

两个花椰菜品种再生体系的研究

朱惠霞, 胡立敏, 陶兴林

(甘肃省农业科学院 蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要:以 2 个花椰菜品种的子叶和上胚轴为外植体, 以 MS 为基本培养基, 设置不同激素浓度, 建立再生体系。结果表明: 子叶作为外植体时不定芽分化率低, 子叶大部分发生黄化。上胚轴作为外植体不定芽分化率较高, 在适合的培养基上均能达到 100%, ‘祁连白雪’ 上胚轴最佳诱导培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L, ‘新东海明珠 80 天’ 的最佳诱导培养基为 MS+6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L。分化后得到的不定芽在 MS+6-BA 0.5 mg/L 培养基上伸长后, 在 MS+IAA 0.5 mg/L 的培养基上生根, 生根率达 100%, 移植成活率 95%。

关键词: 花椰菜; 子叶; 上胚轴; 再生体系

中图分类号: S 635.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)09-0143-03

花椰菜是一种重要的蔬菜作物, 目前生产中使用的花椰菜种子均为杂交种, 普遍采用人工授粉杂交制种, 该法不仅费工费时, 而且种子只能使用 1 a, 导致生产上必须年年制种, 并且很多优良品种的种子从国外引进, 价格昂贵, 无形中增加了繁育成本。但是, 在生产上花椰菜又难以进行无性繁殖, 而组织培养具有繁殖系数大, 成本较低等优点, 植株的任一器官都可以作为材料进行组织培养繁殖, 这样就弥补了常规繁殖种子价格高的矛盾, 突破了材料不足的限制^[1-3], 因此, 选择适宜的培养条件进行花椰菜的组织培养研究, 促进优良品种选育, 无疑有着广阔的应用前景和重要的实际意义。该研究以‘祁连白雪’和‘新东海明珠 80 天’为材料, 利用子叶和上胚轴作为外植体, 在添加不同浓度激素的培养基上进行诱导再生, 旨在筛选适合花椰菜的培养基和诱导分化率高的外植体, 确定高效的再生条件, 为花椰菜高效再生体系的建立奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为‘祁连白雪’和‘新东海明珠 80 天’的无菌苗, 种子由甘肃省农科院蔬菜研究所提供。

1.2 试验方法

基本培养基为 MS 培养基, 所有培养基中加蔗糖

28 g/L, 琼脂粉 7 g/L, pH 5.8, 附加不同浓度激素(激素配比见表 1)。选取饱满、大小一致的花椰菜种子, 在超净工作台上用 70%酒精消毒 40 s, 无菌水冲洗 1 次, 然后转入 75%的乙醇溶液中振荡灭菌 20 min, 用无菌水冲洗 3 次, 滤纸吸干水分后, 在无菌条件下将种子播种于不含任何激素的固体培养基上, 每瓶 20 粒, 置于培养箱中培养, 培养温度 26℃, 光强 1 600~2 000 lx, 光照 16 h/d。当无菌苗子叶斜向上伸展开时, 从基部切下胚轴, 上胚轴切成 0.5 cm 左右小段, 子叶除去上半部分和中间的顶芽生长点, 将切好的上胚轴和子叶分别平放接种, 每处理接种 20 个, 培养条件与无菌苗相同。30 d 后统计外植体的再生芽数: 不定芽分化率%= 分化外植体数/接种外植体数×100%。

2 结果与分析

2.1 不同外植体类型对不定芽分化频率的影响

进行诱导培养的子叶从第 3 天起开始发生明显膨大, 此后逐步膨大进而变形呈弓形, 因而不能与培养基完全接触(图 1), 培养 30 d 后统计, 没有产生愈伤组织, 其中‘新东海明珠 80 天’产生了少量的不定芽(图 1), 但是不定芽分化率较低, 最高分化率 55%, 诱导培养基为 6-BA 1.5 mg/L+IAA 2.0 mg/L, 培养 40 d 后, 子叶大部分发生黄化。进行诱导培养的上胚轴发生膨大的速度稍慢, 培养 30 d 的统计结果显示, 诱导的上胚轴产生大量愈伤组织, 有的直接分化出不定芽(图 2), 不定芽分化率均在 85%以上, 可见, 在该试验的培养基配比下, 花椰菜的上胚轴作为外植体分化诱导率较高。

2.2 不同品种的子叶分化频率

将花椰菜的子叶作为外植体, 在同一培养基上, 2 个品种的诱导分化结果完全不同, ‘祁连白雪’子叶在各浓度的培养基中均只发生膨大, 没有产生不定芽、愈伤组

第一作者简介: 朱惠霞(1979-), 女, 硕士, 研究实习员, 研究方向为蔬菜育种及生物技术, 现主要从事花椰菜育种研究。E-mail: zhuhx2002@sina.com。

通讯作者: 陶兴林(1977-), 男, 硕士, 助理研究员, 现主要从事花椰菜育种研究工作。

基金项目: 甘肃省自然科学基金资助项目(0803RJZA045)。

收稿日期: 2010-01-26

织和根。‘新东海明珠 80 天’则不同程度的产生了不定芽和根(图 1),但是不定芽分化率不高,最高为 55%(表 1),诱导培养基为 6-BA 1.5 mg/L+IAA 2.0 mg/L,并且在添加了 IAA 1.5 mg/L 的培养基中诱导分化率较高。

表 1 不同激素配比对子叶诱导分化的影响

品种	祁连白雪			新东海明珠 80 天		
	培养基类型 / mg · L ⁻¹	外植 体数	不定 芽数	不定芽分 化率/ %	外植 体数	不定 芽数
祁连白雪	6-BA 0.5+IAA 0.5	20	0	0	20	2
	6-BA 1.0+IAA 0.5	20	0	0	20	4
	6-BA 1.5+IAA 0.5	20	0	0	20	4
	6-BA 2.0+IAA 0.5	20	0	0	20	2
	6-BA 1.0	20	0	0	20	0
新东海明珠 80 天	6-BA 0.5+IAA 1.5	20	0	0	20	5
	6-BA 1.0+IAA 1.5	20	0	0	20	4
	6-BA 1.5+IAA 1.5	20	0	0	20	5
	6-BA 2.0+IAA 1.5	20	0	0	20	6
	6-BA 1.0+IAA 2.0	20	0	0	20	9
	6-BA 1.5+IAA 2.0	20	0	0	20	11

2.3 不同品种的上胚轴分化频率

由表 2 可知,2 个品种的上胚轴都能诱导发生不定芽(图 2),但诱导率存在差异,‘祁连白雪’的诱导率明显高于‘新东海明珠 80 天’。‘祁连白雪’的上胚轴不定芽诱导率在添加低浓度 IAA 或不加 IAA 的培养基上诱导率最高,达到 100%,而高浓度 IAA 对不定芽发生有一定的抑制作用。‘新东海明珠 80 天’的上胚轴不定芽诱

导率在不同培养基上表现也存在差异,在 6-BA 1.0 mg/L+IAA 1.5 g/L 和 6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L 培养基上诱导率最高,达 100%。根据不定芽诱导率和愈伤情况综合分析,‘祁连白雪’上胚轴最佳诱导培养基为 6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L,‘新东海明珠 80 天’的最佳诱导培养基为 6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L。

表 2 不同激素比对上胚轴诱导分化的影响

品种	祁连白雪			新东海明珠 80 天		
	培养基类型 / mg · L ⁻¹	外植 体数	不定 芽数	不定芽分 化率/ %	外植 体数	不定 芽数
祁连白雪	6-BA 0.5+IAA 0.5	20	20	100	20	18
	6-BA 1.0+IAA 0.5	20	20	100	20	18
	6-BA 1.5+IAA 0.5	20	20	100	20	20
	6-BA 2.0+IAA 0.5	20	20	100	20	15
	6-BA 1.0	20	20	100	20	14
新东海明珠 80 天	6-BA 0.5+IAA 1.5	20	19	95	20	11
	6-BA 1.0+IAA 1.5	20	14	70	20	20
	6-BA 1.5+IAA 1.5	20	18	90	20	17
	6-BA 2.0+IAA 1.5	20	9	45	20	13
	6-BA 1.0+IAA 2.0	20	12	60	20	17
	6-BA 1.5+IAA 2.0	20	18	90	20	10

2.4 不定芽的生根和移植

将分化出的不定芽转接到伸长培养基 MS+6-BA 0.5 mg/L 上,不定芽大多数能够健壮生长(图 3),较大的无根苗转接于生根培养基 MS+IAA 0.5 mg/L 上约 10 d 即发出白色不定根(图 4),生成完整植株。

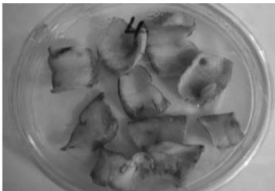


图 1 子叶分化情况(左:祁连白雪 右:新东海明珠 80 d)

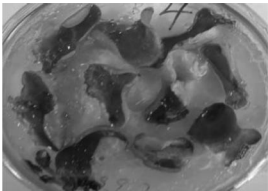


图 2 上胚轴分化情况(左:祁连白雪 右:新东海明珠 80 d)



图 3 伸长培养

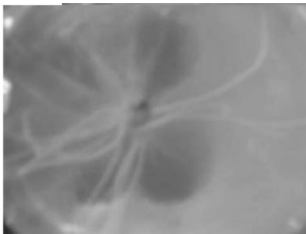


图 4 生根培养

3 讨论

一般认为,细胞分裂素有利于芽的分化,生长素有利于根的分化和愈伤组织的形成,细胞分裂素与生长素的比值高有利于芽的分化^[4]。该试验中分化的芽是子叶或上胚轴直接分化而来,而不是从愈伤组织分化来的,愈伤组织的细胞的生长速度较快,其细胞周期较短,

染色体发生变异的机率大,所以由愈伤组织分化的植株容易发生变异,在生产中的应用具有局限性。而从其器官直接分化的芽发生变异的机率小,能够保持优良杂交种的优良性状,这对生产是极为有利的,同时为花椰菜转基因研究提供了可能。

影响花椰菜叶片和上胚轴再生频率的因素很多,合适的细胞分裂素和生长素浓度配比是确立最佳诱导条件的关键因素之一,但也与品种特性有关,此外,同一品种的不同取材部位也影响外植体芽的分化频率。该试验用子叶作为外植体水平放在诱导培养基中,几天后子叶迅速膨大,并且变形呈弓形,使其无法接触到培养基,可能也是子叶作为外植体无法产生芽或出芽较少的原因之一。从不定芽分化率上看,2 个品种的诱导分化效果各不相同,且单个品种诱导效果最好的培养基也存在相对差异,这是由于 2 种花椰菜的基因型不同引起的。

花粉萌发特性对扁桃不亲和强度差异的影响

徐崇志

(塔里木大学 植物科学学院, 新疆 阿拉尔 843300)

摘要:以新疆主栽扁桃8个品种和10个杂交组合为对象,研究其自交以及杂交组合的花柱离体培养花粉管的生长情况,花柱蛋白浓度对不同品种花粉的萌发生长抑制作用的影响,并分析其对扁桃自交不亲和性影响的强度差异。结果表明:在花柱1/3处的花粉管数量差别较小,而在花柱1/2处花粉管数量显著不同。花柱蛋白在低浓度下对花粉萌发和伸长没有抑制作用,蛋白浓度超过2.0 μg/μL时才发生轻微的抑制作用,并且随蛋白浓度的升高抑制作用增强,表明高浓度的花柱蛋白比低浓度的花柱蛋白更能诱导不亲和的发生。

关键词:扁桃;离体培养;花柱蛋白;自交不亲和

中图分类号:S 662.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)09-0145-04

扁桃 (*Amygdalus communis* L.) 属桃李亚科

(*Drupaceae Prunoideae*) 桃李属 (*prunes* Lien) 扁桃亚属植物^[1], 原产于西亚地区^[1]。新疆是其起源地之一, 目前我国扁桃栽培主要在新疆喀什莎车县、英吉沙县、阿克苏、和田地区也有少量的分布。虽然扁桃被普遍认为是—自交不亲和树种, 但是这一性状是相对的, 其自交不亲和性在表现上存在强度差异^[2-3], 因此选育自交亲和品种一直是育种的重要目标之一。现通过对扁桃自交以及杂交组合的花柱离体培养, 花粉管的生长情况和花

作者简介: 徐崇志(1969-), 男, 硕士, 副教授, 现主要从事植物遗传育种与特色果树种质资源研究工作。E-mail: xcz-1999@163.com.
基金项目: 新疆生产建设兵团应用基础研究计划资助项目(2006JC04)。
收稿日期: 2010-01-26

参考文献

[1] 吴林森, 冯福娟, 张宇, 等. 西兰花离体快繁外植体消毒技术初探[J]. 农业与技术, 2006, 26(3): 96-98.
[2] 许端祥, 方淑桂, 陈文辉. 花椰菜自交不亲和系组培快繁技术研究[J]. 福建农业科技, 2006(5): 32-34.

[3] 黄俊轩, 李双跃, 李建科, 等. 花椰菜叶片离体再生技术的研究[J]. 天津农学院学报, 2006, 13(4): 21-23.
[4] 夏小娣, 李素文, 张宝珍, 等. 花椰菜组织培养获得再生植株[J]. 天津农业科学, 1995(2): 22.

Study on Regeneration System of 2 Cauliflowers (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)

ZHU Hui-xia HU Li-min TAO Xing-lin
(Vegetable Research Institute Gansu Academy of Agricultural Sciences Lanzhou Gansu 730070)

Abstract: Basal MS medium supplemented with different hormones was filtrated and optimized. The regeneration system of 2 cauliflowers(*Brassica oleracea* var. *botrytis*) were established by using the cotyledon and epicotyl as explants. The results showed that the adventitious bud differentiation rate from cotyledon explants was very low and most of them were yellowing. But the adventitious bud differentiation rate of epicotyl explants reached 100% on the suitable medium. The best medium for epicotyl explants of ‘Qi Lian Bai Xue’ was MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L, that of ‘Xin Dong Hai Ming Zhu 80 d’ was MS+6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.5 mg/L. The suitable medium was MS+6-BA 0.5 mg/L during the stage of bud stretching. On the medium MS+IAA 0.5 mg/L. The elongated shoots rooted at the rate of 100%. The 95% rooted shoots survived in the greenhouse.
Key words: *Brassica oleracea* var. *botrytis*; cotyledon; epicotyl; regeneration system