

悬铃木叶片植株再生系统的建立

范国强 蒋建平 贺密青 李 锋

(河南农业大学泡桐研究所, 郑州 450002)

摘 要: 以悬铃木实生苗叶片及其诱导的愈伤组织为材料建立植株再生系统。结果表明, WPM 可作为悬铃木叶片体外再生系统的基本培养基。从基部向上数第 5、6、7 片叶诱导芽最适培养基为 WPM + IBA 0.1 (单位 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 下同) + BA 3.0~2.0; 对第 5 片叶在 WPM + IBA 0.6 + BA 8.0 上诱导出的愈伤组织, 再进行芽诱导的最适培养基为 WPM + IBA 0.1 + BA 4.8; 幼苗根诱导的最适培养基为 $1/2 \text{ MS} + \text{IBA } 0.1 \sim 0.5$ 。

关键词: 悬铃木; 叶片; 植株; 再生

中图分类号: S 68 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 02-0236-03

1 目的、材料与方法

悬铃木 (*Platanus orientalis* L.) 为世界著名的行道树之一^[1~3]。作者探索了悬铃木的高效体外器官再生系统, 为开展其基因工程研究和在较短时间内大量繁殖奠定基础。

将生长于郑州地区的成熟但未脱落的悬铃木球果用自来水浸泡 2 d 后 (每 10 h 换水 1 次), 去掉种 (果) 毛, 将种子放入腐熟、湿度适宜的木屑中在室外发芽。待子叶完全展开后用 0.1% 的氯化汞溶液消毒 5 min, 无菌重蒸馏水清洗 3 次, 用吸水纸吸干表面水, 接种于不加植物激素的 MS 基本培养基中培养成无菌苗。当无菌苗第 7 片真叶完全展开时, 取不同位次 (从苗基部往上数) 的叶片 ($0.5 \text{ cm} \times 0.3 \text{ cm}$) 和第 5 片叶在 WPM + IBA 0.6 (单位 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 下同) + BA 8.0 培养基上诱导的愈伤组织, 在不同的培养基上进行培养。光照强度 $130 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 光照时间 $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$, 温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。培养基分别为 WPM、MS 并附加 IBA 0.1~0.6、BA 0.5~10、ZT 0.5、蔗糖 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、琼脂 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。50 d 时观察叶片和愈伤组织诱导芽的情况。当诱导出的芽长到约 2 cm 时, 从其茎的基部剪断并转移到 $1/2 \text{ MS}$ 附加 IBA 0~2.0、蔗糖 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和琼脂 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 生根培养基上 (培养条件同上) 进行根的诱导。第 30 天时观察生根情况。

2 结果与分析

2.1 悬铃木叶片和愈伤组织芽的诱导

2.1.1 叶片在不同培养基上芽诱导的情况 悬铃木幼苗第 5 片叶在 MS 培养基上只有附加 IBA 0.1、ZT 0.5、BA 2.0~3.0 时, 才可以诱导出芽, 但诱导出芽数和诱导率较低; 而在其它激素组合中都不能诱导出幼芽。在 WPM 基本培养基上诱导出芽数和诱导率较高 (表 1)。在 WPM 基本培养基中只附加 IBA 和 BA 两种激素, 当 IBA 浓度为 0.1, BA 浓度从 1.0 上升到 3.0 时, 叶片芽的诱导数达到 234~925 个, 诱导率 66%~100%。当 IBA 浓度为 0.2, BA 浓度逐渐上升时, 叶片芽的诱导数和诱导率则有下降的趋势。加入 ZT 0.5 的情况下均达不到上述效果。叶片诱导芽的情况如图版 1~4 所示 (见插图 3)。

在叶片没有诱导出芽的不同激素组合的 WPM 培养上, 都有一定的愈伤组织形成, 并且愈伤组织的质地和结构也有一定的差异。在 MS 培养基上, 所有附加一定种类激素浓度的组合中, 叶片都可

收稿日期: 2002-04-30; 修回日期: 2002-08-06

基金项目: 河南省杰出人才创新基金资助项目 (2003017)

形成大量红色或米黄色的愈伤组织。

2.1.2 实生苗叶位对芽诱导的影响 不同部位叶片在附加不同种类激素及其组合的 WPM 培养基上芽诱导数和诱导率也存在一定的差异, 第1片叶在 IBA 为 0.1、BA 为 4.0 时达最高, 其分别为 29 和 10%; 第2片叶在 IBA 为 0.2、BA 为 2.5 时最高, 分别为 28 和 12%; 第3片叶当 IBA 为 0.2、BA 为

4.0 时最高, 分别为 76 和 38%; 第4、6、7片叶以 IBA 为 0.1、BA 为 4.0、3.0、2.0 诱导出芽数最多 (分别为 317、860 和 792 个), 芽诱导率最高 (分别为 70%、100% 和 100%)。当 IBA 浓度为 0.2, BA 浓度为 0.5~4.0 时, 第1片叶和第4片叶的芽诱导率皆为 0。

表1 叶片在 WPM 培养基芽诱导的情况

Table 1 Bud induction from leaves on WPM media

激素 Hormones (mg·L ⁻¹)			外植体数量 No. of explants	诱导芽的数量 No. of induction buds	芽诱导率 Bud ratio of induction (%)
IBA	BA	ZT			
0.1	0.5	0.5	100	0	0
0.1	1.0	0.5	100	15	8
0.1	1.5	0.5	100	42	20
0.1	2.0	0.5	100	153	55
0.1	2.5	0.5	100	122	42
0.1	3.0	0.5	100	87	31
0.2	1.0	0.5	100	0	0
0.2	2.0	0.5	100	0	0
0.2	3.0	0.5	100	1	1
0.2	4.0	0.5	100	19	15
0.2	5.0	0.5	100	102	43
0.2	6.0	0.5	100	132	44
0.3	1.5	0.5	97	11	8
0.3	3.0	0.5	100	18	10
0.3	4.5	0.5	100	70	20
0.3	6.0	0.5	100	83	22
0.3	7.5	0.5	100	112	23
0.3	9.0	0.5	100	133	30
0.4	1.0	0.5	100	0	0
0.4	3.0	0.5	100	2	1
0.4	6.0	0.5	100	27	12
0.4	8.0	0.5	100	4	1
0.4	10.0	0.5	100	0	0
0.6	1.0	0.5	100	0	0
0.6	3.0	0.5	100	0	0
0.6	6.0	0.5	100	0	0
0.6	8.0	0.5	100	0	0
0.6	10.0	0.5	100	0	0
0.1	1.0	0	100	234	66
0.1	2.0	0	100	530	85
0.1	3.0	0	100	925	100
0.2	2.0	0	100	526	75
0.2	4.0	0	100	478	70
0.2	6.0	0	100	278	62

表2 愈伤组织在 WPM 培养基上芽的诱导

Table 2 Bud induction of the leaf calli on WPM media

激素 Hormone (mg·L ⁻¹)		诱导芽的 数量 No. of induction buds	芽诱导率 Induction ratio (%)	激素 Hormone (mg·L ⁻¹)		诱导芽的 数量 No. of induction buds	芽诱导率 Induction ratio (%)
IBA	BA			IBA	BA		
0.1	2.0	0	0	0.2	3.6	0	0
0.1	2.2	0	0	0.2	3.8	0	0
0.1	2.4	0	0	0.2	4.0	0	0
0.1	2.6	1	1	0.2	4.2	7	3
0.1	2.8	2	1	0.2	4.4	28	15
0.1	3.0	9	7	0.2	4.6	32	17
0.1	3.2	12	8	0.2	4.8	47	20
0.1	3.4	21	12	0.2	5.0	63	31
0.1	3.6	26	12	0.3	2.0	0	0
0.1	3.8	38	15	0.3	2.2	0	0
0.1	4.0	83	22	0.3	2.4	0	0
0.1	4.2	126	32	0.3	2.6	0	0
0.1	4.4	211	52	0.3	2.8	0	0
0.1	4.6	263	65	0.3	3.0	0	0
0.1	4.8	425	92	0.3	3.2	0	0
0.1	5.0	328	89	0.3	3.4	0	0
0.2	2.0	0	0	0.3	3.6	0	0
0.2	2.2	0	0	0.3	3.8	0	0
0.2	2.4	0	0	0.3	4.0	0	0
0.2	2.6	0	0	0.3	4.2	0	0
0.2	2.8	0	0	0.3	4.4	0	0
0.2	3.0	0	0	0.3	4.6	0	0
0.2	3.2	0	0	0.3	4.8	4	2
0.2	3.4	0	0	0.3	5.0	9	5

注: 接种愈伤组织块数均为 100。

Note: Number of the callus incubating is 100 respectively.

2.1.3 愈伤组织在 WPM 培养基上芽的诱导 将悬铃木幼苗第5片叶在 WPM + IBA 0.6 + BA 8.0 培养基上诱导出的米黄色愈伤组织转移到新的培养基上 (表2) 培养 50 d 后发现, 当 IBA 浓度为 0.1 时, 随着 BA 浓度的增加, 愈伤组织诱导出芽数增多, 在 BA 浓度为 4.8 时, 芽的数量和诱导率最高。当 IBA 浓度分别为 0.2 和 0.3 时, 随着 BA 浓度的增加, 虽然从愈伤组织上诱导芽的数量和诱导率处于增加趋势, 但是总体上均增加较小。此外, 在诱导出芽的培养基上, 当 BA 浓度一定时, 随着 IBA 浓度的增高, 愈伤组织芽诱导率则逐渐下降。

此外,我们还发现,将愈伤组织在低温(4~7℃)下处理3~4 d,可以提高愈伤组织芽的诱导数量和诱导率,特别是在WPM+IBA 0.1+BA 4.8培养基上,愈伤组织芽诱导率提高更多。愈伤组织诱导芽的情况如图版5,6所示(见插页3)。

2.2 悬铃木幼苗根的诱导

悬铃木幼苗在IBA 0~2.0的1/2 MS培养基上都可100%诱导出不定根,其中IBA 0.1和IBA 0.5时诱导出的根系比较完整(见插页3图版7,8)。因此,可选择附加IBA浓度为0.1~0.5的1/2 MS培养基为悬铃木幼苗诱导根的最适培养基。

参考文献:

- 1 章利民. 悬铃木修剪控果技术. 江苏林业科技, 2000, 27 (3): 37
- 2 宋 珍, 张 剑, 李艳慧, 等. 越冬埋藏对提高悬铃木硬枝扦插成活率的影响. 河南林果研究, 1998, 13 (3): 207~215
- 3 周业恒, 江守和, 鲁润龙, 等. 悬铃木无球果育种的研究. 园艺学报, 1993, 20: 295~298

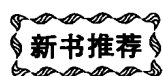
In Vitro Efficient Plant Regeneration with *Platanus orientalis* L. Leaves as Explants

Fan Guoqiang, Jiang Jianping, He Yaoqing, and Li Feng

(Institute of Paulownia, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: This paper dealt with in vitro efficient plant regeneration on WPM media with 0.6 (mg·L⁻¹, the same below) IBA and 8.0 BA, using *Platanus orientalis* L. leaves and their calli as explants. The results indicated that WPM might be the basic medium for the plant regeneration, and that bud induction media of the 5th, 6th, 7th leaves (from the bases of seedlings) WPM + 0.1 IBA + 3.0~2.0 BA, and the 5th leaf calli induced on WPM + 0.6 IBA + 8.0 BA medium was WPM + 0.1 IBA + 4.8 BA. Root induction medium was 1/2 MS + 0.1~0.5 IBA. These results might provide reference to cell and gene engineering manipulations and quick propagations of *Platanus orientalis*.

Key words: *Platanus orientalis* L.; Leaf; Plant; Regeneration

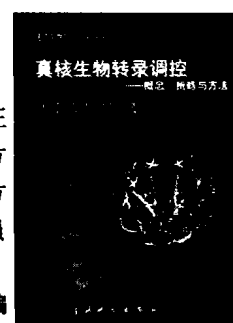


新书推荐

《真核生物转录调控——概念、策略与方法》

本书全面介绍了真核基因转录调控的概念以及研究中所使用的策略和方法,涉及内容从证明一个基因是否在转录起始水平受到调控到分析激活因子进行联合调控生化机制策略等各个方面,重点放在进行转录调控分析时所面临的问题,及分析单一基因和调节该基因的转录因子方面的策略和概念要点,可供医学、生物化学、分析生物学、生物技术等领域的师生及科研人员参考。定价:86元(含邮费)

购书者请汇款至北京中关村南大街12号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部,邮编100081。



更 正

《园艺学报》2003年第1期彩色插页3倒数第3~1行中的“不定芽”、“不定根”、“Shoot”和“Root”应为“不定胚芽”、“不定胚根”、“Adventitious shoot”和“Adventitious root”,特此更正。