

蛋白桑叶片再生体系的建立及对草丁膦敏感性测定

熊 意, 王 红 红, 张 芳 松, 穆 建 强, 祝 建 波

(石河子大学 生命科学院, 新疆 石河子 832003)

摘 要:以蛋白桑的幼嫩叶片为外植体,以 MS 为基本培养基,采用正交实验设计,研究不同浓度的植物生长调节剂对蛋白桑植株再生的影响。结果表明:叶片诱导愈伤组织的最佳培养基为 MS+TDZ $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;最佳分化培养基为 MS+TDZ $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,分化率为 21.65%;培养基 1/2 MS+PVP $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 生根率最高,达到 66.70%;对草丁膦的敏感性试验中,草丁膦浓度 $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为蛋白桑叶片半致死浓度,草丁膦浓度 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对蛋白桑叶片的致死率为 75.00%,草丁膦浓度 $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的致死率为 100.00%。

关键词:蛋白桑;叶片;再生体系;草丁膦

中图分类号:S 792.189 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)17-0098-05

蛋白桑属桑树属(*Morus*),也称为饲料桑,是由全国各地收集的 28 个桑树品种经过杂交优化而得的新品系^[1]。经过长期选择与改良,与其它饲料作物相比,蛋白桑蛋白质含量相对较高,叶片和枝条的蛋白质含量分别达到了 36%和 28%。其叶可做为食用的新鲜蔬菜,桑茶也是目前非常流行的降“三高”的纯天然品,桑粉是美容养颜的佳品,桑条是可以做为饲料植物蛋白^[2]。因此,蛋白桑是高效且高产的经济作物。另外,蛋白桑具有抗干旱、抗风沙、耐寒冷、耐贫瘠的特性,因此它能够在盐碱地、干旱地、贫瘠山地种植,这对于减少土壤沙漠化、防止水土流失等起到一个非常积极的作用。

由于蛋白桑属于较为新兴的品种,作为木本植物,愈伤诱导和分化困难,且桑树的病毒病也影响其生长和发育^[3]。因此,目前国内外尚鲜见有关蛋白桑再生体系建立的研究。现以蛋白桑顶端尚未木质化的无病毒幼嫩部位为试材,经过消毒后扩繁,以扩繁后的叶片为外植体,研究了不同激素组合对蛋白桑再生培养的影响,同时进行了草丁膦耐受试验,以期建立稳定的遗传转化系统提供良好的受体材料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

蛋白桑植株采自新疆伊犁地区,树龄 5~6 年。培养基:MS 培养基与 1/2 MS 培养基,添加 3%蔗糖,0.8%琼脂,pH 5.8。植物激素: α -萘乙酸(NAA)、6-苄氨基嘌呤(6-BA)、噻苯隆(TDZ)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP-40)、草丁膦(PPT)。灭菌条件为蒸汽高温灭菌,温度 121 $^{\circ}\text{C}$,时间 15 min。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体处理 剪取蛋白桑顶端尚未木质化的无病毒幼嫩茎段进行预消毒^[4],自来水冲洗 8 h,70%的酒精消毒 30 s,无菌水冲洗 2~3 次,用 0.1%升汞消毒 10 min,再用无菌水冲洗 4~5 次,最后用无菌滤纸吸干水分,用镊子将茎段移至 MS 培养基,添加 NAA(0.1 、 0.2 、 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和 6-BA(1.0 、 2.0 、 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。采用正交实验 $L_9(3^2)$ 设计^[5]继代培养获得叶片。每组方案处理 5 瓶,重复 3 次。30 d 后统计成活率。成活率(%)=移栽成活的数量/总移栽个数 $\times 100$ 。

1.2.2 愈伤组织诱导 以 1.2.1 中继代培养的叶片为外植体,以 MS 为基本培养基,采用正交实验设计,向培养基中添加 NAA(0.1 、 0.2 、 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和 TDZ(0.1 、 0.2 、 0.3 、 0.5 、 0.9 、 1.0 、 $1.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),进行愈伤组织的诱导培养。每组处理 3 个培养皿,每个培养皿中置 8 个材料,3 次重复。20 d 后统计诱导率。诱导率(%)=诱导出愈伤组织的个数/叶片数 $\times 100$ 。

1.2.3 不定芽分化 以 MS 为基本培养基,采用正交实验设计,向培养基中添加 NAA(0.07 、 0.09 、 0.10 、 0.11 、

第一作者简介:熊意(1992-),男,硕士研究生,研究方向为植物基因工程。E-mail:xiangyil702@163.com。

责任作者:祝建波(1967-),男,博士,副研究员,现主要从事植物基因工程等研究工作。E-mail:zjbshz@163.com。

基金项目:兵团创新团队资助项目(2014CC005);科技型中小企业创新基金资助项目(14C26216513822)。

收稿日期:2016-04-18

0.13、0.15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 TDZ (0.14、0.18、0.22、0.24、0.26、0.30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 进行不定芽的分化。每组处理 3 个培养皿,每个培养皿中放置 8 个材料,3 次重复。30 d 后统计分化率。分化率(%)=不定芽的个数/叶片数 $\times 100$ 。

1.2.4 生根培养 当丛生芽长到 1~3 cm 时,将其转移到生根培养基上。以 1/2 MS 为基本培养基,采用正交实验设计,向培养基中添加不同浓度 PVP-40 和 NAA,进行生根培养。每组处理 4 个不定芽,3 次重复。30 d 后统计生根率。生根率(%)=生根的数量/不定芽的个数 $\times 100$ 。

1.2.5 草丁膦的耐受性试验 以继代培养得到的幼嫩叶片为试材,采用 1.2.3 得到的最佳不定芽分化培养基,分别加入 0.01~0.09 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的草丁膦,50 d 后统计不同激素配比中叶片成活数量,判断蛋白桑叶片对草丁膦的耐受性。

1.3 培养条件

光照强度为 1 000~1 500 lx,每天光照 12~14 h,温度(25 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 软件作图,SPSS 统计软件进行相关统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同激素浓度对茎段叶芽继代培养的影响

试验中的 9 种激素配比都能够用于继代培养,愈伤组织长出新叶。其中 2 号激素浓度配比,即 MS+6-BA 2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的继代培养效果最佳,成活率为 91.67%。

表 1 不同激素浓度对茎段叶芽继代培养的影响

Table 1 Effect of different hormone concentration on subculture of leaf bud

| 编号 No. | NAA 浓度 NAA concentration /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | 6-BA 浓度 6-BA concentration /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | 成活率 Survival rate /% |
|-----------|---|---|----------------------------|
| 1 | 0.1 | 1.0 | 83.33 \pm 7.22 |
| 2 | 0.1 | 2.0 | 91.67 \pm 7.22 |
| 3 | 0.1 | 3.0 | 83.30 \pm 0.00 |
| 4 | 0.2 | 1.0 | 79.17 \pm 7.22 |
| 5 | 0.2 | 2.0 | 83.30 \pm 0.00 |
| 6 | 0.2 | 3.0 | 83.30 \pm 0.00 |
| 7 | 0.3 | 1.0 | 83.33 \pm 7.22 |
| 8 | 0.3 | 2.0 | 79.17 \pm 7.22 |
| 9 | 0.3 | 3.0 | 83.30 \pm 0.00 |

2.2 不同浓度生长调节剂对叶片愈伤组织诱导的影响

将叶片放入添加不同浓度激素的培养基中,1 周后可以观察到 1、3、4、8、10、11、16、17 号培养基中,均有部

分叶片出现白化现象。5、6、7、12、15 号培养基中,均有部分叶片出现褐化现象。10 d 后观察发现,各个浓度梯度均有愈伤组织出现。1、8、15 号培养基诱导出的愈伤组织为白色,2~6、9~13、16~20 号培养基诱导出的愈伤组织为绿色。7、14、21 号培养基诱导出的愈伤组织的颜色为黄色。愈伤组织的形状有团状和颗粒状。有的较为紧密,而有的较为疏松。20 d 后统计各培养基的诱导率(表 2)可知,第 6 号培养基的诱导率最高,达到 95.83%。因此,愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+NAA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + TDZ 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 2 不同植物生长调节剂组合对叶片的愈伤组织诱导的影响

Table 2 Effect of different levels of hormones on leaf callus induction

| 编号 No. | 愈伤诱导率 Induction rate of callus/% | 不定芽分化率 Differentiation rate/% |
|-----------|-------------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 66.67 \pm 7.22d | 0.00 \pm 0.00 |
| 2 | 83.33 \pm 7.22abc | 16.67 \pm 14.43 |
| 3 | 75.00 \pm 0.00bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 4 | 79.17 \pm 7.22bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 5 | 83.33 \pm 7.22abc | 0.00 \pm 0.00 |
| 6 | 95.83 \pm 7.22a | 0.00 \pm 0.00 |
| 7 | 75.00 \pm 0.00bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 8 | 70.83 \pm 7.22bd | 0.00 \pm 0.00 |
| 9 | 75.00 \pm 0.00bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 10 | 75.00 \pm 0.00bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 11 | 79.17 \pm 7.22bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 12 | 79.17 \pm 7.22bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 13 | 87.50 \pm 0.00ac | 0.00 \pm 0.00 |
| 14 | 79.17 \pm 7.22bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 15 | 83.33 \pm 7.22abc | 0.00 \pm 0.00 |
| 16 | 79.17 \pm 7.22bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 17 | 75.00 \pm 12.50bcd | 0.00 \pm 0.00 |
| 18 | 83.33 \pm 7.22abc | 0.00 \pm 0.00 |
| 19 | 83.33 \pm 7.22abc | 0.00 \pm 0.00 |
| 20 | 83.33 \pm 7.22abc | 0.00 \pm 0.00 |
| 21 | 79.17 \pm 7.22bcd | 0.00 \pm 0.00 |

注:同列数字后不同小写字母表示 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference at 0.05 level.

2.3 不同浓度细胞分裂素对叶片愈伤组织分化的影响

由表 2 可知,只有 2 号培养基分化出不定芽,且分化率最高为 16.67%。再次重新设计浓度梯度(表 3),按照上述的方法,对试验进行优化。如表 4 所示,叶片的分化率提高到 21.65%。且这次可以明显观察到诱导率差异不大,但是分化率差异较为显著。

表 3 不同组合对叶片愈伤组织分化的影响

Table 3 Effect of different levels of hormones on leaf callus differentiation

| 编号 No. | 培养基配方 Medium component |
|-----------|--|
| 1 | MS+NAA 0.10 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.14 mg · L ⁻¹ |
| 2 | MS+NAA 0.10 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.18 mg · L ⁻¹ |
| 3 | MS+NAA 0.10 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.22 mg · L ⁻¹ |
| 4 | MS+NAA 0.10 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.26 mg · L ⁻¹ |
| 5 | MS+NAA 0.10 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.30 mg · L ⁻¹ |
| 6 | MS+NAA 0.07 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.20 mg · L ⁻¹ |
| 7 | MS+NAA 0.09 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.20 mg · L ⁻¹ |
| 8 | MS+NAA 0.11 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.20 mg · L ⁻¹ |
| 9 | MS+NAA 0.13 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.20 mg · L ⁻¹ |
| 10 | MS+NAA 0.15 mg · L ⁻¹ + TDZ 0.20 mg · L ⁻¹ |

表 4 优化不同组合对叶片愈伤组织分化的影响

Table 4 Effects of optimization different levels of hormones on leaf callus differentiation

| 编号 No. | 叶片数量 Leaf number | 不定芽分化数 Adventitious number | 不定芽分化率 Differentiation rate/ % |
|-----------|---------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 24 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 2 | 24 | 1.00±0.57 | 7.21±4.10 |
| 3 | 24 | 1.00±0.57 | 7.21±4.10 |
| 4 | 24 | 1.00±0.57 | 7.21±4.10 |
| 5 | 24 | 2.00±1.15 | 14.43±8.20 |
| 6 | 24 | 1.00±0.57 | 7.21±4.10 |
| 7 | 24 | 3.00±1.73 | 21.65±12.30 |
| 8 | 24 | 2.00±1.15 | 14.43±8.20 |
| 9 | 24 | 1.00±0.57 | 7.21±4.10 |
| 10 | 24 | 1.00±0.57 | 7.21±4.10 |

2.4 不同浓度的生长调节剂对不定芽生根的影响

由表 5 可知,在 14 号培养基(PVP 0.2 g · L⁻¹ + NAA

表 5 不同组合对叶片愈伤组织生根的影响

Table 5 Effect of different levels of hormones on rooting

| 编号 No. | NAA 浓度 NAA concentration /(mg · L ⁻¹) | PVP-40 浓度 PVP-40 concentration /(g · L ⁻¹) | 生根率 Rooting rate /% |
|-----------|---|--|---------------------------|
| 1 | 0.1 | 0.1 | 16.60±7.21 |
| 2 | 0.1 | 0.2 | 25.00±0.00 |
| 3 | 0.1 | 0.3 | 25.00±0.00 |
| 4 | 0.2 | 0.1 | 33.30±7.21 |
| 5 | 0.2 | 0.2 | 33.30±7.21 |
| 6 | 0.2 | 0.3 | 33.30±7.21 |
| 7 | 0.3 | 0.1 | 33.30±7.21 |
| 8 | 0.3 | 0.2 | 25.00±0.00 |
| 9 | 0.3 | 0.3 | 33.30±7.21 |
| 10 | 0.4 | 0.1 | 25.00±0.00 |
| 11 | 0.4 | 0.2 | 33.30±7.21 |
| 12 | 0.4 | 0.3 | 33.30±7.21 |
| 13 | 0.5 | 0.1 | 33.30±7.21 |
| 14 | 0.5 | 0.2 | 66.70±7.21 |
| 15 | 0.5 | 0.3 | 50.00±0.00 |
| 16 | 0.6 | 0.1 | 41.70±7.21 |
| 17 | 0.6 | 0.2 | 33.30±7.21 |
| 18 | 0.6 | 0.3 | 41.70±7.21 |

0.5 mg · L⁻¹)培养条件下,生根率最高为 66.70%。当激素浓度为 NAA 0.1 mg · L⁻¹ 和 PVP 0.1 g · L⁻¹ 时,生根率最低为 16.60%。没有生根的不定芽,从顶部到底部开始逐渐褐化,直至死亡。因为不定芽生根过程中往往伴随着大量多酚的产生,影响组织培养效果。故该试验在培养基中添加 PVP 0.2 g · L⁻¹,能够解决由于多酚氧化产生的褐变问题。

2.5 叶片对草丁膦的耐受性

由表 6 可知,随着草丁膦浓度不断升高,蛋白桑叶片的致死率也随之升高。草丁膦浓度为 0.05 mg · mL⁻¹ 时,蛋白桑叶片的致死率为 75.00%,草丁膦浓度为 0.06 mg · mL⁻¹,致死率为 87.50%。而当草丁膦浓度升高到 0.07 mg · mL⁻¹ 时,致死率达到 100.00%。可以确定 0.07 mg · mL⁻¹ 的草丁膦浓度是蛋白桑叶片的致死临界浓度。叶片的颜色由一开始的边缘逐渐变深,再到中间也呈现发黄到变黑的现象,直至死亡,且各处理组间存在显著差异(表 6)。所以在进行蛋白桑遗传转化时,以蛋白桑叶片为外植体,应选择过半致死浓度 0.05 mg · L⁻¹ 的草丁膦浓度较为合适。

表 6 不同组合的草丁膦浓度对蛋白桑叶片致死率

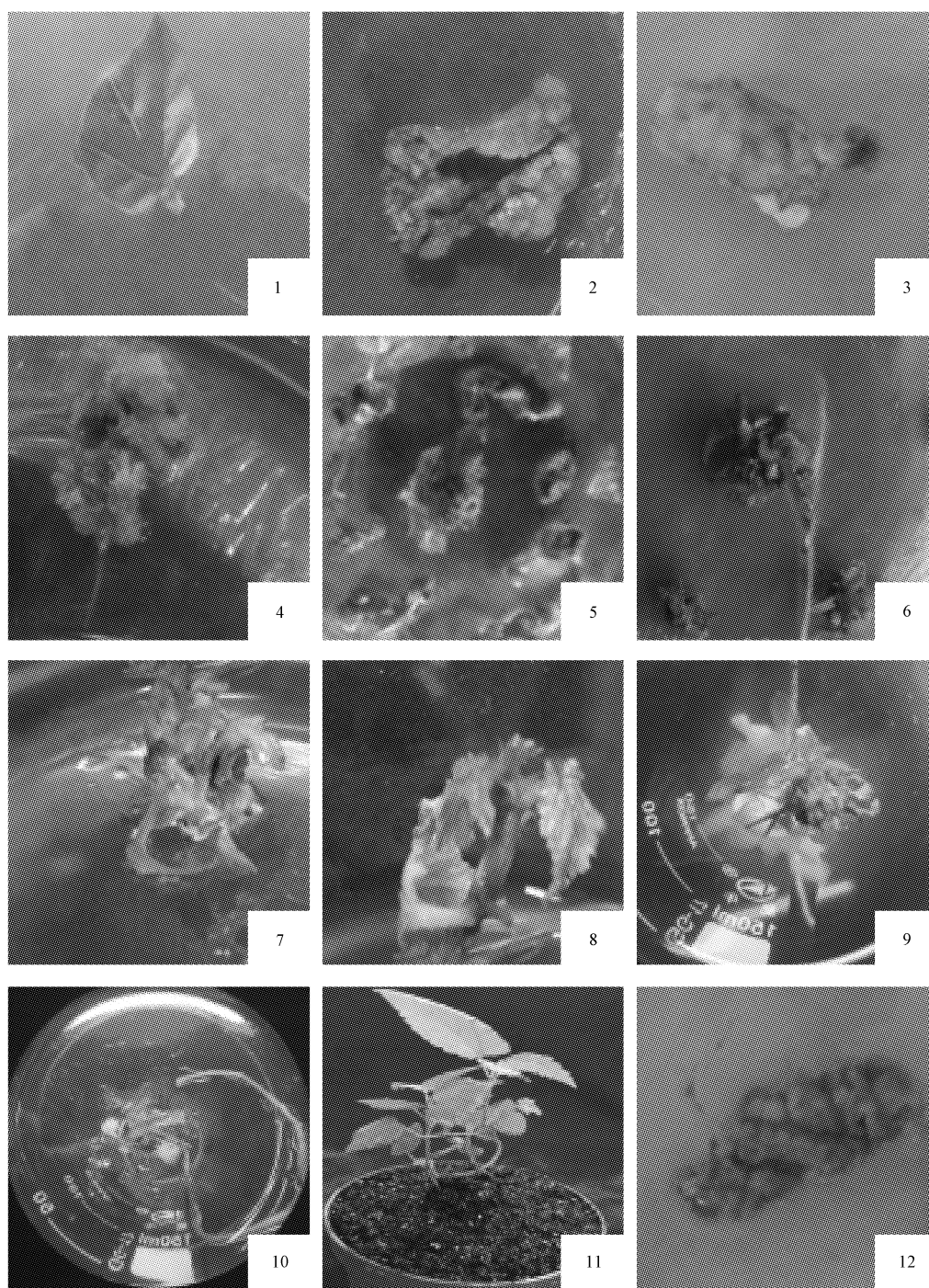
Table 6 Effect of different levels of PPT concentration on leaf lethality

| 编号 No. | 草丁膦 PPT/(mg · L ⁻¹) | 接种叶片数量 Leaf number | 叶片死亡数量 Death number | 致死率 Lethality/ % |
|-----------|------------------------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|
| 1 | 0.01 | 24 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 2 | 0.02 | 24 | 2.00±0.47 | 8.30±5.90 |
| 3 | 0.03 | 24 | 9.00±0.81 | 37.50±10.20 |
| 4 | 0.04 | 24 | 10.00±1.24 | 41.60±15.60 |
| 5 | 0.05 | 24 | 18.00±0.00 | 75.00±0.00 |
| 6 | 0.06 | 24 | 21.00±0.81 | 87.50±10.20 |
| 7 | 0.07 | 24 | 24.00±0.00 | 100.00±0.00 |
| 8 | 0.08 | 24 | 24.00±0.00 | 100.00±0.00 |
| 9 | 0.09 | 24 | 24.00±0.00 | 100.00±0.00 |

3 结论与讨论

桑树来源于中国,且具有较高的经济价值。蛋白桑属于较新的品系,目前还鲜见报道有关其再生体系的建立,主要原因是愈伤组织分化难及生根难。外植体类型能够影响到愈伤组织诱导与植株再生。目前,已有研究对花药、胚珠及珠心等组织器官进行组织培养获得无病毒植株^[6-9],但是利用桑树叶片分化为完整植株的技术体系鲜见报道。因此,研究叶片的愈伤组织再生体系具有重要意义,故该试验选取叶片为外植体。

在桑树叶片的再生体系的建立中,叶片的接种方式和部位对愈伤组织的诱导差异明显,即愈伤组织主要形成于近轴面和形态学下端。也有报道认为愈伤组织多发生于叶片近轴面可能与植物组织中某些化学物质出现梯度有关^[10-11]。



注:1. 幼嫩叶片;2. 愈伤组织;3. 白化;4. 愈伤组织增殖;5~7. 愈伤组织分化;8. 生根时褐化;9~10. 诱导生根;11. 移栽成活的蛋白桑苗;12. 死亡的蛋白桑叶片。

Note:1. Young leaf;2. Callus induction of leaf;3. Albinism in callus induction of leaf;4. Callus proliferation;5~7. Callus differentiation;8. Brown stain in rooting;9~10. Rooting;11. Transplant survival protein mulberry;12. Protein mulberry leaves died in anti-PPT.

图1 蛋白桑叶片植株再生和抗除草剂浓度筛选

Fig. 1 Plate induction of callus and plant regeneration from protein mulberry

使用外源激素的种类和浓度不同,可以产生不同的结果。在 NAA 和 TDZ 低浓度的时候,可以促进蛋白桑叶片产生愈伤组织,高浓度则会抑制愈伤组织形成。在

前期要保证每隔 10 d 左右进行继代,缩短继代周期,可以减少叶片的褐化现象。叶片在培养皿中一段时间后容易收缩在一起。根据经验,可以通过经过消毒处理的

镊子将叶片伸展开,这样可以促进愈伤组织的分化。

蛋白桑在组织培养过程中生根率较低是制约蛋白桑再生体系建立的一个重要因素。朱向涛等^[12]的研究表明,在生根诱导阶段进入暗培养条件下,可以促进生根率。该试验重新选取 14 种组合的激素浓度配比,同时进行暗处理和光照条件下培养。经过 30 d 后进行比较,暗处里和光照条件下的最大生根率没有变化。

该试验使用不同浓度的激素比例进行对照培养,结果表明,最佳的愈伤组织诱导培养基组合为 MS+TDZ $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,最佳分化培养基为 MS+TDZ $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,分化率为 21.65%。蛋白桑愈伤组织不定芽在 $1/2\text{MS}+\text{NAA}$ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +PVP $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 能够诱导生根。茎段叶芽的继代培养的浓度为 MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。对受体植物进行抗生素敏感性测定是遗传转化的必要先行步骤。在该试验中得出 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的草丁膦作为蛋白桑叶片的抗除草剂最佳筛选浓度,而 $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的草丁膦浓度是蛋白桑叶片的最低致死浓度。蛋白桑的叶片对草丁膦的敏感程度可以为后续转基因的研究提供参考。

参考文献

- [1] 赵梅梅,张照新,庄英,等.传统蚕桑产业转型的新途径:饲料桑[J].中国蚕业,2014,35(4):79-81.
- [2] 刘信宝,吴森,耿奇,等.饲料桑叶蛋白提取工艺的优化[J].畜牧与兽医,2014,46(6):56-59.
- [3] 蒯元璋.桑树病毒与病毒病的研究进展(I)[J].蚕业科学,2010,36(5):818-825.
- [4] 郭艳,杨海玲.植物组织培养中的褐化现象及解决途径[J].山西农业科学,2009,37(7):4-16.
- [5] 张和禹,李东生,赵正龙.利用正交法研究桑树叶片组织培养的影响因素[J].安徽农业大学学报,2000,27(1):82-85.
- [6] 高峰,陈杰忠,陈善春,等.柑橘未受精胚珠离体培养获得无病毒珠心苗[J].植物学报,1990,32(7):505-509.
- [7] 王琳,方荣俊,黄满芬,等.利用组织培养技术繁育桑树无病毒苗的试验[J].蚕业科学,2013,39(4):643-649.
- [8] NIIMI Y, HAN D S, FUJISAKI M. Production of virus-free plantlets by anther culture of *Lilium* \times 'Enchantment'[J]. Sci Hortic, 2001, 90(3/4): 325-334.
- [9] 杨倩,李连国.沙棘体细胞胚途径组织培养再生体系的研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2007.
- [10] 袁雪,钟雄辉,李晓昕,等.铁炮百合的胚性愈伤组织诱导和植株再生[J].核农学报,2012,26(3):454-460.
- [11] ROLLAND F, BAENA-GONZALEZ E, SHEEN J. Sugar sensing and signaling in plants: Conserved and novel mechanisms[J]. Annu Rev Plant Biol, 2006, 57: 675-709.
- [12] 朱向涛,王雁,吴倩,等.江南牡丹茎段愈伤组织诱导与植株再生[J].核农学报,2015,29(1):56-62.

Establishment of Protein Mulberry Leaves' Regeneration System and Sensitivity Test of Phosphinothricin

XIONG Yi, WANG Honghong, ZHANG Fangsong, MU Jianqiang, ZHU Jianbo
(College of Life Science, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003)

Abstract: Taking young protein mulberry leaves as explants, MS as the basic medium, the effect of plant growth regulator with different concentrations on the protein mulberry regeneration was studied. The results showed that the best medium of leaf induce callus was MS+TDZ $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; the best differentiation medium was MS+TDZ $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and the bud differentiations rate was 21.65%; medium of $1/2 \text{ MS}+\text{PVP}$ $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ got the highest rooting rate about 66.70%. And the results of phosphinothricin sensitivity test experiment showed that protein mulberry leaves' lethality was 50.00%, 75.00%, 100.00% when concentration of phosphinothricin was $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

Keywords: protein mulberry; leaves; regeneration system; phosphinothricin