

韭菜根尖培养及植株再生

王桂英

(廊坊市农林科学院, 河北 廊坊 065000)

摘要:以韭菜种子萌发后根尖及继代组培苗根尖材料为外植体,以 MS 为基本培养基附加不同种类和浓度的植物激素诱导产生愈伤组织及芽。研究表明 BA、KT 和 NAA 配合使用利于根尖材料芽分化,种子根尖比继代组培苗根尖诱导愈伤形成及芽分化相对容易,芽分化率达 80%,经过根的预培养,继代组培苗根尖可达到 60%~65%的芽分化率。

关键词:韭菜;根尖;愈伤组织;芽分化率

中图分类号:S 633.303.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)12-0199-02

韭菜(*Allium tuberosum* Rottl. ex Spreng.)为百合科葱属多年生宿根草本植物,别名草钟乳、起阳草^[1]、懒人草等。是人们喜食的一种蔬菜,产品包括青韭、韭薹、韭菜花等,且韭菜根、叶、种子均可入药。韭菜是我国主栽蔬菜之一,常年栽培面积占当年蔬菜播种面积的5%左右。但因现有韭菜品种的植株抗虫性较差,特别是韭蛆发生严重,危害后使整株枯黄死去。咬食地下根茎的韭蛆是地下害虫,防治困难,只能用地下灌根法控制,但农药残留严重,有损健康。随着人们对绿色无公害食品的日益崇尚追求,改善韭菜品质、选育抗虫品种或导入基因成为了科研工作者的研究课题。研究以韭菜根尖为材料,探索了根尖再生体系的建立,为将植物组培技术与分子生物学方法结合起来,在细胞水平上进行遗传修饰,重组 DNA,以改良韭菜品种^[1]打下了基础。

1 材料和方法

1.1 材料

以 98-1 优系韭菜(廊坊市农林科学院韭菜育种课题组选育)为试材,试验用根分 2 种:种子萌发后的根及继代组培苗生根培养的根。

1.2 方法

1.2.1 种子根的获得 种子用洗涤灵清洗后清水浸泡 10 h,在超净工作台上用 70%酒精浸泡 1 min,再用 0.1% HgCl₂ 浸 10 min^[2],并不时搅动。用无菌水清洗 5 次,无菌滤纸吸干水分,置于无激素 MS 培养基上,7~10 d 时取 0.5~1.0 cm^[3]长、粗 0.1 cm 左右的幼嫩根尖接种于

添加 BA、KT、NAA 不同组合配比的培养基上,30 d 时调查,结果见表 1。

1.2.2 继代组培苗生根培养根的获得 将经过继代增殖产生的分化芽团放于无激素 MS、生根培养基 MS+IAA 0.5 mg/L 及分化培养基(表 1 中所列培养基)上,进行生根培养,20 d 后取其长 0.5~1.0 cm 的根置于 MS 添加 BA、KT、2.4D、NAA 不同组合配比的培养基上进行诱分化试验,于 15、60 d 时调查,结果见表 2、表 3。

试验所用培养基均附加 6%琼脂,3.0%蔗糖(生根培养基减半),pH 5.8。培养温度 22~25℃,光照度 2 500 lx,光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同激素对比对韭菜种子离体根尖不定芽分化的影响

表 1 不同激素对比对韭菜种子离体根尖不定芽分化的影响

激素配比/mg·L ⁻¹			愈伤组织	不定芽	芽高
BA	KT	NAA	诱导率/%	诱导率/%	/cm
0.5		1.0	85	15	0.3
1.0		1.0	40	10	刚显芽
2.0		1.0 ^[4]	62	62	1.0
1.0	1.0	1.0 ^[5]	80	80	1.0

愈伤组织颗粒在根切口处形成,直径 0.3~0.5 cm,根尖端膨大但无愈伤形成。在 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L 培养基上(BA:NAA=1:2),愈伤组织诱导率最高,为 85%,但在短时间内(30 d)不定芽诱导率仅为 15%;MS+BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 培养基上(BA:NAA=2:1),愈伤诱导率与不定芽诱导率相等,即在所形成的愈伤上 100%分化出芽叶;MS+BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 培养基(BA:NAA=1:1)在所试 4 组中表现最差,诱导率低,现芽晚,30 d 时愈伤上刚显芽点。在其基础上加入 KT 1.0 mg/L,则起到了明显的促进作用,愈伤诱导率与不定芽诱导率大大提高,达到了 80%。



作者简介:王桂英(1969-),女,林业工程师,农学学士,主要从事生物技术及农林业科研工作,发表科研论文 13 篇,参加完成科研课题 10 余项,其中获省科技进步二等奖、林业科技进步一、三等奖,市科技进步一、二、三等奖 6 项。

收稿日期:2007-06-23

2.2 不同激素对比对韭菜继代组培苗根不定芽分化的影响

离体根放 MS+2,4-D 0.1 mg/L 培养 15 d 后,60%的根在切口处产生米黄色愈伤组织球,30 d 时观察愈伤增多,但无芽分化。再培养至 60 d 时愈伤组织数量和出愈率仍在增加,但始终无芽分化。在 30 d 时若将 2,4-D 上形

成的愈伤转入 MS+BA 0.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 中,再培养 1 个月,所有愈伤均可分化出芽叶。

在培养基 MS+BA 0.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 上接种 15 d,在部分材料的根切口处就可见绿色不定芽,个别长出 1~2 片叶。但绝大多数材料无变化,60 d 时芽分化率仅为 20%。

表 2 不同激素对比对韭菜继代组培苗根不定芽分化的影响

激素配比 /mg · L ⁻¹	接种根数 /条	出愈根数/条		分化芽根数/条	
		15 d	15 d	60 d	60 d
MS+2,4-D 0.1	20	12	60	0	0
MS+BA 1.0+KT 1.0+NAA 1.0	20	4	20	4	20
MS+2,4-D 0.1 30 d 后转 MS+BA 1.0+KT 1.0+NAA 1.0	20	12	60	12	60

低浓度的生长素 2,4-D 对韭菜根尖材料的愈伤诱导有较好效果,先用 2,4-D 预培养再转至分化培养基培养,较之直接放在分化培养基上可得到较高的出愈率及芽分化率。另外,在根的诱分化试验中还发现,粗壮根(直径>0.2 cm)比细根(直径<0.1 cm)易产生愈伤及分化芽。表 3 试验所用诱导离体根分化培养基均为 MS+BA 0.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L。

表 3 不同来源及形态的根不定芽分化力比较

根形态	来源	60 d 时芽分化率/%
细根	MS 上产生	20% 分化芽叶
细根	MS+IAA 0.5 mg/L 产生	10% 分化
粗壮根	分化培养基培养生成	65% 分化芽叶,最长叶 2cm 最多叶数 10 片

MS 及 MS+NAA \ NAA \ BA 上只能诱导产生细根,而将在其上已生根的苗连根一起转至任何一个分化培养基(表 1 中的培养基)上,培养一段时间后培养基中的根由细弱变得粗壮(直径>0.2 cm),尤以根尖端增粗较多,根尖一般圆钝,这样的粗根切下脱分化力大大提高,由 10%~20% 提高到 65%。

生根培养基上诱导的根离体培养不易脱分化产生愈伤及芽,芽分化率仅有 10%;而不加任何激素的 MS 上诱导产生的根脱分化能力相对强些(根内无生长素的积累),分化率为 25%;分化培养基上培养的根粗壮且有细胞分裂素的积累,分化表现最好,分化率达到了 65%。

3 讨论

种子发芽后的幼嫩根尖与继代组培苗根比较,在相同的诱分化培养基(MS+BA 0.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+

NAA 1.0 mg/L)上,种子根尖有较高的出愈率和芽分化率(80%),这与根的不同生理状态有很大关系,种子新生根尖细胞代谢活跃,正处于生长的最旺盛时期,所以在适宜的外源激素作用下,比其它类型的根启动分化更容易些。这也支持了詹祥灿^[6]的观点:遗传性及生理状态在形态发生过程中所起的作用可能比激素更为关键。

在没有种子材料的前提下,继代韭菜组培苗离体根诱分化要想得到较高的出愈率和芽分化率(60%~65%),以继代苗先在 MS 上诱根产生,根长 0.5~1.0 cm 时连苗带根转至分化培养基上,使根增粗后再切下进行诱芽分化;鉴于低浓度 2,4-D (0.1 mg/L)对韭菜根尖材料的愈伤诱导有较好效果,将 MS 上产生的细根先用 2,4-D 预培养再转至分化培养基培养,较之直接放与分化培养基上也可得到较高的出愈率及芽分化率。

参考文献

- [1] 王志敏,宋明.韭菜组织培养研究进展[J].长江蔬菜,2003(9):32-34.
- [2] 郝建平,周小梅,李绍清.韭菜花序培养及植株再生[J].山西大学学报(自然科学版),1995,18(1):59-62.
- [3] 张松,达克东,曹辰兴,等.韭菜组织培养高频植株再生体系的研究[J].园艺学报,2002,29(2):141-144.
- [4] 张松,达克东,曹辰兴,等.抗生素对韭菜根尖培养植株再生的影响[J].核农学报,2003,17(2):101-104.
- [5] 王明耀,王桂英,田金玉,等.韭菜花器组织培养[J].河北农业大学学报,2005,28(2):40-43.
- [6] 詹祥灿.植物体细胞胚状体与器官发生的激素调节[J].植物生理学报,1983,9(3):317-325.

Root Tip Tissue Culture of Chinese Chive and Plant Regeneration

WANG Guiying

(Langfang Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Langfang, Hebei 065000, China)

Abstract: An efficient plant regeneration system was established through optimization of MS with different hormone combination and different type of root from seed and subcultured seedling in Chinese chive. Result showed the combination of BA,KT and NAA was suit for root tip shoot differentiation, the root tip of seed was easier to form callus and shoot than the subcultured seedling, the shoot differentiation rate was 80%, through special culture methods, that of the subcultured seedling root tip could reach 60%~65%.

Key words: Chinese chive; Root tip; Callus; Shoot differentiation rates