文章编号: 1001-411X(2002)04-0089-01

菜心离体培养植株再生的研究

程玉瑾, 艾珂飞, 黄颖茜, 吴定华(华南农业大学园艺学院, 广东广州510642)

Plant Regeneration of Brassica parachinensis Cultured in vitro

CHENG Yu-jin, AI Ke-fei, HUANG Ying-qian, WU Ding-hua (College of Horticulture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

关键词: 菜心; 离体培养; 植株再生

Key words: *Brassica parachinensis*; *in vitro* culture; plant regeneration 中图分类号: Q813. 12 文献标识码: A

菜心 (Brassica parachimensis Bail.) 离体培养时,由于基因型的差异(AA 基因型) 较其他芸薹属作物更为困难。植株再生频率仅为 $10\% \sim 30\%^{[1]}$. 离体培养的主要问题是愈伤组织分化频率低。在分化成苗时先产生根而抑制了芽的分化 $^{[1,2]}$, 芽伸长困难,实验结果重复性差,不能满足遗传转化的需要。本实验研究了不同外植体、培养基附加成份等因素对菜心离体培养植株再生和分化频率的影响,以 $AgNO_3$ 和 GA_3 相配合,获得了高频率、芽壮且多的再生植株,对保存种质、扩大繁殖和遗传转化有一定的意义。

1 材料与方法

采用"新选"为试材,以真叶、子叶、子叶子叶柄为外植体,配制了 MS 培养基附加不同质量浓度的 NAA、2、4— D、 GA_3 、BA、 $AgNO_3$ 等培养基.脱分化、诱导愈伤组织培养基有 1 .MS(1962)+2、4— D(10、20 mg/L)+ BA(0、0.5 mg/L)、2 MS(1962)+ NAA(0.2、0.5、1.0 mg/L)+ BA(0.5、20、3.5、5.0 mg/L)、3 MS(1962)+ NAA(1.0 mg/L)+ KT(1.0 mg/L).分化培养基为 1 .MS(1962)+ NAA(0.01、0.2、1.0 mg/L)+ BA(2.0、3.5、5.0 mg/L)+ AgNO₃(0、4.0 mg/L)、2 MS(1962)+ NAA(0.2、1.0 mg/L)+ BA(2.0、5.0 mg/L)+ GA₃(0.0.2 mg/L)+ KT(0.8 mg/L)+ BA(1.6 mg/L) + GA₃(0.1 mg/L). 壮苗培养基 MS(1962)+ BA(1.0 mg/L). 生根培养基 MS(1962)+ IAA(0.0.0.1 mg/L). 整个过程在室温 25°C、光照度 1 400~1800 1 k、每日光照 10 h 左右条件下进行.

2 结果与分析

2.1 不同外植体愈伤组织诱导、植株再生的比较

不同外植体对离体培养的反应不同. 子叶-子叶柄对培养基的反应最快,愈伤组织质地好,诱导率高,有直接从外植体分化出不定芽的现象,且子叶-子叶柄插植比平放更有利于芽的再生(见表 1).

2.2 不同培养基对外植体脱分化、再分化的影响

菜心离体培养时植株再生的方式有2种:一种是培养基中只附加不同浓度的生长素(IAA或 NAA)和细胞分裂素

(BA),不附加 $AgNO_3$, GA_3 , 植株再生是通过愈伤组织的再分化实现的, 其愈伤组织诱导率均达 80%以上, 然而愈伤组织的质地及增殖情况有所不同. 其中以NAA0.2~mg/L和 BA.5.0

表 1 菜心"新选"不同外植体离体培养的反应 $^{1)}$

Tab. 1 Response of different explants of *Brassica parachinensis*XINXUAN *in vitro* culture

外植体 explant	接种方式 inoculation mode	愈伤组织诱导率 callus induction rate/ %	植株再生 频率 plant regeneration rate/%
真叶 euphylla	平放	95. 00	0.00
子叶 cotyledon	插植	58. 33	45.55
子叶— 子叶柄	平放	20.00	9.00
petiole with cotyledor	n 插植	94. 40	54.55

1)接种 4 周后调查

mg/L 配合效果最好,即使不转培养基也能得到再生植株,但愈伤组织易分化出根及根毛而抑制芽的再生,再生率不高,仅为 18.46%. 另一种方式是当培养基中不仅附加生长素、细胞分裂素,同时加入一定量的 $AgNO_3$,菜心植株再生的方式为外植体直接成苗,其愈伤组织的生长受到抑制而分生细胞团的生长与分化比较旺盛.

由于 $A_{\rm g}NO_3$ 的作用改变了菜心植株再生的方式, 使植株再生频率大幅度提高. 本实验在 $A_{\rm g}NO_3$ 配合 GA_3 的培养基上分化频率高, 分化出的芽壮且多(平均每个外植体长芽 10 33 个), 明显优于只含有 $A_{\rm g}NO_3$ 的培养基(平均每个外植体长芽 6 14 个), 且以 MS+NAA1.0 mg/L 和 BA2.0 mg/L+ $GA_3.0.2$ mg/L+ $A_{\rm g}NO_3.4.0$ mg/L 的配合最好(54.55%).

将上述分化出的芽丛或芽点转接于只含有 BA $1.0 \, \mathrm{mg/L}$ 的壮苗培养基上,芽丛 $2 \, \mathrm{周 E}$ 后都生长到 $3 \, \sim \, 5 \, \mathrm{cm}$ 高,且芽壮、多,未转接的芽仅 $1 \, \sim \, 2 \, \mathrm{cm}$,芽瘦 弱、小.转接的芽丛伸长和生长明显优于不经转接的,BA 对芽的分化和伸长有促进作用.

将芽切下后转入生根培养基上均可发根得到再生植株 但以附加 $0.1~\mathrm{mg}/\mathrm{L\,IAA}$ 的培养基生根好于未加 IAA 的 MS 培养基

参考文献:

- [1] 李开莲 李耿光, 张兰英 等. 菜心愈伤组织的诱导与植株 再生 』. 中国科学院华南植物研究所集刊 1990 6, 81—86.
- [2] 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(1): 41-44.