

文章编号:1007-0435(2007)01-0066-04

柠条锦鸡儿的组织培养

宋俊双, 王 赞*, 孙桂芝, 高洪文

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100094)

摘要: 以柠条锦鸡儿(*Caragana korshinskii* Kom.) 无茵苗的子叶和下胚轴为外植体, 研究其愈伤组织诱导及植株再生。结果表明: 柠条锦鸡儿子叶和下胚轴均能诱导出愈伤组织, 其适宜诱导培养基分别为 MS+2,4-D 2.0(mg/L)+KT 0.1(mg/L) 和 MS+2,4-D 2.0(mg/L)+BA 0.5(mg/L); 子叶诱导不定芽的适宜培养基为 MS+6-BA 0.2(mg/L)+NAA 0.05(mg/L), 下胚轴诱导不定芽的适宜培养基为 MS+6-BA 0.5(mg/L)+NAA 0.05(mg/L); 适宜生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5(mg/L)+NAA 0.5(mg/L)。本试验结果可为柠条锦鸡儿的快速繁殖利用及品种改良提供依据。

关键词: 柠条锦鸡儿; 组织培养; 外植体; 激素浓度

中图分类号: Q943

文献标识码: A

Study on the Tissue Culture of Horqin Peashrub

SONG Jun-shuang, WANG Zan*, SUN Gui-zhi, GAO Hong-wen

(Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agriculture Science, Beijing 100094, China)

Abstract: A study on callus induction and plantlet regeneration of Horqin peashrub (*Caragana korshinskii* Kom.) was carried out. The results show that both the cotyledon and hypocotyl of the plant could successfully induce callus, for which the optimum media were MS+2,4-D 2.0(mg/L)+KT 0.1(mg/L), and MS+2,4-D 2.0(mg/L)+BA 0.5(mg/L), respectively. The best media for inducing adventitious buds by cotyledon and hypocotyl were MS+6-BA 0.2(mg/L)+NAA 0.05(mg/L), and MS+6-BA 0.5(mg/L)+NAA 0.05(mg/L), respectively, while the optimum rooting medium was 1/2MS+IBA 0.5(mg/L)+NAA 0.5(mg/L). Some suggestions for the rapid propagation and variety improvement of *Caragana korshinskii* are offered in this study.

Key words: Horqin peashrub (*Caragana korshinskii*); Tissue culture; Callus; Concentrations of hormones

柠条锦鸡儿(*Caragana korshinskii* Kom.) 是豆科锦鸡儿属灌木, 主要分布在我国西北和华北的干旱、半干旱地区。具有抗旱、抗寒、耐热、耐沙埋等特性, 其生态价值和经济价值较高^[1]。国内外学者对锦鸡儿属植物的形态、分类、生态生物学及经济价值开发等方面研究报道较多, 而在组织培养方面的研究很少^[2~9]。本试验以柠条锦鸡儿的子叶和下胚轴为外植体, 探讨不同激素配比对其愈伤组织诱导、芽分化及根发生的影响, 以期为柠条锦鸡儿的快速繁殖利用及品种改良提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

柠条锦鸡儿的子叶和下胚轴, 其种子于2003年采自内蒙古鄂尔多斯沙化草地。

1.2 试验方法

1.2.1 无茵苗的获取 将柠条锦鸡儿种子在75%的酒精中浸泡30 s, 转入5%的次氯酸钠溶液中浸泡25 min后, 无菌水冲洗3~5次, 用无菌滤纸吸去表

收稿日期: 2006-08-08; 修回日期: 2006-11-27

基金项目: 国家“863”项目(2002AA241091)

作者简介: 宋俊双(1980-), 女, 河南人, 硕士, 主要从事牧草种质资源研究, E-mail: songjs2004@yahoo.com.cn; 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: gaohongwen@263.net

面水分,将种子在MS培养基中培养5~7 d。

1.2.2 外植体的愈伤组织诱导和芽分化培养 将无菌苗子叶切成0.5 cm×0.5 cm小块,下胚轴切成0.5 cm长的小段,分别接种于附加不同种类和浓度激素的MS培养基上,子叶和下胚轴每批分别接种20瓶,每瓶6块,进行愈伤组织和不定芽的诱导。培养基中附加蔗糖3%、琼脂0.6%。培养基pH值5.8~6.0,在121℃、1.10 kg/cm²压力下灭菌20 min。培养条件:温度25℃±2℃,光照12~14 h/d、光强度36 μmol/m²s。

愈伤组织诱导率(%)=形成愈伤组织的外植体块数/接种的外植体块数×100%

芽的分化率(%)=分化不定芽的外植体块数/接种的外植体块数×100%

根的发生率(%)=分化不定根的外植体块数/接种外植体块数×100%

1.2.3 根的诱导培养 当分化苗长至2~3 cm时,将其切下接种于不同生根培养基上诱导生根。培养条件同上。

2 结果与分析

2.1 激素配对外植体愈伤组织诱导的影响

表1 是不同外植体接种到附加不同浓度6-BA、

2,4-D和KT激素的愈伤组织诱导培养结果。当子叶接种5 d后开始膨胀,7~10 d逐渐形成愈伤组织,在所有的培养基上,愈伤组织的诱导率都为100%,表明柠条锦鸡儿较易产生愈伤。但不同的培养基中愈伤质量和生长速度不一样。当2,4-D为2 mg/L或4 mg/L、KT浓度从0~1.0 mg/L变化时,诱导的愈伤呈现灰白色或灰黄色,比较稀松,愈伤的生长速度随KT浓度的增大而逐渐变大。当2,4-D为2 mg/L、KT为0.1 mg/L时,所诱导的愈伤质量较好。当2,4-D为2 mg/L、6-BA浓度从0~2 mg/L变化时,愈伤比较致密,呈黄色或者黄绿色。其中6-BA浓度在0.5~1.0 mg/L时,愈伤的生长速度较快,生长状态最好。当2,4-D为4 mg/L、6-BA浓度从0~2 mg/L变化时,愈伤的生长速度逐渐降低,愈伤也逐渐由黄色变为灰褐色,而且愈伤上面产生越来越多的白色霜状物。这表明2 mg/L的2,4-D与0.5~1.0 mg/L的6-BA相结合效果最好。

从愈伤的生长速度和质量看,Y2、Y9和Y10培养基比较适宜子叶诱导愈伤,Y3、Y4、Y9和Y10更适下胚轴诱导愈伤。与子叶所产生的愈伤相比,下胚轴所产生的愈伤生长速度较慢、颜色较明亮、质地较稀松,通过比较愈伤的质量和继代后的状态,认为子叶作为外植体产生的愈伤质量较好。

表1 激素浓度对外植体愈伤组织形成的影响

Table 1 Effect of different concentrations of hormones on callus induction of explants

培养基编号 No. of medium	激素浓度 Hormone concentration(mg/L)			愈伤组织诱导率 Induction frequency of callus(%)	
	2,4-D	KT	6-BA	子叶 Cotyledon	下胚轴 Hypocotyl
Y 1	2.0	0.0	0.0	100	100
Y 2	2.0	0.1	0.0	100	100
Y 3	2.0	0.5	0.0	100	100
Y 4	2.0	1.0	0.0	100	100
Y 5	4.0	0.0	0.0	100	100
Y 6	4.0	0.1	0.0	100	100
Y 7	4.0	0.5	0.0	100	100
Y 8	4.0	1.0	0.0	100	100
Y 9	2.0	0.0	0.5	100	100
Y 10	2.0	0.0	1.0	100	100
Y 11	2.0	0.0	1.5	100	100
Y 12	2.0	0.0	2.0	100	100
Y 13	4.0	0.0	0.5	100	100
Y 14	4.0	0.0	1.0	100	100
Y 15	4.0	0.0	1.5	100	100
Y 16	4.0	0.0	2.0	100	100

2.2 不同激素组合对子叶诱导丛生芽的影响

将子叶接种在附加不同2,4-D、6-BA、NAA浓度的MS培养基上,进行不定芽诱导(表2)。3种培养

基都诱导出了愈伤,且M1诱导出来的愈伤是最多的,但只有M2培养基诱导子叶产生了不定芽。说明2,4-D和6-BA结合利于愈伤的诱导,而NAA则更

利于芽的产生。M2和M3培养基相比,虽然都是6-BA和NAA的结合,但因6-BA浓度的不同,结果差异较大,表明6-BA/NAA值较小时,利于芽的产生。

2.3 不同激素组合对下胚轴诱导丛生芽的影响

将下胚轴接种在附加不同2,4-D、6-BA、NAA浓度的MS培养基上,进行不定芽诱导(表3)。3种培养基都可诱导下胚轴产生芽和愈伤,其中M3不定

芽诱导率最高,所产生的苗质量也最好。就M1与M3而言,说明NAA更适合于诱导芽的产生,2,4-D较利于诱导愈伤。M2和M3相比,二者都诱导出了芽和愈伤,但因6-BA/NAA值的不同,芽诱导率和芽的质量产生了较大差别,M3较M2芽诱导率高,苗更为茁壮。表明M3更适合于下胚轴诱导不定芽。作为外植体,下胚轴比子叶更适合于诱导芽的产生,而子叶更适合于诱导愈伤。

表2 激素浓度对子叶不定芽诱导的影响

Table 2 Effect of different concentrations of hormones on adventitious buds induction of cotyledon

培养基编号 No. of medium	激素浓度 Hormone concentration (mg/L)			芽分化率 Differentiation rate of adventitious buds (%)	平均芽数 Average of adventitious buds	芽生长状况 Quality of adventitious buds	愈伤诱导率和状态 Induction frequency (%) and quality of callus
	2,4-D	6-BA	NAA				
M1	0.05	0.5	0.0	0.0	0	—	82.6,较多,绿色或黄绿色 82.6, many callus, green or yellow-green
M2	0.0	0.2	0.05	15.8	1.5	较小,约2 cm Tiny buds of 2 cm	47.3,较少,淡黄色 47.3, few allus, light-yellow
M3	0.0	0.5	0.05	0.0	0	—	27.8,极少,褐色 27.8, rare callus, brown

表3 激素浓度对下胚轴不定芽诱导的影响

Table 3 Effect of different concentrations of hormones on adventitious buds induction of hypocotyl

培养基编号 No. of medium	激素浓度 Hormone concentration (mg/L)			芽分化率 Differentiation rate of adventitious buds (%)	平均芽数 Average of adventitious buds	芽生长状况 Quality of adventitious buds	愈伤诱导率和状态 Induction frequency (%) and quality of callus
	2,4-D	6-BA	NAA				
M1	0.05	0.5	0.0	27.8	1.4	粗壮且矮,1~4 cm Thickset buds, 1~4 cm	94.4,较多,绿色 94.4, many callus, green
M2	0.0	0.2	0.05	16.7	1.7	细且高,2~5 cm Slender buds, 2~6 cm	61.1,淡黄色 61.1, light-yellow
M3	0.0	0.5	0.05	38.9	2.0	较粗壮,2~5 cm Thick buds, 2~5 cm	50.0,较少,淡黄色 50.0, few callus, light-yellow

2.4 激素组合对柠条锦鸡儿生根的影响

将长约2~3 cm的再生苗切取后,接种于4种生根培养基上,培养30 d后观察统计根数和苗生长状态(表4)。不加任何激素的G1培养基也能生根,而且生根率最高,但大部分都是玻璃苗。只添加NAA的

G3培养基没有生根,说明NAA单独存在时会抑制根的发生。而当在6-BA存在的情况下,适宜浓度的NAA不仅利于根的发生,也促进了苗的生长。根据根的发生率和苗的质量可知,G4培养基最适合柠条锦鸡儿根的发生。

表4 不同激素浓度对柠条锦鸡儿生根的影响

Table 4 Effect of different concentrations of hormones on root formation of *C. korshinskii*

培养基编号 No. of medium	激素浓度 Hormone concentration (mg/L)		生根率 Rooting rate (%)	平均根长度 Length or root (cm)	平均根数 Average of roots	苗生长状态 Quality of seedling
	6-BA	NAA				
G1	0.0	0.0	37.5	25	2.5	生长缓慢,部分玻璃苗 Slow growth, some glass seedlings
G2	0.5	0.0	27.2	10	1.0	生长缓慢,部分玻璃苗 Slow growth, some glass seedlings
G3	0.0	0.5	0.0	—	—	—
G4	0.5	0.5	33.3	20	3.8	生长旺盛 Vigorous growth

3 讨论与结论

根据植物细胞全能性学说,来自不同部位的外植体都应该具有植株再生能力。在本试验中,相同基因型的2种外植体在含有相同激素的培养基中,诱导愈伤和芽的难易程度却不同,生长速度和质量亦有明显差异。其原因可能是:子叶和下胚轴中所含的内源激素水平不同而对外源激素种类及浓度的要求不一致^[10];子叶和下胚轴在组织结构、生理特性及功能上所存在的差异,导致它们最先脱分化的组织细胞不同,进而细胞分裂、分化等一系列生理上的发生速度不同。据此认为筛选出适合的激素和激素配

比的培养基,对提高柠条锦鸡儿外植体的再生频率尤为重要。试验表明:柠条锦鸡儿子叶和下胚轴均能诱导愈伤组织,其适宜诱导培养基分别为MS+2,4-D 2.0(mg/L)+KT 0.1(mg/L)和MS+2,4-D 2.0(mg/L)+BA 0.5(mg/L)(图1-a);子叶诱导不定芽的适宜培养基为MS+6-BA 0.2(mg/L)+NAA 0.05(mg/L),下胚轴诱导不定芽的适宜培养基为MS+6-BA 0.5(mg/L)+NAA 0.05(mg/L)(图1-b);适宜生根培养基为1/2MS+IBA 0.5(mg/L)+NAA 0.5(mg/L)(图1-c)。本试验结果为柠条锦鸡儿的快速无性繁殖提供了有效途径,可为今后锦鸡儿属植物的品种改良提供依据。



图1 柠条锦鸡儿组织培养及植株再生

Fig. 1 Tissue culture and plantlet regeneration of *Caragana korshinskii* Kom.

a. 子叶诱导的愈伤组织; b. 下胚轴分化出的不定芽; c. 试管苗生根; a. Calli induced from cotyledon of formation of plantlet; b. Adventitious buds differentiated from hypocotyls; c. Roots

参考文献:

- [1] 王 赞,高洪文,韩建国. 柠条锦鸡儿DNA提取及AFLP反应体系的建立[J]. 草地学报,2005,13(2):126-129
- [2] 慈忠铃. 柠条锦鸡儿愈伤组织的培养和分化[J]. 内蒙古林学院学报,1998,20(12):15-19
- [3] 张尔荣. 树锦鸡儿的组织培养及快速繁殖[J]. 东北农学院学报,1990,21(1):94-97
- [4] 李凤霞. 中间锦鸡儿和骆驼刺组织培养一次诱导再生植株[J]. 中国草地,1992,(4):37-39
- [5] 牛西午,杨慧珍,詹海仙,等. 小叶锦鸡儿的组织培养和快速繁殖[J]. 西北植物学报,2004,24(8):1502-1505
- [6] 王力华,邓正正,姚晓福. 锦鸡儿属中3种植物的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2004,40(4):456
- [7] 邓正正,王 阳,王力华. 锦鸡儿属防风固沙树种的离体培养试验[J]. 沈阳农业大学学报,2004,35(3):226-230
- [8] 王 赞,高新中,韩建国,等. 柠条锦鸡儿表型多样性研究[J]. 草地学报,2006,14(2):201-205
- [9] 宋俊双,王 赞,高洪文. 3种锦鸡儿遗传多样性ISSR分析[J]. 草地学报,2006,14(4):384-386
- [10] 王小菁,李 玲. 植物生长调节剂在植物组织培养中的应用[M]. 北京:化学工业出版社,2002,47

(责任编辑 才 杰)