

大白菜变异株嫩茎、幼叶愈伤组织培养和花、子房离体培养的研究

兰创业¹, 逯保德¹, 吴淑芳², 王秀英¹, 李改珍¹

(1. 山西省农业科学院蔬菜研究所, 山西 太原 030031; 2. 山西农业大学林学院, 山西 太谷 030801)

摘 要:通过对一株大白菜变异株(图1)的嫩茎、幼叶进行愈伤组织培养和对变异花(图2, 下文中简称为花)、膨大的子房(图3, 花蕾展开后 20 d, 下文中简称为子房)进行离体培养, 以期得到再生植株。试验结果表明, 嫩茎、幼叶未能成功诱导出不定芽, 花及子房较易诱导产生不定芽。

关键词:大白菜; 变异; 子房; 愈伤组织; 离体培养

中图分类号: S634.103.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-2481(2007)02-0028-03

Mutant Callus Culture of the Stems, Leaves and Mutant Culture in Vitro of the Flowers and the Ovaries in the Chinese Cabbage

LAN Chuang-ye¹, LU Bao-de¹, WU Shu-fang², WANG Xiu-ying¹, LI Gai-zhen¹

(1. Institute of Vegetable, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China;

2. Forestry College, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: In this test spear and leaves of the mutant Chinese cabbage (Photo 1) were callus tissue cultured and the mutant flowers (Photo 2, hereinafter referred to as flower), enlargement of the ovaries (Photo 3, 20 days after the start of buds, hereinafter referred to as the ovary) were cultured in vitro, to get the regeneration plants. The test results showed that the spear and leaves failed to induce adventitious buds and the flowers and ovary were easier to induce adventitious buds.

Key words: Chinese Cabbage; mutant; Ovary; Callus Tissue; Culture in Vitro

通过对大白菜未受精胚珠或子房的离体培养, 人工诱导雌核发育, 可以获得单倍体及双倍体植株, 进而可迅速获得纯合的自交系, 可以有效缩短育种周期, 加快育种进程。本试验对青麻叶自交不亲和系 75-6 中发现的变异株的幼叶、嫩茎进行愈伤组织培养及花、子房进行离体组织培养, 期望得到再生植株, 获取种子。

1 材料和方法

1.1 材料

山西省农科院蔬菜研究所选育的自交不亲和系 75-6 大白菜中的一株变异株。该株的花出现变异, 在蕾期, 柱头未受精, 子房直接膨大,

并且不断生长。在花蕾展开后, 雄蕊退化无粉, 子房继续生长, 20 d 后停止生长, 其中的胚在母体上直接发育为幼苗(图4)。选取该株的嫩茎、幼叶、花、子房为试材。

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒和接种 外植体消毒和接种: 嫩茎、幼叶、花(开放 1 d 内)、子房(花蕾展开后 20 d)外植体, 经洗洁净水泡洗, 70% 酒精浸泡 20 s, 无菌水漂洗 3 次, 0.1% 升汞灭菌 3 min, 无菌水漂洗 5 次, 对嫩茎剪取 1 cm 茎段接种, 幼叶划伤后接种, 对花直接接种, 子房划出明显的裂口后接种。

1.2.2 嫩茎、幼叶培养的方法 嫩茎、幼叶愈伤

组织的诱导采用 $1/2MS + IBA 0.2 + NAA 0.5$ 的培养基,诱导愈伤组织生长的培养基为添加 $BA 1.0$ 的 MS 固体培养基,每 30 d 继代 1 次;不定芽的诱导采用 $6-BA$ 附加低浓度的 NAA ;诱导不定芽生根采用 $1/2MS + NAA 0.05 + IAA 0.1 +$ 蔗糖 2%,生根苗温室驯化后移入大田。

1.2.3 花、子房培养的方法 花、子房的不定芽

诱导采用在 MS 培养基中添加 IAA, NAA, IBA 等生长素类激素并配合细胞分裂素 $6-BA$, 苯基脲类细胞分裂素 $CPPU$ 及 $AgNO_3$, 即 $MS + BA 2.0 + IBA 0.2 + NAA 1.0 + CPPU 0.1 + AgNO_3 3.0$ 培养基,每 28 d 继代 1 次;诱导不定芽生根采用 $1/2 MS + IBA 2.0 + IAA 0.1$ 培养基,生根苗温室驯化后移入大田。

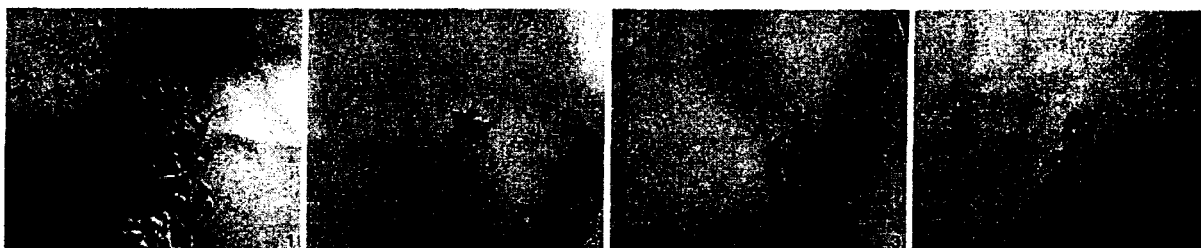


图1 突变株的花簇;图2 突变株的单花;图3 突变株花蕾展开后 20 d 膨大的子房;图4 剥掉外皮的子房

2 结果与分析

2.1 嫩茎、幼叶愈伤组织的诱导及不定芽的分化

2.1.1 嫩茎、幼叶愈伤组织的诱导 试验结果(表1)表明,不同外植体诱导愈伤组织差异较大。嫩茎、幼叶诱导率分别为 30.4%, 35.2%。嫩茎、幼叶产生的愈伤组织数量少,生长速度慢,质地疏松,继代培养后再生能力差,一般继代 2 代后便褐死。

表1 不同外植体诱导愈伤组织效果

外植体	诱导率(%)	增殖速度	数量	愈伤组织的质地
嫩茎	30.4	慢	少	浅绿、疏松、粒状
幼叶	35.2	慢	少	白或浅黄、疏松、粒状

2.1.2 嫩茎、幼叶愈伤组织不定芽的分化 分别将从嫩茎、幼叶诱导出的愈伤组织接种于附加 $6-BA 2.0, NAA 1.0$ 的 MS 培养基后,愈伤组织稳定增殖,幼叶所诱导的愈伤组织在原增殖培养中连续 2~3 次继代后逐渐衰老,嫩茎继代 1~2 次后褐死,嫩茎、幼叶愈伤组织未能成功分化不定芽。在本试验中,嫩茎、幼叶不是较适宜的愈伤组织诱导器官。这同以往植物愈伤组织培养的报道不同,是取材较晚还是激素品种的差异,有待于进一步证实。

2.2 花、膨大的子房离体培养,不定芽的分化及不定芽的再分化和生根

2.2.1 花、膨大的子房离体培养不定芽的分化 将花、子房接种于 $MS + BA 2.0 + IBA 0.2 + NAA 1.0 + CPPU 0.1 + AgNO_3 3.0$ 的培养基上。

花接种 1 周时,花萼开始向四周展开,生长稳定,成圆叶形,生长健壮,从外型上看酷似幼小的白菜嫩叶片,颜色翠绿。3 周时花开始分化出不定芽(图 5),浅绿色,单花分化数 3 个,不定芽由基部长出,分别从中间、两侧向上生长,生长较缓慢,生长至 2 cm 左右停止生长,不定芽的顶部成开放型。4 周时继代 1 次,继代之后 5 d 时,花萼色泽鲜亮,呈浅绿色,开始不断卷曲、褶皱。不定芽(图 6)发生较大变化,颜色变成浅绿,顶部展开,有 4 片形状类似花萼的叶子,而且又从不定芽的顶部重新长出和原不定芽本身一样的新的不定芽,其顶部看似退化的花蕊,略微有点浅绿色。

子房接种后 1 周时,子房开始不断膨大,体积变为接种前的 1.5 倍,表面凹凸,色泽鲜绿,生长良好。2 周时不定芽(图 7)出现,两片嫩叶从裂口内伸出,可以观察到幼小的白色芽轴,但其不定芽的分化数量极少。3~4 周时,有些子房表面颜色逐渐成褐色。继代 1 次后,大部分子房褐死,只有 4% 的子房存活。存活的不定芽的颜色为白色略带浅绿,叶片小且少。

2.2.2 不定芽的再分化和生根 分化的不定芽长至 2~3 cm 时,将不定芽从基部切下接入 $1/2 MS + IBA 2.0 + IAA 0.1$ 的培养基中诱导生根。花的不定芽在生根培养基中 15 d 左右开始出现不定根,株均根条数 3.5 条,生根率 85.4%;子房的不定芽在生根培养基中 10 d 左右开始出现不定根,首先出现一团白色毛细根,而后在毛细根中出现不定根,根均条数 3.0,生根率 30.0%,不

定芽(图8)白化现象严重,叶片较小。



图5 培养基中变异花的不定芽出现; 图6 长大的变异花的不定芽;
图7 突变株的子房开始生出不定芽; 图8 突变株的子房的不定芽

3 小结

自交不亲和系 75-6 大白菜中的这株变异株的嫩茎、幼叶, 均能不同程度的诱导出愈伤组织, 但是嫩茎、幼叶产生的愈伤组织数量少, 质地疏松, 再生能力差, 未能成功诱导出不定芽, 是取材时期不适当还是培养基的配方不适当, 有待进一步试验研究。

花及子房可以成功地诱导出不定芽, 花的不定芽的顶部为开放的花, 但是花蕊已经退化, 成肉质。子房产生的不定芽再生率较高。不定芽在适宜的条件下可正常生长, 并可最终发育成苗。在本试验中, 子房的不定芽生根后叶片较小, 并且白化苗较多, 不利于苗体的存活及后期生长。

参考文献:

- [1] 顾爱侠, 申书兴. 大白菜与结球甘蓝杂交获得异源三倍体及其生殖特性的研究[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 73-77.
- [2] 方淑桂, 陈文辉. 结球甘蓝游离小孢子培养及植株再生[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 158-160.
- [3] 余小林, 叶执芝, 曹家树, 等. 白菜高效再生系统的建立及其不定芽发生的组织学观察[J]. 实验生物学报, 2004, 37(2): 151-156.
- [4] 惠麦侠, 张鲁刚. 大白菜花芽形态分化的研究[J]. 园艺学报, 2003, 30(6): 731-733.
- [5] 张凤兰, 高田, 徐家炳. 大白菜子叶离体培养再生植株[J]. 园艺学报, 2002, 29(4): 348-352.
- [6] 张松, 温孚江, 魏毓棠. 外植体处理及接种方式对大白菜植株再生的影响[J]. 山东农业大学学报, 2001, 32(1): 78-79.

并单 6 号

选育单位 山西省农科院作物遗传研究所

品种来源 H02-18 × H02-86, 原名极早单 13 号

特征特性 幼苗叶鞘紫色, 长势强。植株较低, 生长整齐, 株形半紧凑, 株高 170 cm, 穗位高 60 cm 左右, 叶色浅绿。花药粉色, 花丝紫色, 雄穗较发达。果穗长 17.5 cm, 行粒数 35 粒左右, 穗行 16 行, 穗轴白色, 子粒黄色、半马齿型, 百粒重 33.2 g。生育期较对照晋单 43 号早熟 3 d 左右。抗旱抗倒伏, 保绿性好。

抗病鉴定 2004~2005 年经山西省农科院植保所两年抗病接种鉴定, 综合评价为抗茎腐病、穗腐病、矮花叶病和粗缩病, 感丝黑穗病、大斑病和小斑病。

品质分析 2005 年农业部谷物及制品质量监督检验测试中心(哈尔滨)检测: 粗蛋白 11.97%, 粗脂肪 4.83%, 粗淀粉 70.91%, 赖氨酸 0.33%。

产量表现 2004~2005 年参加山西省特早熟玉米品种区域试验, 平均单产 8 230.5 kg/hm², 比对照晋单 43 号增产 21.8%。2005 年生产试验, 平均单产 6 795.0 kg/hm², 比对照增产 11.0%。

栽培要点 公顷留苗 52 500 株, 田间管理措施无特殊要求。

适宜地区 适宜山西省春播特早熟区种植。