

芥蓝的组织培养研究

周林 曾国平 章崇玲 邓智泉

摘要 以尖叶中迟芥蓝为材料,取其带柄子叶和下胚轴进行组织培养,用不同浓度的 6-BA 和不同浓度的 NAA 处理,之后在生根培养基上分化根。结果表明:不同配方的培养基和不同浓度的 6-BA 显著影响芥蓝愈伤组织的增殖和不定芽的分化,最佳配比为:MS+3%蔗糖+0.8%琼脂+2 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA。不同浓度的 NAA、不同外殖体之间对芥蓝组培芽分化的影响不显著,不同激素的不同浓度也不能显著地提高根的分化率,但含 0.2 mg/L 6-BA 的生根培养基较合适。

关键词 芥蓝 组织培养 再生体系

Study on Tissue Culture of Chinese Kale (*Brassica alboglabra* Bailey)

Zhou Lin, Zeng Guoping, Zhang Chongling, Deng Zhiquan

Abstract The cotyledons with petiole and hypocotyls were In Vitro Cultured in the media supplemented with different concentrations of 6-BA and NAA, in Chinese kale (*Brassica alboglabra* Bailey). The results showed that different recipes and different concentrations of 6-BA could affect the multiplication of organ and the polarization of adventitious bud markedly, the best recipe of the culture medium was: MS + 3% sucrose + 0.8% agar + 2 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA. The differences were not observed in organogenesis between different concentrations of NAA and different explants. The medium with 0.2 mg/L 6-BA was optimum for shoot to root.

Key words Chinese kale, Tissue culture, Regeneration

近年来,随着生物技术的发展,已经有可能采用遗传转化技术对芥蓝 (*Brassica alboglabra* Bailey) 的性状进行人工改良,而植物遗传转化技术的一个重要基础是建立高效的植株再生体系,但芥蓝植株再生体系的建立一直未能取得很好的效果^[1-3],其主要原因是影响再生的因素如基因型、生理状态、外殖体、继代培养时间、培养基及其附加激素成分等在很大程度上制约了植株高效再生体系的建立。

本试验利用芥蓝的带柄子叶和下胚轴作为外殖体材料,采用不同配方、不同浓度的 6-BA,不同浓度的 NAA,不同生根培养基等组合进行组织培养,摸索出整个组织培养快速繁殖的流程,进一步探讨和阐述生产实际中应用性强的植株再生体系,为芥蓝组培苗的规模化、集约化、生产化提供原始数据和参考依据。

1 材料与方

1.1 试验材料

以尖叶中迟芥蓝为材料,由广东省农业科学院蔬菜研究所提供。

周林,华南农业大学园艺学院五山区研究生宿舍 1-302,广东省广州市天河区五山街 483 号,510640,

电话:020-85286367, E-mail:uncle020@163.com

曾国平(通讯作者),华南农业大学园艺学院

章崇玲,邓智泉,华南农业大学生命科学学院

收稿日期:2006-03-29

1.2 试验方法

①基本培养基的配制 试验采用 MS 作为基本培养基,加入不同浓度的 6-BA 和 NAA 作为影响因素,搅拌后添加 3% 的蔗糖和 0.8% 的琼脂。煮沸后用 1 mol/L NaOH 调节 pH 值至 5.8~6.0,分装到各培养瓶,置于 Autoclave SP150 自动高压灭菌锅,121℃ 灭菌 20 min,冷却备用。

②无菌苗的获得 先用自来水浸泡种子,清洗;其次用 70% 乙醇浸泡 1 min,重复 3 次;最后用 0.1% 汞(HgCl₂)浸泡 10 min;然后在超净工作台上用无菌水冲洗 3~4 次,无菌滤纸吸干,播种于培养瓶中。

③影响芥蓝组培芽分化的培养基的配制 以 MS 为基本培养基,加不同浓度的 6-BA 和 NAA,采用带柄子叶和下胚轴作为外殖体,每一处理接种 10 瓶,然后在 PYX-300G-B 光照培养箱,环境条件为 25℃、16 h 光照/8 h 黑暗光周期、光照强度 3 000 lx 的培养条件下培养。

④生根培养基的配制 在 MS 培养基中添加 NAA、IAA、6-BA 等 3 种不同的激素,其浓度为 0.1 mg/L 和 0.2 mg/L 两个水平,每个水平设 5 次重复,每重复 2 瓶,每瓶接种 3 株高 2 cm 左右的无根组培苗。

⑤移栽 将瓶苗从培养箱取出,在室温和自然光照下放置两周左右,再出瓶。移栽时要小心地洗去绿苗上的培养基,然后将小苗移栽于混有少量珍珠岩的培养土中,炼苗 9~12 天,再移到大田。

表1 不同培养基配方和不同外殖体对愈伤组织和芽分化的影响

配方编号	6-BA mg/L	NAA mg/L	外殖体	愈伤组织增殖数	愈伤组织 诱导率	不定芽分化数	不定芽 分化率
1	2	0.1	带柄子叶	9.6±0.245 0 A	96%	4.0±0.316 2 BC	40%
2	2	0.2	带柄子叶	8.8±0.969 5 A	88%	4.4±0.871 8 ABC	44%
3	2	0.4	带柄子叶	9.6±0.245 0 A	96%	3.2±0.734 8 C	32%
4	2	0.6	带柄子叶	9.0±0.316 0 A	90%	3.8±0.374 2 BC	38%
5	1	0.2	带柄子叶	9.2±0.374 2 A	92%	3.6±0.678 2 BC	36%
6	3	0.2	带柄子叶	8.6±0.927 4 A	86%	1.8±0.200 0 D	18%
7	2	0.2	下胚轴	5.4±0.336 4 B	84%	4.8±0.663 3 ABC	48%

表2 不同生根培养基对根分化的影响

添加激素 浓度/mg·L ⁻¹	NAA		IAA		6-BA	
	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2
形成根的外殖体数	1.6	0.6	2.0	2.0	2.0	2.8
根分化率/%	60	20	67	67	67	93

采用 SAS V8.0 统计分析软件进行数据方差分析及多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同配方对愈伤组织增殖的影响

不同配方对愈伤组织增殖有极显著的影响($F_{\text{配方}}=5.295 5, F_{0.01}=3.527 6$),经多重比较,配方 1~6 之间没有显著性差异,而与配方 7 存在极显著差异。表明前 6 个配方对愈伤组织增殖的影响效果较好,可显著促进愈伤组织的增殖。

2.2 不同配方对外殖体芽分化的影响

不同配方对组培芽的分化达到显著水平($F_{\text{配方}}=2.661 6, F_{0.05}=2.445 3, F_{0.01}=3.527 6$),经多重比较,配方 7、配方 2 与配方 6 之间存在极显著差异,配方 1、配方 4、配方 5 与配方 6 之间存在显著差异。可见配方 7 和配方 2 较好地促进组培芽的分化,配方 1、配方 4、配方 5 次之。

2.3 不同浓度 6-BA 对芥蓝组培芽分化的影响

不同浓度 6-BA 对芥蓝组培芽分化达到显著水平($F_{6-BA}=4.222 2, F_{0.05}=3.885 3, F_{0.01}=6.926 6$),经多重比较,浓度 2 mg/L 与 3 mg/L 之间存在显著差异,其他浓度之间差异不显著。说明 6-BA 以 2 mg/L 浓度最适于不定芽的形成,高于和低于这个浓度的 6-BA 都不能显著提高组培不定芽的分化。

2.4 不同浓度 NAA 对芥蓝组培芽分化的影响

不同浓度的 NAA (0.1, 0.2, 0.4, 0.6 mg/L) 水平对芥蓝组培芽造成的影响不显著($F_{\text{NAA}}=3.238 9, F_{0.05}=5.292 2$),说明在合适的范围之内,提高或降低 NAA 的

浓度对芥蓝组培芽分化的影响不大。

2.5 不同外殖体对芥蓝组培芽分化的影响

外殖体的取材部位和时间决定外殖体的分生能力和内源激素水平,从而影响其再生频率。本试验取带柄子叶和下胚轴两种外殖体类型,经方差分析,两者不达到显著的水平($F_{\text{外殖体}}=0.133 3, F_{0.05}=5.317 6$),表明这两种外殖体类型的分生能力很强,内源激素水平都利于芽的分化。

2.6 不同生根培养基对根分化的影响

研究结果,不同生根培养基对根分化的影响不显著($F_{\text{生根培养基}}=2.131 5, F_{0.05}=2.620 7$),但 6-BA 的 0.2 mg/L 水平浓度出根多且齐,生根速度快,几乎无污染,须根扩展度大,根系茂盛,组培苗健壮,应为最合适的生根激素及浓度。

3 小结

配方 2 促进外殖体愈伤组织的增殖和芽的分化,可作为芥蓝组织培养的最优化组合的配方,即在 MS 基本培养基上加入浓度 2 mg/L 的 6-BA 和浓度 0.2 mg/L 的 NAA。

不同浓度的 NAA 对芥蓝组培芽分化的影响不显著。在 NAA 浓度一致的情况下,不同浓度的 6-BA 对芥蓝组培苗芽分化有显著的影响,在浓度为 2 mg/L 时,其最大分化率为 44%。

本试验以带柄子叶和下胚轴为外殖体类型,其增殖系数都超过 4 倍,但它们之间对芽分化的影响不显著。根据生根性状,6-BA 的 0.2 mg/L 水平浓度应为最合适的生根激素及浓度。

参考文献

- [1] 何亚文,贺红,韩美丽,等.芥蓝下胚轴离体培养及高频率植株的再生.热带亚热带植物学报,1998,6(2):152~157
- [2] 张桂华,巩振辉,张广辉.农杆菌介导的芸薹属作物遗传转化研究进展.西北农业大学学报,2000,28(2):80~84
- [3] 黄文华,庄东红,郑汉藩,等.芥蓝的组织培养和快速繁殖.植物生理学通讯,1999,35(2):30