

不同培养基对苜蓿花药愈伤组织 继代和分化的影响

李增红,张博,陈爱萍,罗玉鹏

(新疆草地资源与生态重点实验室,新疆农业大学草业与环境科学学院,乌鲁木齐 830052)

摘要:将7种苜蓿品种(品系)(MT-2、MT-146、MT-328、MT-335、新牧1号、新疆大叶和KS220-97)的混合花药接种于N6大量元素+MS微量元素+MS铁盐+B5有机物+2,4-D 2mg/L+6-BA 0.5 mg/L的固液双层培养基上,诱导出愈伤组织,再转接到不同成分及添加物的培养基中培养,观察培养效果。结果表明:①在含MS、SH、N6的大量元素的培养基上的初代培养,MS或SH的效果好于N6,愈伤组织第5~9次继代培养中,N6大量元素培养基的继代培养效果最好。②花药愈伤组织继代培养基中添加AC、LH、PVP-40对愈伤组织的生长和防止褐变有明显作用。③继代培养中期,添加NAA超过0.5 mg/L时易褐化。④在N6大量元素培养基上的愈伤分化、生长表现好于其它培养基,1/2MS大量元素次之。⑤在分化培养的后期不加激素,有利于愈伤组织的生长。

关键词:苜蓿;花药;组织培养;培养基

中图分类号:S551.703.53

文献标识码:A

文章编号:1001-4330(2008)05-0950-06

Effect of Different Culture Medium on Callus Subculture and Differentiation from Alfalfa Anther

LI Zeng-hong, ZHANG Bo, CHEN Ai-ping, LUO Yu-peng

(Xinjiang Key Laboratory of Grassland Resource and Ecology, College of Pratacultural and Environmental Sciences, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: Mixed anther of seven alfalfa varieties or Strains(MT-2, MT-146, MT-328, MT-335, Xinmu No. 1, Xinjiang Daye and KS220-97) were inoculated on the double layer medium which contained N6 macroelement, MS microelements, MS molysite, B5 organic compound, 2,4-D 2 mg/L, 6-BA 0.5 mg/L, and induced callus, then the callus was induced on the medium of the different composition and the additives, to observe its result of culture. The result indicated: ①In accordance with culturing in the medium containing MS, SH, N6 macroelement, respectively, the effect of MS or SH macroelement in the primary culture is better than that of N6 macroelement, and the effect based on N6 macroelement is the best from 5th to 9th subculture. ② The subculture medium of the anther callus with AC, LH and PVP-40 added can distinctly promote the growth of callus and prevent it from browning. ③ In the metaphase of subculture, if the addition of NAA is more than 0.5mg/l, it is easy to be browning. ④ The growth manifestation of the callus differentiation for N6 macroelement is better compared with other mediums, then 1/2MS macroelement medium is following. ⑤ The anaphase of differentiation culture without hormone benefits the growth of the callus.

Key words: alfalfa; anther; tissue culture; culture medium

紫花苜蓿(*Medicago sativa*. L)是当今世界上种植面积最大,应用最广泛的多年生豆科作物,因此培育品质优良的高产苜蓿新品种对人工草地建设、畜牧业的发展将产生积极的作用。杂种优势育种是目前运用较多的育种方法,而杂种优势的利用要有基因纯的品系为前提。苜蓿是异花授粉植物,遗传型复

收稿日期:2008-03-27

基金项目:新疆维吾尔自治区高技术研究发展计划项目(200511102);新疆草地资源与生态实验室开放课题(XJDX0209-2004-04)

作者简介:李增红(1979-),女,山东日照人,硕士研究生,研究方向为牧草遗传育种,(E-mail)chamlzh@163.com

通讯作者:张博(1963-),男,新疆乌鲁木齐人,教授,硕士生导师,研究方向为牧草遗传育种,(E-mail) xjauzb@126.com

杂,用常规方法不易得到可利用的纯系,而利用花药培养诱导的单倍体植株,再加倍获得加倍单倍体(DH)纯系,可以缩短育种年限,提高常规育种的选择效率^[1]。花药培养已与常规杂交育种、远源杂交育种、诱变育种以及转基因技术相结合,形成了一套行之有效的育种技术体系,已经成为工程育种的重要组成部分。实验是在新疆草地资源与生态重点实验室前期工作的基础上,研究不同培养基及激素等因素对苜蓿花药愈伤组织继代培养的影响,从而进一步优化培养条件,以期快速构建 DH 群。

1 材料与方 法

1.1 材 料

材料取自新疆农业大学乌鲁木齐老满城实验站种植的苜蓿品种比较试验田,用 MT-2、MT-146、MT-328、MT-335、新牧 1 号、新疆大叶和 KS220-97 等品种(品系)的混合花药,接种于 N6 大量 + MS 微量 + MS 铁盐 + B5 有机 + 2,4-D 2mg/l + 6-BA 0.5 mg/L 的固液双层培养基诱导出愈伤组织,并进一步继代培养和分化培养。

1.2 方 法

将愈伤组织转接到不同培养基中,记录培养结果,筛选出较佳的继代和分化的培养基。愈伤组织不同继代的培养如下:第一次继代接入 S2~S6、D18 等培养基中培养 20~30 d;第二次继代转入 D1 和 D2 中培养 20~30 d;第三次继代转入 D3~D9 中培养 20~30 d;第四次继代再次转入 D4 和 D6 中培养 20~30 d,第五次继代在 D4 和 D6 中培养 20~30 d,第六次继代在 D10~D23 中培养 20~40 d,第七次继代再转入 D18 中培养 20~40 d,第八次继代培养在 D18、D24~D27 中培养 20~30 d,第九次继代在 D18、D25、D27 中培养 20~30 d。以上愈伤组织在继代转接过程中。表 1

1.3 培养条件

光照强度 1 000~2 000 lx,光照时间 12 h/d,培养温度(25±2)℃。

2 结果与分析

2.1 不同大量元素的培养基对花药愈伤组织继代培养及分化的影响

培养基中氮源的还原态和氧化态的相对含量对细胞生长影响较大。Fett-Neto 等^[3]认为细胞的生长主要以 NO₃⁻作为氮源,高浓度的 NH₄⁺会抑制生长。所以增加 NO₃⁻、减少 NH₄⁺明显促进愈伤组织生长^[4,5]。周吉源等^[6]认为,两者的比例关系为 25:2 时,更有利于细胞生长及褐化的减轻^[7]。结果表明,分别在含 MS、SH、N6 大量元素的培养基中,初代培养 MS 或 SH 的效果要比 N6 的效果好,初代培养用 N6 培养基愈伤组织较易褐化,第 5~9 代的愈伤组织在含 N6 的大量元素的培养基上,愈伤组织瘤状翠绿,继代培养效果最好;D8 与 D18 中愈伤的分化情况表明,诱导出胚性愈伤组织后,还需要一定时间的继代培养才能陆续分化出芽,此阶段在无激素的情况下添加相应的防褐物质时,愈伤组织培养 40 d 褐化仍然不明显。表 2

2.2 活性炭和水解乳蛋白、聚乙烯吡咯烷酮对花药愈伤组织褐化的影响

在培养基中添加适当的抗氧化剂和吸附剂,可在一定程度上防止或减轻褐化。抗褐化剂一般可分为防止酚氧化的抗氧化剂和吸收醌类物质的吸收剂两大类^[8]。刘均利^[9]等在华盖木组织培养中褐化控制研究中得出各种防褐变剂的效果:聚乙烯吡咯烷酮(PVP)>二硫苏糖醇(DTT)>抗坏血酸(VC)>活性炭(AC)>硫代硫酸钠(ST)>柠檬酸(CA)>巯基乙醇(BME)。培养基中添加 AC、LH、PVP-40 对苜蓿花药愈伤组织继代培养中的生长和防止褐变作用明显。值得注意的是当褐变现象不再发生时,要及时停止添加 PVP,以防长期使用 PVP 对外植体产生毒副作用。表 3

2.3 NAA 对花药愈伤组织继代培养的影响

培养基中激素(生长调节物质)的种类、浓度及其组合对褐变起着重要的作用^[7]。结果表明,该次继代培养中添加 NAA 0.5 mg/L 时愈伤的生长速度与 NAA 2.0 mg/L 相同,但添加低浓度的 NAA 不易褐化,说明培养基中 NAA 添加量不宜超过 0.5 mg/L,过高则易引起褐化。表 4

表 1 培养基成分及配比

Table 1 Component and ratio of culture medium

培养基代号 Medium code	大量元素 Macro- element	微量元素 Minor- element	铁盐 Fe salt	有机物 (mg/L) Organic	生长素 (mg/L) Auxin	细胞分裂素 (mg/L) Cytokinin	添加物 1 (g/L) Additives 1	添加物 2 (g/L) Additives 2	添加物 3 (g/L) Additives 3
S1	MS	MS	MS	MS	2,4-D 2.0	BA 0.5	0	0	0
S2	MS	MS	MS	MS	0	0	LH 1	AC 1	0
S3	1/2MS	1/2MS	1/2MS	1/2MS	NAA 2	KT 1	LH 0.7	0	0
S4	1/2MS	1/2MS	1/2MS	1/2MS	NAA 2	KT 1	LH 0.7	AC 1	0
S5	1/2MS	1/2MS	1/2MS	1/2MS	NAA 1	0	LH 1	0	0
S6	1/2MS	1/2MS	1/2MS	1/2MS	NAA 0.5	0	LH 1	0	0
D1	MS	MS	MS	MS	NAA 0.5	KT 1.5	LH 1	Glu 1	0
D2	1/2MS	1/2MS	1/2MS	1/2MS	NAA 0.5	KT 1.5	LH 1	Glu 1	0
D3	SH	MS	MS	MS	NAA 0.05	BA 0.5	LH 1	AC 1	0
D4	SH	MS	MS	MS	2,4-D 0.05	BA 0.5	LH 1	AC 1	0
D5	SH	MS	MS	MS	NAA 0.05	KT 1	LH 1	AC 1	0
D6	SH	MS	MS	MS	NAA 0.05	KT 0.5	LH 1	AC 1	0
D7	SH	MS	MS	MS	0	BA 0.5	LH 1	AC 1	0
D8	SH	MS	MS	MS	0	0	LH 1	AC 1	0
D9	SH	MS	MS	MS	0	BA 1	LH 1	AC 1	0
D10	SH	MS	MS	MS	0	BA 0.3	LH 1	AC 1	0
D11	SH	MS	MS	MS	0	BA 0.1	LH 1	AC 1	0
D12	SH	MS	MS	MS	0	KT 0.5	LH 1	AC 1	0
D13	SH	MS	MS	MS	0	KT 0.3	LH 1	AC 1	0
D14	SH	MS	MS	MS	0	KT 0.1	LH 1	AC 1	0
D15	SH	MS	MS	MS	NAA 0.5	KT 1	LH 1	AC 1	0
D16	SH	MS	MS	MS	2,4-D 0.5	BA 1	LH 1	AC 1	0
D17	SH	MS	MS	MS	2,4-D 0.5	BA 1.5	LH 1	AC 1	0
D18	N6	MS	MS	MS	0	0	LH 1	AC 1	0
D19	N6	MS	MS	MS	2,4-D 0.05	BA 0.5	LH 1	AC 1	0
D20	N6	MS	MS	MS	0	0	LH 1	0	0
D21	SH	MS	MS	MS	NAA 0.05	BA 0.5	LH 1	0	0
D22	SH	MS	MS	MS	2,4-D 0.05	BA 0.5	LH 1	0	0
D23	SH	MS	MS	MS	2,4-D 0.05	BA 0.5	LH 0.7	0	PVP-40 0.7
D24	SH	MS	MS	MS	2,4-D 0.05	BA 0.5	LH 1	0	PVP-40 1.2
D25	N6	MS	MS	MS	2,4-D 0.05	BA 0.5	LH 1	0	PVP-40 1.2
D26	SH	MS	MS	MS	2,4-D 0.05	BA 0.5	LH 1	AC 1	AgNO ₃ 0.002
D27	N6	MS	MS	MS	2,4-D 0.05	BA 0.5	LH 1	AC 1	AgNO ₃ 0.002

注:①MS、SH、N6为通用培养基代号。培养基 pH 值均为 5.8,琼脂 6.5-7 g/l,蔗糖 30 g/l;②聚乙烯吡咯烷酮简称为 PVP-40、活性炭简称为 AC、水解乳蛋白简称为 LH

Note:①The MS, SH and N6 are general medium ratio code. All mediums are PH5.8, agar 6.5-7 g/l and sugar 30 g/l. ②polyvinylpyrrolidone abbrev. PVP-40, active carbon abbrev. AC, lactoprotein hydrolysate abbrev. LH

表 2 不同大量元素对苜蓿花药愈伤组织继代培养的影响

Table 2 Effect of different macro-element on callus subculture from alfalfa anther

培养基代号 Medium code	接种块数 Number of inoculated	愈伤长势 Callus growth	接种 10 d 愈伤形态及颜色 Morphological and color features of callus after ten days	25 d Twenty- five days	35 d Thirty- five days	分化程度 Differentia- tion degree
S2	15	+	4/15 紧实浅绿、6/15 粘稠浅绿、5/15 瘤状翠绿	+	++	无
D8	1	+	7/15 粘稠浅绿、8/15 瘤状翠绿	+	++	较少
D18	75	+++	20/75 瘤状翠绿、18/75 松散浅绿、38/75 绿点 (大部分开始分化出芽)	-	+	较多
D18*	15	-	14/15 瘤状黄褐色、1/15 紧实深绿	+++	++++	无

注:①未褐变(-),褐变不明显(+),轻度褐变(++),褐变(+++),严重褐变(++++)。(下同)②D18*的培养材料为花药诱导愈伤的第一代继代培养,D18的培养材料 50%为花药诱导愈出的第 7 至第 9 代继代培养,50%为第 10 至 13 代继代培养。(下同)③愈伤生长评价方法:极好(++++)、好(+++)、较好(++)、一般(+)、抑制(-)(下同)

Note:①no browning(-), no significant different(+), mild browning(++), browning serious browning(++++) (underside together) ② culture material in D18* is the first generation subculture to anther induced callus. The culture material in D18 is subculture from sixth to eighth generation for anther induced callus. (unde.side together) ③ The Differentiation degree of callus: the best(++++) , Good(+++) , more good(++) , general (+) , repress(-) .(underside together)

表 3 添加活性炭、水解乳蛋白和聚乙烯吡咯烷酮对苜蓿花药愈伤组织继代培养及分化的影响
Table 3 Effect of AC, LH and PVP – 40 on callus subculture and differentiation from alfalfa anther

培养基代号 Medium code	接种块数 Number of inoculated	愈伤长势 Callus growth	接种 10 d 愈伤形态及颜色 Morphological and color features of callus after ten days	15 d Fifteen days	25 d Twenty – five days	35 d Thirty – five days
S3	16	+++	9/16 松散浅绿, 7/16 瘤状浅绿	+	+++	++++
S4	16	+++	瘤状浅绿	-	+	+
D18	75	+++	20/75 瘤状翠绿, 18/75 松散浅绿, 38/75 绿点 (大部分开始分化出芽)	-	-	+
D20	12	++	5/12 松散黄绿, 7/12 瘤状浅绿	++	+++	+++
D19	16	++	15/16 瘤状翠绿, 1/16 松散黄褐	-	++	++
D3	20	+++	4/20 瘤状翠绿, 7/20 松散浅绿, 5/20 粘稠黄色, 4/20 松散黄褐	-	+	++
D21	10	+	4/10 瘤状翠绿, 6/10 粘稠黄色	-	+	+++
D4	48	+++	10/48 瘤状翠绿, 14/48 松散浅绿, 12/48 粘稠黄 色, 12/48 松散黄褐	-	++	+++
D22	10	+	4/10 瘤状翠绿, 6/10 粘稠黄色	-	+	+++
D23	12	+++	5/12 松散黄绿, 3/12 瘤状浅绿, 4/12 松散黄褐	-	-	+
D24	20	+++	5/20 松散黄绿, 3/20 瘤状浅绿, 4/20 松散黄褐, 8/20 粘稠黄色	-	+	+++
D26	20	+++	5/20 松散黄绿, 3/20 瘤状浅绿, 4/20 松散黄褐, 8/20 粘稠黄色	-	-	+

表 4 NAA 对苜蓿花药愈伤组织继代培养的影响
Table 4 The effect of NAA on callus subculture from alfalfa anther

培养基代号 Medium code	接种块数 Number of inoculated	愈伤长势 Callus growth	接种 10 d 愈伤形态及颜色 Morphological and color features of callus after ten days	15 d Fifteen days	35 d Thirty – five days
S4	16	++	14/16 松散浅绿, 1/16 黄色粘稠, 1/16 瘤状黄褐	-	+++
S5	10	++	6/10 瘤状翠绿, 4/10 黄绿松散	-	++
S6	10	++	8/10 瘤状翠绿, 2/10 绿点紧实	-	++

2.4 不同大量元素对苜蓿花药愈伤组织分化的影响

N6 的大量元素比 SH 的大量元素效果好, 分化出芽率远远高于 SH 的大量元素的培养基。表 5

表 5 不同大量元素对苜蓿花药愈伤组织分化的影响
Table 5 The effect of different macro – element on callus differentiation from alfalfa anther

培养基代号 Medium code	接种块数 Number of inoculated	愈伤长势 Callus growth	20 d 后分化程度 Differentiation degree after twenty days	35 d 后分化程度 Differentiation degree after thirty – five days
D1	20	+	无胚性细胞	3/20 胚性细胞, 6/20 褐变
D2	57	++	15/57 胚性细胞	31/57 胚性细胞 15/57 褐变
D24	20	++	4/20 形成绿点愈伤	3/20 分化出芽
D25	20	+++	10/20 形成绿点愈伤	9/20 分化出芽
D26	20	++	5/20 形成绿点愈伤	2/20 分化出芽
D27	20	+++	12/20 形成绿点愈伤	11/20 分化出芽

2.5 6 – BA、KT、2,4 – D、NAA 等配合及浓度对继代和分化的影响

在植物愈伤组织培养中, 外源激素起着传递遗传物质的脱分化、再分化等发育信号的作用, 而外源激素的作用效果与外植体以及愈伤组织本身内源激素的种类和水平有密切关系, 外源激素必须通过内

源激素才能发挥其作用^[10,11]。因此在考虑添加外源激素的时候要根据材料本身的生长状态调整激素浓度。从愈伤组织在 D3 与 D4 上培养的对比可看出,用 2,4-D 与 BA 配合使用效果稍好于 NAA;愈伤组织在 D5 与 D6 培养的结果对比可看出,分化继代中期使用 0.5 mg/L 的 KT 效果优于 1 mg/L;愈伤组织在 D4 与 D6 培养的结果对比可知,2,4-D 和 BA 配合使用与 NAA 和 KT 配合使用区别不大。表 6

表 6 6-BA、KT、2,4-D、NAA 等的不同配合及不同浓度对苜蓿花药愈伤组织继代和分化的影响

Table 6 The effect of different ratio and concentration of 6-BA, KT, 2,4-D and NAA et al on callus subculture and differentiation from alfalfa anther

培养基代号 Medium code	接种块数 Number of inoculated	愈伤长势 Callus growth	接种 10 d 愈伤形态及颜色 Morphological and color features of callus after ten days	35 d Thirty - five days	分化程度 Differentia - tion degree
D3	20	+++	4/20 瘤状翠绿, 5/20 松散浅绿, 7/20 粘稠黄色 4/20 松散黄褐	+++	较少
D4	20	+++	4/20 瘤状翠绿, 6/20 松散浅绿, 5/20 粘稠黄色, 5/20 松散黄褐	+++	较少
D5	20	+++	5/20 松散浅绿, 7/20 粘稠黄色	+++	无
D6	20	+++	4/20 瘤状翠绿, 6/20 松散浅绿, 5/20 粘稠黄色, 5/20 松散黄褐	+++	较少
D7	12	+++	4/12 瘤状翠绿, 5/12 松散浅绿, 3/12 粘稠黄色	+++	较少
D8	12	+++	4/12 瘤状翠绿, 5/12 松散浅绿, 3/12 粘稠黄色	+++	较少
D9	10	++	8/10 瘤状翠绿, 2/10 绿点紧实	+++	较少

2.6 分化培养后期培养基中添加激素对愈伤组织生长的影响

分化培养的后期,不加激素的愈伤组织生长为最好。表 7

表 7 分化培养后期激素对愈伤组织生长的影响

Table 7 Effect of hormone on the growth of callus in the anaphase of subculture

培养基代号 Medium code	接种块数 Number of inoculated	愈伤长势 Callus growth	接种 10 d 愈伤形态及颜色 Morphological and color features of callus after ten days	35 d 愈伤褐变程度 Browning degree after thirty - five days	分化程度 Differentiati on degree
D10	10	++	4/10 浅绿松散, 6/10 瘤状翠绿, 稍有绿点出现	++	较少
D11	10	++	浅绿近白色松散	++	无
D12	8	+++	松散浅绿	++	较少
D13	8	+++	松散浅绿	++	较少
D15	8	++	4/8 黄绿松散, 4/8 白色粘稠状	++	较少
D16	8	++	4/8 黄绿松散, 4/8 白色粘稠状	++	较少
D17	8	+	4/8 黄绿松散, 4/8 白色粘稠状	++	无
D18	75	+++	20/75 瘤状翠绿, 18/75 松散浅绿, 38/75 绿点 (大部分开始分化出芽)	+	较多
D19	16	++	15/16 瘤状翠绿, 1/16 瘤状黄褐色	++	无

2.7 继代天数对愈伤组织分化能力影响

继代天数对愈伤组织分化能力影响显著。杨宁等对当归(*Radix Angelica*)愈伤组织的继代培养研究中,继代半个月,愈伤组织生长良好,但不见分化,表现为疏松状,褐化程度也较小;当继代到 1 个月,有 80% 的愈伤组织块上长出小突起,后变绿,长势较好;当继代一个半月后,每块愈伤组织上都长满小突起,长势很好^[12]。该实验部分结果与其不一致,在该次实验中愈伤组织初代培养过程中褐化严重,可以推测:①不同基因型对培养基及激素有很强的选择性。②也可能与材料来源不同有关,杨宁等用叶柄诱导愈伤组织,而该次实验的材料是苜蓿花药诱导出的愈伤组织。③表面有突起的愈伤组织,但并未分化,而带绿点愈伤组织每块都可以分化成苗,这样的结果与选用的材料和物种有关。图 1a(封三)

2.8 不同阶段激素浓度对花药愈伤组织继代培养的作用。

通过该实验可以总结出,苜蓿花药愈伤组织在继代过程中对激素的需求呈现波浪形。诱导初期愈伤对激素浓度的要求较高,但用量不宜超过 2.0 mg/L,在逐次增值继代培养过程中逐渐降低使用浓度。愈伤组织分化时激素浓度需要提高,浓度同样不宜超过 2.0 mg/L,在愈伤组织长成松散的绿点形状时激素浓度要及时降低,否则,不但愈伤组织较易褐化而且产生的畸形苗较多。图 1g(封三)

根据该实验的结果,愈伤组织对激素的两个需求低谷时期,基本培养基的浓度、糖浓度适当降低,更有利于其增值。

2.9 愈伤组织的形态和颜色与分化的关系。

该实验得到四种愈伤组织:①浅绿松散(见图 1b)②瘤状翠绿(见图 1c)③白色粘稠(见图 1d)④浅绿坚硬(见图 1e)(仅一个基因型得到这样的愈伤组织,估计与基因型有关)。其中 I 型为培养初期得到的愈伤组织,此结果与 Song Zhang et al^[13]狗牙根花药小花培养的结果完全一致。I 型经过一段时间的培养后即可转变为 II 型,此时需及时转瓶,否则愈伤组织长成一个空壳,营养供应不足,表面开始变褐,时间越久褐化越严重。将 II 型愈伤组织转入分化培养基,继代一次或两次后即可分化出芽(见图 1f)。而 III 型愈伤组织在培养的各个时期都有可能出现,后续的继代培养中,其仍为粘稠状,逐渐由白变为黄色最后变成褐色,该实验中未观察到其分化,在培养早期便另行处理。图 1(封三)

3 讨论

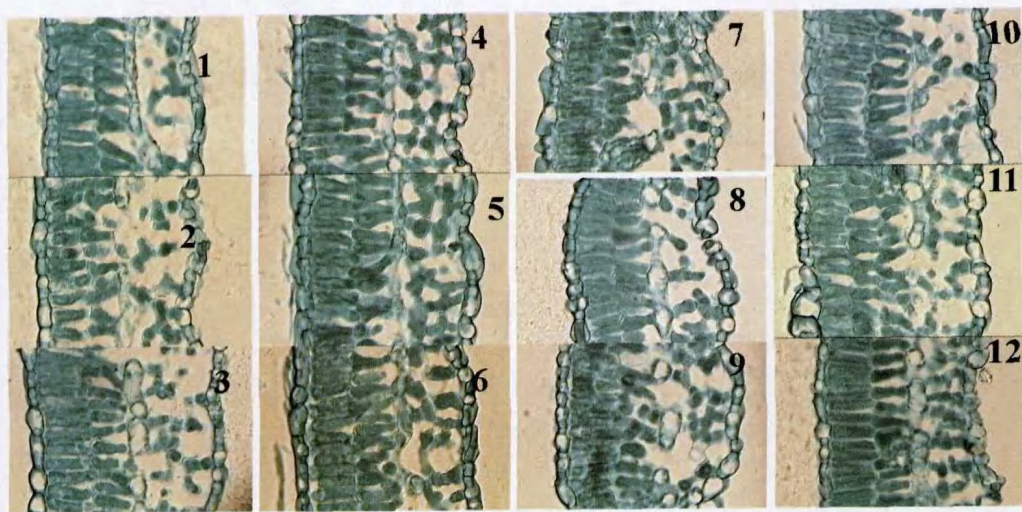
3.1 继代培养是愈伤组织培养成功与否的关键。在愈伤组织继代培养中,培养基成分、培养条件和褐变直接影响材料的生长速度^[14]。在该试验中,比较了不同的基本培养基、不同的激素种类和浓度组合,以及不同的抗褐化剂对继代培养的影响,抗褐化效果较为明显。

3.2 N6-MS 培养基交替继代方式有利于水稻愈伤组织胚性的保持,并使植株再生能力的下降有所减慢^[15,16]。该实验未做交替使用和单一使用的对比,但通过此次实验整体的观察,没有观察到与朱根发、李双成、张莹等^[14-16]相反的结果。基本可以认为,N6-MS 培养基交替使用对苜蓿花药愈伤组织的继代和分化较好。

参考文献:

- [1]朱至清.植物细胞工程[M].北京:化学工业出版社,2003:113-114.
- [2]李望丰,吕德扬,刘艳芝,等.诱导苜蓿胚性愈伤组织分化和再生[J].吉林农业科学,2002,27(2):15-16.
- [3]Fett-Neto AG, Dicosmo F, Reynolds WF et al. Cell culture of *Taxus* as a source of the antineoplastic drug taxol and related taxanes[J]. Bio/Technol, 1992, 10: 1572-1575.
- [4]张宗勤,杨建英,吴耀武.南方红豆杉组织培养及紫杉醇的产生[J].西北植物学报,1998,18(4):488-492.
- [5]陈永勤,朱蔚华,吴蕴祺,等.云南红豆杉细胞培养及紫杉醇生产[J].湖北大学学报,2001,23(4):366-369.
- [6]周吉源,杨礼香.稀土和氮源对南方红豆杉细胞生长及紫杉醇积累的影响[J].华中师范大学学报,2001,35(3):331-333.
- [7]李冬杰,张进献,魏景芳,等.培养基和培养条件与红豆杉细胞培养中褐化的关系[J].植物生理学通讯,2005,21(4):5-9.
- [8]曾镭,刘燕.植物组织培养中褐化问题的研究进展[J].安徽农学通报,2007,13(14):49-50.
- [9]刘庆,张小玲,唐征,等.活性炭对旱半夏组织培养的影响研究[J].温州农业科技,2007,(2):30-33.
- [10]李代朋,康向阳.植物愈伤组织培养中内外源激素效应的研究现状与展望[J].技术通讯,2007,53(18):45-48.
- [11]颜吕敬.植物组织培养手册[M].上海:上海科学技术出版社,1990.
- [12]杨宁,马瑞君,赵庆芳.当归愈伤组织的增殖与分化培养[J].中草药,2005,11(6):6-9.
- [13]Song Zhang, Wayne Hanna, Peggy Ozias-Akins, et al. Comparison of callus induction and plant regeneration from different explants in triploid and tetraploid turf-type bermudagrasses[J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2007, 90: 71-78.
- [14]朱根发,余毓君.水稻愈伤组织状态的调控[J].华中农业大学学报,1995,14(3):213-219.
- [15]李双成,王世全,尹福强,等.籼稻成熟胚愈伤组织培养影响因素研究[J].四川农业大学学报,2004,22(4):296-300.
- [16]张莹,李晓峰,刘公社,等.羊草愈伤组织状态的调控[J].西北农林科技大学学报(自然科学版)2007,35(5):111-114.

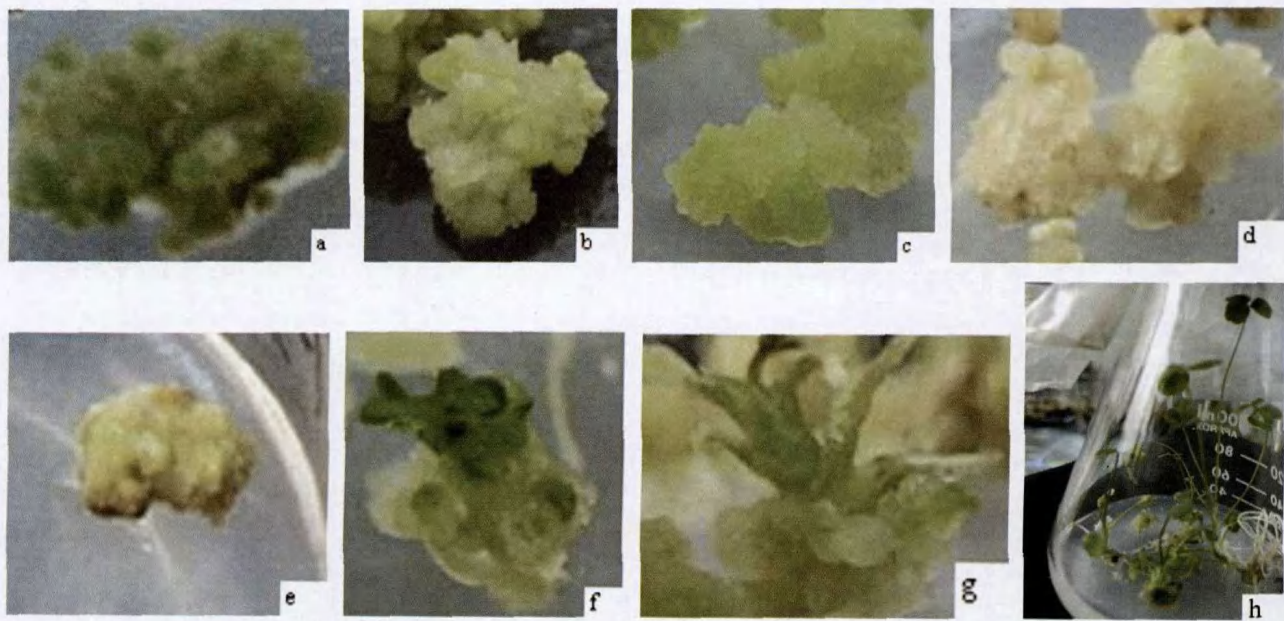
赵玖香等“植物生长调节剂对大豆茎叶柄显微结构及
光合特性的影响”一文附图
(见正文 814~819 页)



1~3:对照叶片横切片,4~6:SODM 处理叶片横切片,
7~9:CC 处理叶片横切片,10~12:DTA-6 处理叶片横切片。

图 1 不同处理大豆叶解剖结构(1~12, ×400)
图版编号:1001-4330(2008)05-0814-F1

李增红等“不同培养基对苜蓿花药愈伤组织
继代和分化的影响”一文附图
(见正文 950~955 页)



a.带绿点的愈伤组织,b.浅绿松散的愈伤组织,c.瘤状翠绿的愈伤组织,d.白色粘稠的愈伤组织,
e.浅绿坚硬的愈伤组织,f.分化苗,g.畸形苗,h.再生植株

图 1 不同类型的愈伤组织
图版编号:1001-4330(2008)05-0950-F2