

硝酸银对玉米幼胚组织培养的影响

杜何为¹, 许先凤², 黄敏¹, 赵启桂¹, 张祖新²

(1. 长江大学生命科学学院, 湖北 荆州 434025; 2. 河北农业大学农学院, 河北 保定 071001)

摘要: 以玉米自交系 A188 的幼胚为材料, 以 N_6 为基本培养基, 在诱导、继代培养基中分别添加 2、4、6、8、10、12 和 14 mg/L $AgNO_3$, 研究了硝酸银浓度对玉米幼胚组织培养的影响。结果发现: 10 mg/L $AgNO_3$ 有利于玉米幼胚愈伤组织的诱导, 诱导率高达 93.3%; 愈伤组织的继代时期, 添加 $AgNO_3$ 反而抑制愈伤组织的增殖; 10 mg/L $AgNO_3$ 有利于胚性愈伤组织的形成, 该愈伤组织的分化率也较高。

关键词: 玉米; 组织培养; 愈伤组织; $AgNO_3$

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 1008-1631 (2008) 08-0062-02

Effect of $AgNO_3$ on Tissue Culture of A188 Immature Embryos

DU He-wei¹, XU Xian-feng², HUANG Min¹, ZHAO Qi-gui¹, ZHANG Zu-xin²

(1. College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434025, China; 2. College of Agronomy, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: Taking the A188 immature embryo as material, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 14 mg/L $AgNO_3$ were added into induction medium and maintenance medium, respectively. The effect of $AgNO_3$ on tissue culture of A188 immature embryos were studied. The results showed that the induction rate of callus reached 93.3% when the concentration of $AgNO_3$ was 10 mg/L. Callus growth could be inhibited by $AgNO_3$ during callus maintenance. The solution of $AgNO_3$ with the concentration 10 mg/L could increase the induction rate of callus differentiation.

Key words: Maize; Tissue culture; Callus; $AgNO_3$

$AgNO_3$ 是乙烯合成酶 ACC 的一种抑制剂, 能抑制乙烯的生物合成, 被广泛应用于植物的组织培养中。秦永华等^[1]研究发现, $AgNO_3$ 浓度为 0.5 ~ 1.0 mg/L 时, 草莓试管苗的株高和干质量逐渐下降, 而叶绿素、可溶性蛋白的含量和抗氧化酶的活性逐渐升高; 陈军营等^[2]在诱导培养基中加入 2.5% 或 5% 的 $AgNO_3$, 有利于小麦幼胚愈伤组织的诱导和分化; 在大白菜^[3]、黄瓜^[4]和甜瓜^[5]等的组织培养中也有 $AgNO_3$ 应用的报道。

本研究对 $AgNO_3$ 在 A188 幼胚的诱导、继代和分化中的影响进行了初步研究, 以期对玉米的单倍体组织培养、遗传转化等相关研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米自交系 A188, 由长江大学生命科学学院玉米课题组保存。

1.2 方法

1.2.1 A188 幼胚诱导、继代及分化培养基组分 诱导及继代培养基成分: N_6 基本培养基成分 + 2, 4-D 2 mg/L

+ 水解酪蛋白 0.5 g/L + 脯氨酸 700 mg/L + 肌醇 100 mg/mL + 蔗糖 3% + gelrite 0.3%, pH 值 5.8。

分化培养基成分: N_6 基本培养基成分 + 6-BA 5 mg/L + 水解酪蛋白 0.5 g/L + 脯氨酸 700 mg/L + 肌醇 100 mg/mL + 蔗糖 3% + gelrite 0.3%, pH 值 5.8。

诱导、继代培养基灭菌后, 加入无菌过滤处理的 $AgNO_3$ 溶液, 使最终 $AgNO_3$ 浓度为 2、4、6、8、10、12 和 14 mg/L。

1.2.2 玉米幼胚的剥离 取授粉 9 ~ 11 d、幼胚大小介于 1.5 ~ 2.0 mm 的幼穗, 用解剖刀将籽粒从幼穗上切下, 先用 75% 的酒精消毒 1 min, 然后用 2% 次氯酸钠溶液处理 15 min, 最后用无菌水冲洗 5 ~ 6 次。

1.2.3 $AgNO_3$ 对 A188 幼胚愈伤诱导的影响 试验设不加 $AgNO_3$ (CK) 和不同浓度 $AgNO_3$ 溶液共 8 个处理, 处理 I ~ VIII 中 $AgNO_3$ 的浓度分别为 0、2、4、6、8、10、12 和 14 mg/L, 每处理重复 3 次。在超净台上剥离的幼胚, 盾片朝上接种在诱导培养基上。每个培养皿中接种 20 个幼胚, 每处理接种 3 皿。暗培养 20 d 后, 统计玉米幼胚诱导愈伤组织的诱导率。

1.2.4 $AgNO_3$ 对愈伤组织生长的影响 用分析天平在超净台称取愈伤组织 0.7 g, 分别放置在不同浓度 $AgNO_3$ 的继代培养基中, 20 d 后称取愈伤组织重量。

1.2.5 $AgNO_3$ 对愈伤组织分化率的影响 将不同 $AgNO_3$ 浓度继代培养基中生长的愈伤组织各取 60 块, 分

收稿日期: 2008-06-10

基金项目: 湖北省自然科学基金 (2004ABA145), 湖北省教育厅项目 (2003B001)

作者简介: 杜何为 (1976-), 男, 湖北大冶人, 硕士, 讲师, 主要从事玉米基因工程及单倍体技术研究。

别放于不含 AgNO_3 的分化培养基上,光照培养,20 d 后继代 1 次,40 d 后统计愈伤组织的分化率。

2 结果与分析

2.1 AgNO_3 对 A188 幼胚愈伤诱导的影响

从表 1 可以看出,当 AgNO_3 浓度达到 10 mg/L 时,幼胚愈伤组织的诱导率较高,达 93.3%,低于对照的 95.0%,但愈伤组织的质量好,胚性愈伤组织较多。10 mg/L 的 AgNO_3 有利于愈伤组织的诱导和胚性愈伤组织的形成。

表 1 AgNO_3 对 A188 幼胚愈伤组织诱导的影响
Table 1 Effect of AgNO_3 on callus induction of A188 immature embryos

处理	接种数 (块)	愈伤数 (块)	诱导率 (%)
I (CK)	60	57	95.0
II	60	48	80.0
III	60	47	78.3
IV	60	38	63.3
V	60	48	80.0
VI	60	56	93.3
VII	60	51	85.0
VIII	60	48	80.0

2.2 AgNO_3 对愈伤组织生长的影响

从表 2 可以看出,在继代培养基中加入 AgNO_3 ,对愈伤组织的生长有一定的抑制作用,但抑制作用不明显。可见, AgNO_3 在继代培养基中的作用并不是促进愈伤组织的生长,而是提高愈伤组织的质量,10 mg/L AgNO_3 (增重 2.231 g) 有利于胚性愈伤组织的形成。

表 2 玉米愈伤组织的继代增殖
Table 2 The subculture multiplication of A188 callus (g)

处理	愈伤组织重量		增加重量
	继代前	继代后	
I (CK)	0.691	3.189	2.498
II	0.710	2.552	1.842
III	0.684	2.610	1.926
IV	0.695	2.806	2.111
V	0.707	2.873	2.166
VI	0.686	2.917	2.231
VII	0.715	2.763	2.048
VIII	0.697	2.720	2.023

2.3 AgNO_3 对愈伤组织分化率的影响

从表 3 可以看出,经浓度为 2 mg/L 和 4 mg/L AgNO_3 处理的愈伤组织分化率较低,分别为 45.0% 和 38.3%;在 10 mg/L AgNO_3 中的愈伤组织,分化率较高,达到了 85.0%;当 AgNO_3 浓度高于 10 mg/L 时,分化率又趋于降低。

3 结论与讨论

以玉米自交系 A188 的幼胚为材料,以 N_6 为基本培养基,在诱导、继代培养基中分别添加 2、4、6、8、

10、12 和 14 mg/L AgNO_3 ,研究了硝酸银浓度对玉米幼胚组织培养的影响。结果发现:10 mg/L AgNO_3 有利于玉米幼胚愈伤组织的诱导,诱导率高达 93.3%;愈伤组织的继代时期,添加 AgNO_3 反而抑制愈伤组织的增殖;10 mg/L AgNO_3 有利于胚性愈伤组织的形成,该愈伤组织的分化率也较高。

表 3 玉米幼胚愈伤组织的再分化
Table 3 The differentiation of A188 callus

处理	接种愈伤数 (块)	分化苗数 (株)	分化率 (%)
I (CK)	60	46	76.7
II	60	27	45.0
III	60	23	38.3
IV	60	31	51.6
V	60	43	71.6
VI	60	51	85.0
VII	60	44	73.3
VIII	60	40	66.7

幼胚愈伤组织的诱导培养基中,不加 AgNO_3 和加入 10 mg/L AgNO_3 的诱导率较高,大于 90.0%。当 AgNO_3 浓度达到 14 mg/L 时,反而抑制了玉米幼胚的萌发和愈伤组织的形成。随着诱导培养基中 AgNO_3 浓度的升高,幼胚的诱导率逐渐降低,当 AgNO_3 的浓度达到 8 mg/L 时,愈伤诱导率又缓慢升高,10 mg/L 时达到最高。低浓度的 AgNO_3 对玉米幼胚愈伤组织的诱导无明显的促进作用,高浓度的 AgNO_3 能抑制玉米幼胚愈伤组织的形成,原因可能是 AgNO_3 在玉米幼胚诱导阶段的作用是双重的,既可以促进胚性愈伤组织的形成,又表现出对愈伤诱导的抑制作用。当 AgNO_3 的浓度促进作用大于其抑制作用时,愈伤组织的诱导率较高;反之,当抑制作用大于其促进作用时,诱导率降低。在继代培养基中加入 AgNO_3 对愈伤组织的生长有抑制作用,但 10 mg/L AgNO_3 有利于胚性愈伤组织的形成与维持。

参考文献:

- [1] 秦永华,张上隆,胡桂兵,等. AgNO_3 对草莓试管苗生长及抗氧化酶活性的影响 [J]. 果树学报, 2006, 23 (5): 715-719.
- [2] 陈军营,文付喜,何盛莲,等. ABA 和 AgNO_3 对小麦幼胚愈伤组织诱导和分化的影响 [J]. 麦类作物学报, 2006, 26 (2): 46-48.
- [3] 杜虹,庄东红,黄文华. AgNO_3 对大白菜子叶芽再生的促进作用 [J]. 热带亚热带植物学报, 2000, 8 (2): 109-112.
- [4] 曹利仙,赵鹏,唐宇力,等. 硝酸银对黄瓜离体子叶培养芽再生的促进效应 [J]. 甘肃农业大学学报, 2001, 36 (2): 168-171.
- [5] 葛屹松,赵晓琴,李冠. 新疆甜瓜组培体系的优化及抗病转基因研究 [J]. 新疆大学学报, 2003, 20 (1): 35-40.