

斑茅幼叶的组织培养*

李富生 杨清辉 萧凤迴 何丽莲

(云南农业大学甘蔗研究所, 昆明 650201)

Tissue culture on the young leaf of *Saccharum arundinaceum* Retz. Li Fu-Sheng, Yang Qing-Hui, Xiao Feng-Hui, He Li-Lian (Sugarcane Research Institute of Yunnan Agricultural University, Kunming 650201). *J. Plant Resour. & Environ.*, 1998, 7(1): 63~64

This paper deals with the conditions of inducing callus and its differentiating from young leaf of *Saccharum arundinaceum* Retz. The result shows that using MS medium added 2,4-D 1~3 mg/L is suitable. Various clone has obvious difference in callus induction and seedling differentiation. It indicates that there are plentiful physiological and genetic variations within the species.

关键词 斑茅幼叶; 愈伤组织; 无性系; 组织培养

Key words *Saccharum arundinaceum* Retz.; callus; clone; tissue culture

斑茅(*Saccharum arundinaceum* Retz.)是甘蔗属(*Saccharum* Linn.)内的一个野生种^[1], 其分布区域广, 具有抗旱、耐瘠、抗寒、植株高大、分蘖能力强等优良特性^[2]。在甘蔗育种中有着不可忽视的应用潜力。随着生物技术的迅速发展, 组织培养和体细胞杂交等为甘蔗育种开辟了广阔的前景^[3], 为此, 开展了斑茅幼叶的组织培养研究。

1 材料与方法

1.1 培养材料

从云南农业大学甘蔗资源圃内种植的153份斑茅无性系中随机选取4个无性系作为试验材料, 分别是: 101号、129号、134号、178号。

1.2 培养方法

1.2.1 培养基 诱导培养基: MS附加不同浓度的2,4-D; 分化培养基: MS附加不同浓度的IBA和KT; 催根培养基: MS附加IAA2 mg/L和活性炭0.5%的液体培养基。

1.2.2 培养过程 取茎梢带叶鞘的部位, 用75%酒精表面消毒, 剥去外层老叶鞘, 留下3~4层的嫩叶鞘。将生长点以上0~4 cm的嫩叶鞘切成约5 mm长的小块, 接种到诱导培养基上。每个材料在每种处理上接种40~50块外植体, 于27~28℃的暗室内培养20 d后统计各处理的愈伤组织诱导率。1995~1996年进行3次重复试验(I, II, III), 并对诱导率进行方差分析和新复极差测验。将4个斑茅无性系产生的愈伤组织转移到分化培养基上, 每种转接20~30块, 在温度27~28℃, 光强1 500~2 000 lx, 每日光照12 h的条件下培养, 待分化成苗后, 将未长根的分化苗移入催根培养基, 同等条件下培养至生根。

2 结果与讨论

2.1 斑茅幼叶愈伤组织的诱导及影响因素

表1结果表明, 2,4-D是诱导斑茅幼叶产生愈伤组织的有效激素, 在没有2,4-D的培养基上不能诱导出

* 云南省科学技术委员会应用基础研究基金资助项目

李富生: 男, 1968年8月生。讲师, 甘蔗研究所副所长, 从事甘蔗资源的研究和利用。

收稿日期 1997-09-18

愈伤组织。这与在甘蔗组培中的结果是一致的^[4],但两者对2,4-D的反应有差别,本试验诱导斑茅幼叶愈伤组织以2,4-D 1~3 mg/L为适宜。斑茅幼叶愈伤组织诱导率较高(见表1),还可能与其酚污染程度较轻有关。在甘蔗组培全过程中都存在酚污染现象,受基因型、外植体来源、外源激素和温度等多种因素的影响^[5]。本试验的条件与甘蔗组培基本相同,却很少甚至没有酚污染,其原因有待进一步研究。

表1 不同2,4-D浓度下斑茅幼叶愈伤组织诱导率(%)

Tab 1 Induction percentage of *Saccharum arundinaceum* callus in different concentration of 2,4-D

| 材料号 No. of material | 愈伤组织诱导率(%) Induction percentage of callus | | | | | | | | | | | |
|------------------------|---|----|-----|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 ¹⁾ | | | 1 | | | 3 | | | 6 | | |
| | I ²⁾ | II | III | I | II | III | I | II | III | I | II | III |
| 101 | 0 | 0 | 0 | 34.17 | 67.65 | 49.06 | 91.74 | 79.47 | 82.33 | 73.32 | 53.29 | 33.33 |
| 129 | 0 | 0 | 0 | 41.43 | 43.13 | 50.23 | 35.82 | 51.14 | 69.36 | 41.06 | 30.12 | 21.37 |
| 134 | 0 | 0 | 0 | 80.32 | 70.18 | 78.18 | 90.00 | 92.12 | 85.65 | 71.43 | 67.65 | 75.00 |
| 178 | 0 | 0 | 0 | 81.34 | 53.16 | 67.65 | 100.00 | 83.32 | 78.18 | 57.63 | 80.00 | 72.12 |
| 均值 Mean | — | 0 | — | 59.71 | — | — | 78.26 | — | — | 56.36 | — | — |
| 新复极差测验 SSR | dD | | | bB | | | aA | | | cBC | | |

¹⁾ 0, 1, 3, 6 为培养基中2,4-D浓度(mg/L) Numbers 0, 1, 3, 6 represent concentration of 2,4-D in medium.²⁾ I, II, III 表示1995~1996年3次实验 I, II and III represent three experiments from 1995 to 1996.

2.2 斑茅幼叶愈伤组织的分化及其影响因素

斑茅幼叶愈伤组织经过20 d左右培养分化成苗,但愈伤组织的分化率较低(表2),这可能与其类型有关。愈伤组织分为3类,(a)致密型,亦称胚性愈伤组织;(b)松软型,只能偶尔分化出根;(c)粘糊型,不具有胚性能力^[4]。斑茅幼叶产生的愈伤组织大多属于(b)和(c)两种类型,因而分化能力较弱。另外,培养基中所加的激素类型和浓度对其分化也有较大的影响,0.5 mg/L IBA和1 mg/L KT的配比能明显提高分化率(表2)。

2.3 斑茅愈伤组织分化苗的生根

分化苗移入生根培养基,两周后即可长出较多粗壮的白根,形成完整的斑茅组培植株。

2.4 斑茅不同无性系对愈伤组织诱导及分化的影响

斑茅的不同无性系在诱导愈伤组织和分化成苗方面都表现出明显的差异(表1,表2),这反映了斑茅不同无性系在生理和遗传上的显著差异,表明斑茅野生种具有丰富的种内变异,是甘蔗育种丰富的基因库。

表2 斑茅不同无性系愈伤组织分化率(%)

Tab 2 Differentiation percentage of various clones of *Saccharum arundinaceum*

| 材料号 No. of material | 愈伤组织分化率(%) | | | |
|------------------------|-------------------|-------|-------|-------|
| | 0+0 ¹⁾ | 0.5+0 | 0+1 | 0.5+1 |
| 101 | 13.33 | 10.00 | 13.33 | 40.00 |
| 129 | 0 | 0 | 20.00 | 33.33 |
| 134 | 5.00 | 15.00 | 25.00 | 59.09 |
| 178 | 0 | 0 | 5.00 | 25.00 |

¹⁾ 培养基中的IBA+KT浓度(mg/L) concentration of IBA + KT in medium.

参 考 文 献

- 彭绍光. 甘蔗育种学. 北京:农业出版社, 1990. 48~49, 116~118.
- 何顺长, 杨清辉, 萧凤泗等. 全国甘蔗野生种质资源的采集和考察. 甘蔗, 1994, 1(1): 11~16.
- 李华富. 生物技术在甘蔗育种上的研究与应用. 四川甘蔗, 1987, (1): 18~20.
- 李军生, 李春瑞. 甘蔗的植物组织培养. 广西植物, 1990, 10(1): 75~79.
- 秦延豪, 邹宗兰, 吴才文. 浅析甘蔗组培中的酚害. 甘蔗, 1997, 4(2): 12~14.

(责任编辑:惠 红)