

文章编号:1003-8701(2003)04-0003-02

菜心子叶离体高频芽诱导的研究

张广辉, 巩振辉

(西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100)

摘 要 :菜心具柄子叶在不定芽诱导培养基中添加浓度为 4 mg/L 的 BA 时,有 5% 的外植体产生芽,同浓度 BA 继代培养后有 20% 的愈伤组织分化出芽。BA 和 KT 组合仅使愈伤组织分化频率提高,对芽再生频率没有影响。菜心芽分化频率在苗龄为 4 d 时,AgNO₃ 浓度为 1 ~ 6 mg/L 时芽分化频率均达 70% 以上,最高达 85%(AgNO₃ 浓度为 4 mg/L);苗龄为 5 d 和 6 d 时,芽最高分化频率为 55% 和 10%。

关键词 :离体培养;诱导;子叶;菜心

中图分类号 :S634.035.3

文献标识码 :A

菜心(*Brassica campestris* L.)属芸薹属白菜种作物。研究发现,白菜种作物较其它芸薹属作物再生难度大,离体培养中愈伤组织分化频率低,芽再生频率仅为 10% ~ 30%,分化成苗时易先产生根而抑制芽的分化^[1]。这就严重影响了其遗传转化的进行,成为限制其遗传转化的关键因素。本文以生产上应用最广泛的菜心品种四九菜心为试材,研究了植物激素、苗龄和 AgNO₃ 对菜心子叶不定芽诱导的影响。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试菜心品种为四九菜心,由广州市蔬菜研究所提供。

1.2 试验方法

菜心种子表面消毒后,播于 1/2 MS 培养基上,置于光照强度 2 000 lx,光照时间 16 h,培养温度(23±2)℃的条件下培养。取具柄子叶为外植体,插植法接种,即将子叶柄插入培养基中约 2 mm。基本培养基由 MS 无机盐和 B₅ 维生素组成,添加 30 g/L 蔗糖,所有培养基均添加 8 g/L 琼脂,高压灭菌前将 pH 值调至 5.8,培养条件同上。将在添加 BA 培养基上形成愈伤组织的子叶,2 周后继代于含同浓度 BA 的培养基上,以观察愈伤组织的分化。

2 结果与分析

2.1 BA 和 KT 对菜心子叶不定芽诱导的影响

培养基中添加 BA(BA 浓度为 4 mg/L)时,仅有 5% 外植体直接分化成芽(表 1),但多为丛生叶,虽经继代培养后叶片迅速伸长,仍不能观察到明显的生长点。愈伤组织最高分化频率为 55%,且生长缓慢,10 d 后逐渐开始褐化,大小约 0.2 ~ 0.5 cm,经继代培养后愈伤组织生长迅速,可增至 1 ~ 2 cm。在 BA 为 4 mg/L 和 5 mg/L 的培养基上,有 20% 的外植体在愈伤组织和子叶之间的子叶柄中部形成绿色的幼芽;大部分愈伤组织易产生大量的根毛,分化成根,难以成芽。

收稿日期:2002-05-31 修回日期:2003-02-12

作者简介:张广辉(1973-),男,河南省孟津人,江苏省生物工程学校讲师,硕士,主要从事蔬菜栽培和育种研究。

表 1 BA 对菜心子叶不定芽诱导的影响

BA (mg/L)	初代培养					继代培养				
	外植体数	分化芽数	百分比	愈伤组织	百分比	外植体数	分化芽数	百分比	分化根数	百分比
1	100	0	0	25	25	25	0	0	10	40
2	100	0	0	55	55	50	0	0	30	60
3	100	0	0	40	40	40	0	0	30	75
4	100	5	5	40	40	40	8	20	40	100
5	100	0	0	40	40	40	8	20	20	50

BA 和 KT 组合时对菜心芽再生频率没有显著影响，仅在 BA 为 2 mg/L 和 KT 为 1 mg/L 时获得 70% 的愈伤组织分化频率(表 2)，说明 KT 和 BA 组合能够在低浓度时使外植体产生高的愈伤组织分化频率，和前人的研究结果一致^[2]。

2.2 AgNO₃ 和苗龄对菜心子叶不定芽诱导的影响

在苗龄为 4 d 时芽分化频率可达 15%，5 d 和 6 d 芽分化频率仅为 5% 和 0。而采用 4 d 苗龄的外植体，AgNO₃ 浓度为 1 ~ 6 mg/L 时芽分化频率均达 70% 以上，以 4 mg/L 时为最高达 85%，且每个植体产生芽数增多(表 3)，这说明 AgNO₃ 能明显提高菜心子叶的再生频率。另外，不含 AgNO₃ 培养基中子叶为整个叶柄膨大，形成类似于大白菜的球叶叶柄，子叶柄边为暗绿色，表皮粗糙；而含 AgNO₃ 的培养基上子叶柄一直保持绿色，仅子叶柄顶端切口处膨大，形成一倒立三角形。

表 2 BA 和 KT 对菜心子叶不定芽诱导的影响

BA (mg/L)	KT (mg/L)	外植 体数	分化 芽数	百分比	愈伤 组织	百分比
4	0	100	5	5	38	38
4	1	100	0	0	50	50
4	2	100	0	0	43	43
2	0	100	0	0	55	55
2	1	100	0	0	70	70
2	2	100	0	0	60	60

表 3 AgNO₃ 和苗龄对菜心子叶不定芽诱导的影响

AgNO ₃ (mg/L)	4 d			5 d			6 d		
	外植体数	分化芽数	百分比	外植体数	分化芽数	百分比	外植体数	分化芽数	百分比
0	100	15	15	100	5	5	100	0	0
1	100	70	70	100	15	15	100	0	0
2	100	75	75	100	20	20	100	10	10
4	100	80	80	100	45	45	100	10	10
6	100	75	75	100	55	55	100	0	0
8	100	55	55	100	40	40	100	0	0

3 结论与讨论

白菜种一直被认为较其它芸薹属作物难以再生。Murata 等的研究表明，调控芽形成的基因可能位于 C 基因组，因此具 C 基因的甘蓝和花椰菜等容易再生，缺少 C 基因的菜心则难再生^[3]。目前，AgNO₃ 对许多单子叶和双子叶植物形态发生的促进作用越来越被重视^[4]。对于白菜种的再生，AgNO₃ 浓度和苗龄是影响芽再生频率的重要因素。张鹏等发现，培养基加 2 ~ 12 mg/L AgNO₃ 都能高频率地诱导芽再生，其频率为 65.9% ~ 80.0%。大白菜、小白菜、菜心等适宜再生苗龄一般为 4 ~ 6 d。本研究的苗龄由 4 d 长到 5 d 芽分化频率显著下降，说明四九菜芽再生苗龄非常敏感。由于本实验仅以一个品种为试材，因此有必要进行其它品种的再生研究，以建立一个适宜性广的高效再生体系。

参考文献：

[1] 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[J]. 西北农业大学学报, 2000, 28(2): 80-84.

[2] 张智奇, 周 音, 张玉华, 等. 小白菜子叶诱导不定芽再生植株[J]. 上海农业学报, 1998, 14(2): 25-28.

[3] Chi G L, Pua E C. Ethylene inhibitors enhances *de novo* shoot regeneration from cotyledons of *Brassica campestris* ssp *chinensis* (Chinese cabbage) in vitro [J]. Plant Sci., 1989, 64(2): 243-250.

[4] 张 鹏, 凌定厚. 提高菜心离体植株再生频率的研究[J]. 植物学报, 1995, 37(11): 902-908.