

氮处理对银杏愈伤组织褐化的初步研究

樊鸿瑞¹ 冯瑾¹ 周小红¹

(1. 浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室 浙江杭州市 311300)

(2.

摘 要:银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 具有极高的观赏、经济和药用价值。组织培养技术可以迅速获得大量生长状态一致且能用于工业化生产的材料。褐化是银杏组织培养过程的主要问题之一, 然而目前并没有很好的解决方法。氮源和氮素利用效率 (NUE) 的改变对愈伤组织的生长发育有重要影响, 有研究表明氮与褐化之间存在很大关联性。为了探究氮的吸收利用如何影响银杏愈伤组织褐化, 本研究通过配制不同氮源并设置不同比例的培养基, 研究其对银杏合子胚愈伤组织诱导过程中的影响。经过不同的氨态氮和硝态氮处理发现氨态氮促进愈伤组织的诱导, 硝态氮有利于合子胚愈伤化但抑制愈伤组织的形成, 硝态氮浓度的增加会促进愈伤组织的褐化; 用不同浓度比的氨态氮/硝态氮处理愈伤组织发现, 0.52 浓度比的氨态氮/硝态氮更利于银杏愈伤组织维持, 但总氮浓度过高时改变氨态氮/硝态氮浓度比并不能缓解褐化。结合生理生化分析发现, 褐化程度与愈伤组织中的硝态氮和可溶性蛋白、酚类物质含量、超氧化物歧化酶活性、H₂O₂ 含量呈反比; 与氨态氮含量、过氧化物酶活性、O₂-含量呈正比。表明, 氮的同化、酚类物质和氧化还原反应均参与褐化过程。结合对硝酸盐转运体 (*NRTs*) 的表达分析, 结果显示低浓度硝酸盐 (LN) (9.7 mM NO₃⁻) 处理后 30 个 *GbNRTs* 的表达水平明显高于高浓度硝酸盐 (HN) (24.73 mM NO₃⁻) 处理后, 这些被认为是抑制褐变 *GbNRTs* (IB *GbNRTs*); 其余 25 个 *GbNRTs* 在 HN 处理后高表达, 如 NPF7 亚家族, 被分类为促进褐变 *GbNRTs* (PB *GbNRTs*)。 *GbNRTs* 的表达模式不同, 这表明, *GbNRTs* 在褐变过程中可能发挥不同的作用。本研究初步探究了氮对银杏愈伤组织褐化的影响, 筛选出与硝酸盐-转运相关的基因, 了解 *NRTs* 在离体培养中硝酸盐-摄取和利用过程中的表达情况, 对抑制银杏愈伤组织褐变至关重要。

关键词: 银杏; 褐化; 愈伤组织; 氮; *NRTs*