中, 材料最后变红而死亡, 在pH6.7, 7.0的培养基中则生长缓慢, 而pH5.5~5.8的培养基适宜芒果离体胚轴的生长。

综上所述, 将芒果离体胚轴用铝刀从种子中分离出来, 接种在WPM液体培养基附加0.5%活性炭, 3%蔗糖, 6mg/L IBA, 4mg/L KT, pH5.5~5.8, 培养在25℃±2℃, 每天光照12h, 光强1000~2000Lx条件下, 可再生植株, 但离体胚轴的再生植株比实生苗瘦弱。

参 考 文 献

- 1 黄昌贤. 中国果树栽培学(中国农业科学院果树研究所主编). 北京: 农业出版社, 1987: 1106~1119
- 2 King MW *et al.* In *Recalcitrant Crop Seeds* (Eds Chin, HF and Roberts, EH). Tropical Press, Malaysia. 1980: 53~89
- 3 Grout B W W *et al.* *Annals of Botany*, 1983, 52: 381~384
- 4 Pritchard H W *et al.* *Journal of Experimental Botany*, 1986, 37: 1388~1397
- 5 Dewald S G *et al.* *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1989, 114: 712~716
- 6 Dewald S G *et al.* *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1989, 114: 837~841
- 7 Litz R E. *Hortscience*, 1984, 19: 715~717
- 8 Litz R E *et al.* *Plant Cell Reports*, 1982 (1): 264~266
- 9 陈正华. 木本植物组织培养及其应用. 北京: 高等教育出版社, 1986: 34~36
- 10 刘淑兰等. 北京农业大学学报, 1986, 12: 143~148
- 11 刘淑兰等. 植物生理学报, 1989, 15: 98~100
- 12 魏文雄. 木本植物组织培养及其应用(陈正华主编). 北京: 高等教育出版社, 1986: 408~419
- 13 崔元方等. 木本植物组织培养及其应用(陈正华主编). 北京: 高等教育出版社, 1986: 466~480

Plant Regeneration from Excised Embryonic Axes of Mango

Wang Xiaofeng* Fu Jiarui Huang Huiling

Abstract Different kinds of antioxidants and activated charcoal were examined to prevent oxidative browning of excised embryonic axes of mango cultured on medium. It was found that 0.5% activated charcoal was successful in preventing oxidative browning of excised embryonic axes of mango.

Plant regeneration from excised embryonic axes of mango was successful when they were cultured on WPM liquid medium supplemented with 0.5% activated charcoal, 6mg/L IBA, 4mg/L KT and 3% Sucrose, pH 5.5~5.8.

Keywords plant regeneration, excised embryonic axes, mango

* Department of Biology