

植物激素对荞麦组织培养的研究

柴瑞娟, 吴先林

(安徽工程科技学院 生化工程系, 安徽 芜湖 241000)

摘要:分别用荞麦自然苗和无菌苗的幼茎和幼叶作材料进行荞麦的组织培养, 结果发现, 荞麦愈伤组织诱导的最佳培养基是 MS+2,4-D(7.0 mg/L)+6-BA(0.5 mg/L), 幼茎的出愈率为 100%, 在器官诱导实验中发现 MS+2,4-D(0.2 mg/L)+6-BA(4.0 mg/L)为芽诱导的最佳培养基, 诱导率高达 90%; 根诱导最佳培养基为 MS+2,4-D(4.0 mg/L)+KT(0.2 mg/L), 诱导率为 78%。虽然荞麦自然苗和无菌苗在愈伤组织和芽诱导中无明显差异, 但自然苗外植体愈伤组织的生长和颜色与无菌苗的不同, 且芽生长状况也更良好。同时, 还探讨了培养基中琼脂浓度对荞麦愈伤组织诱导的影响。

关键词:荞麦; 自然苗; 愈伤组织; 器官; 琼脂浓度

中图分类号:Q948

文献标识码:A

荞麦(Buckwheat)属蓼科(Polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*), 有两个栽培种, 一个是甜荞(*F. esculentum* Mosnch), 另一个是苦荞(*F. tataricum* (L.) Gaertn)^[1]。荞麦含有丰富的营养, 同时具有一定的保健功能, 并且长期以来一直出口海外。

植物组织培养是现代生物技术的一项主要内容, 通过植物组织培养可在短时间内对某一植物进行快速繁殖, 荞麦也可利用这一方法来提高其产量, 为荞麦的发展开辟一条新途径。同时, 国内文献中对荞麦组织培养及快速繁殖报道很少, 且均是利用荞麦无菌苗为外植体。因为无菌苗和自然苗生长环境有一定差异, 因此, 本文分别利用荞麦无菌苗和自然苗为外植体进行组织培养, 发现这两类外植体在培养过程中存在一定差异。

1 材料和方法

1.1 材料的获得

荞麦种子由本市种子站购买。一部分用自来水浸泡 15 h 后, 用 75% 乙醇表面消毒 30 s, 0.1% 升汞灭菌 10 min, 再用无菌水冲洗 5 次, 接种到不加激素的 MS 培养基上培养, 使其萌发成高约 5 cm 的无菌苗^[2]。另一部分直接播种于本校一教学楼旁的空地, 让其自然萌发生长, 以 5 cm 的幼苗做供试材料。

1.2 实验方法

将无菌苗和自然苗幼茎均切成 0.5 cm 长的切段, 幼叶切成 0.5 cm² 的方块作为外植体, 接种到附加 2,4-D, KT, 6-BA 的不同激素组合的愈伤组织诱导培养基上进行诱导, 接种后观察愈伤组织生长状况并计算愈伤组织诱导率。选择生长良好的愈伤组织接种于附加 2,4-D, KT, 6-BA 的不同激素组合的器官诱导培养基上进行器官诱导, 并计算诱导率。

说明: 出愈率 = (长出愈伤组织的外植体数/30) × 100% (每一激素配比培养基做 30 个外植体); 芽/根的诱导率 = (长出芽/根的愈伤组织块数/30) × 100% (每一激素配比培养基做 30 个愈伤组织块)。培养条件均为光照 1 200 LX, 光照时间 15 h/d, 温度为 (26 ± 2) °C。

2 实验结果与讨论

2.1 愈伤组织的诱导

出愈率的统计均在接种后 20 d 进行。从表 1 可看出, 荞麦愈伤组织最佳诱导培养基是 MS+2,4-D(7.0 mg/L)+6-BA(0.5 mg/L), 出愈率为 100%。从表 1 亦可看出, 随着 2,4-D 浓度的增加, 幼茎和幼

收稿日期: 2006-01-06

基金项目: 安徽工程科技学院青年科研基金资助项目(52022801)

作者简介: 柴瑞娟(1975—), 女, 内蒙古乌兰察布人, 讲师, 硕士。

叶的出愈率均在上升. 虽然材料 I (无菌苗) 和材料 II (自然苗) 茎和叶总的出愈率相差不大, 但在愈伤组织诱导和生长过程中发现, 幼茎比幼叶更容易形成愈伤组织, 而且愈伤组织生长迅速 (幼茎最快在接种第 5 d 后即开始膨胀, 在 12 d 左右便明显形成愈伤. 但幼叶在相同激素组合的培养基上一周左右才可见切口处膨胀, 大约 2 周后才可见愈伤组织出现, 且生长较慢, 这一结论与前人^[2]所做结果相同, 因此, 幼茎是荞麦愈伤组织诱导的最佳材料). 但材料 I 和材料 II 的幼茎和幼叶愈伤诱导过程又稍有差别, 材料 II 幼茎或幼叶诱导的愈伤比材料 I 幼茎或幼叶诱导的愈伤生长快, 且生长情况更好. 由于荞麦茎中有色素 (红), 所以材料 II 幼茎诱导的愈伤组织颜色与幼叶诱导的不同, 略显红色, 而幼叶诱导的为淡黄色. 材料 I 无论是幼茎还是幼叶诱导的愈伤组织均为淡黄色.

表 1 不同激素浓度对荞麦愈伤组织形成的影响

培养基 编 号	2,4-D/ (mg · L ⁻¹)	6-BA/ (mg · L ⁻¹)	KT/ (mg · L ⁻¹)	材料 I 外殖体数		材料 II 外殖体数		出愈率/%	
				幼茎	幼叶	幼茎	幼叶	幼茎	幼叶
1	3.0	0.1	—	30	30	30	30	70.1	65.4
2	4.0	0.2	—	30	30	30	30	81.2	79.3
3	5.0	0.3	—	30	30	30	30	95.0	90.0
4	6.0	0.4	—	30	30	30	30	98.0	95.4
5	7.0	0.5	—	30	30	30	30	100	97.3
6	3.0	—	0.1	30	30	30	30	71.0	68.2
7	4.0	—	0.2	30	30	30	30	82.2	80.1
8	5.0	—	0.3	30	30	30	30	93.0	89.2
9	6.0	—	0.4	30	30	30	30	97.3	97.0
10	7.0	—	0.5	30	30	30	30	98.8	98.6

2.2 芽和根的诱导

表 2、表 3 分别为不同激素组合对芽、根诱导率的影响.

表 2 不同激素组合对芽诱导率的影响

培养基 编 号	2,4-D/ (mg · L ⁻¹)	6-BA/ (mg · L ⁻¹)	KT/ (mg · L ⁻¹)	材料 I 芽诱导率/%		材料 II 芽诱导率/%	
				幼茎愈伤组织	幼叶愈伤组织	幼茎愈伤组织	幼叶愈伤组织
1	0.2	1.0	—	4.8	3.9	3.2	5.0
2	0.2	2.0	—	23.2	20.5	20.1	16.0
3	0.2	3.0	—	47.6	53.4	50.8	52.4
4	0.2	4.0	—	68.0	70.0	62.0	67.2
5	0.2	5.0	—	60.3	61.0	58.0	52.3
6	0.2	—	1.0	10.1	5.8	8.0	6.3
7	0.2	—	2.0	23.0	29.6	28.1	33.0
8	0.2	—	3.0	65.4	69.3	68.0	62.3
9	0.2	—	4.0	60.0	65.2	65.2	57.3
10	0.2	—	5.0	22.7	19.6	17.0	23.4

表 3 不同激素组合对根诱导率的影响

培养基 编 号	2,4-D/ (mg · L ⁻¹)	6-BA/ (mg · L ⁻¹)	KT/ (mg · L ⁻¹)	材料 I 芽诱导率/%		材料 II 芽诱导率/%	
				幼茎愈伤组织	幼叶愈伤组织	幼茎愈伤组织	幼叶愈伤组织
1	1.0	0.2	—	3.2	3.8	4.9	6.7
2	2.0	0.2	—	15.4	10.7	20.3	15.8
3	3.0	0.2	—	40.1	33.2	37.6	42.5
4	4.0	0.2	—	72.0	77.3	69.3	73.0
5	5.0	0.2	—	65.8	59.7	58.2	63.1
6	1.0	—	0.2	3.7	5.6	4.5	4.8
7	2.0	—	0.2	14.2	10.3	18.6	23.2
8	3.0	—	0.2	43.0	47.6	37.0	40.5
9	4.0	—	0.2	78.0	69.2	75.3	72.0
10	5.0	—	0.2	68.3	60.5	61.8	65.2

从表 2 可看出, 材料 I 和材料 II 中幼茎和幼叶愈伤的芽诱导率无显著差别, 但幼叶愈伤容易诱导出芽 (幼叶愈伤最快在接种 9 d 后可出芽, 但幼茎愈伤最快在 12 d 左右出芽点), 以 MS+2,4-D(0.2 mg/L)+6-BA(4.0 mg/L) 为芽诱导的最佳培养基, 诱导率可达 70%. 在此培养基上每块愈伤组织可诱导出 5~7 个不定芽, 且生长良好.

从表 3 可看出,根诱导最佳培养基为 MS+2,4-D(4.0 mg/L)+KT(0.2 mg/L),诱导率为 78%. 材料 I 和材料 II 根、幼茎和幼叶根诱导率无明显差别.

为了说明 6-BA 和 KT 在愈伤组织和器官诱导中的作用,对实验结果进行了统计学分析(表 4),结果表明 6-BA 和 KT 在愈伤组织和器官诱导中的作用没有显著区别. 因此,出于经济角度考虑,可用 6-BA 代替 KT 进行实验.

表 4 6-BA 和 KT 在愈伤组织和器官诱导中作用的统计分析

数据来源	表 1 出愈率平均值		表 2 芽诱导率平均值		表 3 根诱导率平均值	
	茎	叶	茎	叶	茎	叶
6-BA	88.86a	85.48a	39.80a	40.17a	38.68a	38.58a
KT	88.28a	86.62a	36.75a	37.18a	40.44a	39.89a

注:显著性水平 a 大于 0.05.

3 讨 论

本实验采用荞麦无菌苗和自然苗的幼茎和幼叶作为外殖体,愈伤组织诱导率可达 100%,且幼茎在琼脂浓度较低的 MS 培养基上愈伤组织的诱导率和生长情况均较理想,因此,利用幼茎作外殖体在偏软的培养基上诱导愈伤组织是较好的处理条件.

在芽的诱导中,以 6-BA 是 2,4-D 浓度的 20 倍诱导率最高. 根的诱导中,以 2,4-D 是 KT 浓度的 20 倍诱导率最高,因此,选用 MS 补加相应浓度的激素可作为荞麦器官诱导培养基.

至于本实验中自然苗和无菌苗所表现出的诱导和生长差异其原因还有待于进一步探讨.

参考文献:

[1] 张以忠,陈庆富. 荞麦研究的现状与发展[J]. 种子,2004,23(3):39-41.
[2] 陈发菊,陈芳请,谭立槐. 荞麦组织培养中的植株再生[J]. 湖北三峡学院学报,2000,22(2):64-66.
[3] 郝建平,张江涛. 8 种甜荞的种子消毒及愈伤组织诱导和增殖条件[J]. 植物研究,2001,21(1):65-69.
[4] Mirjana, Neskovic. Somatic embryogenesis and bud formation from immature embryos of buckwheat[J]. Plant Cell Reports,1987(6):423-426.

Study on tissue culture of buckwheat

CHAI Rui-juan, WU Xian-lin

(Dept. of Bioch. Engn., Anhui University of Technology and Science, Wuhu 241000, China)

Abstract: Stem and leaf segments of Buckwheat were cultured on MS medium supplemented with different phytohormone. The experiment results showed that the suitable phytohormone composition to induce callus was MS+2,4-D(7.0 mg/L)+6-BA0.5 mg/L), and induction rate of stem segment callus was 100%. The suitable phytohormone composition was MS+2,4-D(0.2 mg/L)+6-BA(4.0 mg/L) to induce adventitious buds and MS+2,4-D(4.0 mg/L)+KT(0.2 mg/L) to induce adventitious roots. The induction rate of adventitious buds and roots was 90% and 78% respectively. Natural young plant and pollution-free young plant of Buckwheat had no sensible difference on induction to callus or organs, but the callus color of nature young plant was different from that of pollution-free young plant's callus color. Natural young plant buds grew better than pollution-free young plant's. Meanwhile, The experiment results showed agar concentration can affect induction rate of callus.

Key words: buckwheat; nature young plant; callus; organs; agar concentration