

粉锈宁在菜心离体快速繁殖中的应用

何晓明* 潘瑞炽 董琼 江青云

(华南师范大学生物系, 广州 510631)

摘要 应用植物生长延缓剂粉锈宁于菜心离体快速繁殖, 试验结果表明, 低浓度(1-5 $\mu\text{mol/L}$)的粉锈宁可以明显提高菜心茎尖继代培养时芽的繁殖系数。同时发现低浓度粉锈宁可降低试管苗的玻璃化程度, 促进叶片数增加, 改善试管苗生长状况, 有利于壮苗培育。适当提高粉锈宁浓度还具有促进试管苗生根的作用。粉锈宁可作为一种优良的植物生长调节剂用于菜心离体快速繁殖。

关键词 菜心; 繁殖; 粉锈宁; 离体培养

中图分类号 Q944.6

RAPID MULTIPLICATION OF *BRASSICA CAMPESTRIS* SSP. *CHINENSIS* VAR. *UTILIS* BY *IN VITRO* CULTURE WITH TRIADIMEFON

He Xiaoming Pan Ruichi Dong Qiong Jiang Qingyun

(Dept. of Biology, South China Normal University, Guangzhou 510631)

Abstract The plant growth retardant triadimefon was used in culture by shoot apex of *Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *utilis*. Triadimefon at low concentration (1-5 $\mu\text{mol/L}$) increased the propagation coefficient of shoot and leaf number, decreased shoot vitrification, and improved the growth of seedlings. It was also found that the rooting ratio was increased with increasing concentration of triadimefon in the medium. It is suggested that triadimefon may be used as a good plant growth regulator in rapid multiplication of *Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *utilis*.

Key words *Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *utilis*; Proliferation; Triadimefon; *In vitro* culture

粉锈宁亦称三唑酮, 是一种低毒杀菌剂兼生长延缓剂, 以往多用于小麦白粉病等病害的防治, 近年来发现具有提高抗逆性, 增强光合作用和呼吸作用的功效, 有利于作物增产^[1]。潘瑞炽等研究指出粉锈宁还具有刺激绿豆下胚轴基部生根的作用^[2]。但粉锈宁在离体培养中的作用还鲜见报道。有关植物离体培养的研究指出, 与粉锈宁同为三唑类植物生长延缓剂的多效唑具有促进不定芽分化, 抑制叶片玻璃化的作用, 可提高离体快速繁殖的效率^[3]。粉锈宁是否具有上述作用, 目前尚未见报道。

广东省科委重点攻关项目

* 现工作单位: 广东省农业科学院蔬菜研究所

1997-07-30 收稿; 1998-02-16 修回

菜心 (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee) 为芸苔属芸苔种白菜亚种的菜苔变种^[4], 是华南地区的重要蔬菜作用, 具有较高的经济价值。对其进行快速繁殖的研究, 可以解决菜心雄性不育系及其它珍贵育种材料的保存和繁殖问题, 对推动菜心育种工作具有重要作用。本研究将粉锈宁用于菜心茎尖快速繁殖, 旨在探讨粉锈宁对于菜心离体培养中不定芽分化及再生苗生长的影响, 为提高菜心的离体繁殖效率提供依据。

1 材料与方 法

无菌苗的获得 实验选用的菜心品种为“60天特青”。选取饱满的种子用75%乙醇浸泡30 s, 再以0.1% HgCl₂ 灭菌10 min, 最后用无菌水冲洗4次, 播种于无激素的1/2MS培养基上, 置于培养室进行萌发, 培养室温度25±2℃, 光照强度2000 lx, 每日光照为14 h。

接种与继代培养 取苗龄6-8 d的无菌苗茎尖(约0.5 cm长)为外植体, 插植于培养基中。培养基成分为MS+BA 1 mg L⁻¹(单位下同)+KT 1+NAA 0.2, 其中粉锈宁浓度分别为0、0.5、1、5、10 μmol/L。每个处理接种3-5瓶, 每瓶8-10个外植体。培养条件同上。培养20 d后统计观察生长情况并统计生长速度、繁殖系数(形成不定芽数/接种茎尖数), 同时进行继代培养。继代时切取不定芽的茎尖为外植体, 分别接种于相应的培养基上进行培养, 20 d后观察统计并继续进行继代。

生根与移栽 待分化的不定芽长到1-1.5 cm时, 切下插于1/2MS培养基上诱导生根, 待不定根形成后将小植株从培养瓶中取出, 洗净根部培养基, 移栽入沙与珍珠岩混合的培养基质中, 同时进行保湿, 1周后即可成活。

2 结果与分析

2.1 粉锈宁对外植体叶及芽形态的影响

茎尖外植体植入培养基, 约4 d后其顶芽开始生长, 同时基部有所膨大, 逐渐形成少量绿白色愈伤组织, 14 d后部分愈伤组织上分化出不定芽, 有些愈伤组织上还分化出不定根。在各种培养基上形成的芽在形态上有所差异, 在对照MS+BA 1+KT 1+NAA 0.2培养基上, 芽细而高, 叶呈倒卵形, 叶色浅, 叶片薄, 叶柄细长; 随着培养基中粉锈宁浓度的增加, 芽逐渐矮化, 叶形变小, 叶色加深, 生长健壮。但粉锈宁浓度超过5 μmol/L时叶片明显皱缩, 多形成畸型叶、丛生叶, 对以后的继代培养有一定的不利影响。培养基中添加粉锈宁可使丛芽率有所提高, 其中粉锈宁为1 μmol/L时可达67%; 而外植体的生根率随粉锈宁浓度的提高呈上升趋势(表1)。

在菜心茎尖离体培养中常出现不定芽玻璃化的现象, 这种玻璃化芽形态肿胀, 色泽变浅并趋于透明, 在继代培养时通常难以成活。我们在实验中发现, 培养基中加入粉锈宁可抑制芽玻璃化。从表1可以看出, 在对照培养基上培养20 d后, 形成的不定芽有25%出现玻璃化现象, 而加入粉锈宁后玻璃化芽的比例明显降低, 特别是粉锈宁浓度为1 μmol/L时, 分化形成的玻璃化芽大为减少, 仅为4.17%。而粉锈宁浓度超过5 μmol/L时玻璃化芽的比例又呈上升趋势。

2.2 粉锈宁对试管苗叶数的影响

粉锈宁作为一种生长延缓剂, 对试管苗的高度有所矮化, 但试管苗的叶数并不一定因此而减少。在实验中观察到, 在培养初期(培养5 d时), 各处理与对照的叶片数基本无差异, 随着培养时间的增加, 低浓度的粉锈宁能促进菜心试管苗叶数的增加, 培养20 d时, 对照培养基上试管苗的叶数平均为5.77, 而含粉锈宁1 $\mu\text{mol/L}$ 的培养基上试管苗叶数为6.25片, 比对照增加8.32%。粉锈宁浓度如继续提高, 则抑制叶片的生长, 使试管苗的叶数明显下降, 在粉锈宁浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 培养20 d的试管苗仅有5片叶左右(图1)。

2.3 粉锈宁对茎尖繁殖速度的影响

茎尖繁殖速度是衡量快速繁殖效果的重要指标。我们在考察了培养第一代和第二代的茎尖繁殖系数后发现, 粉锈宁对于菜心茎尖培养第一代不定芽的增殖没有明显影响, 而在培养第二代时, 浓度为1 $\mu\text{mol/L}$ 及5 $\mu\text{mol/L}$ 的粉锈宁则可以明显提高茎尖繁殖效率, 其繁殖系数分别达4.31和4.21(图2), 为对照的1.57和1.53倍, 表明粉锈宁对改善菜心茎尖繁殖效果具有良好的作用。

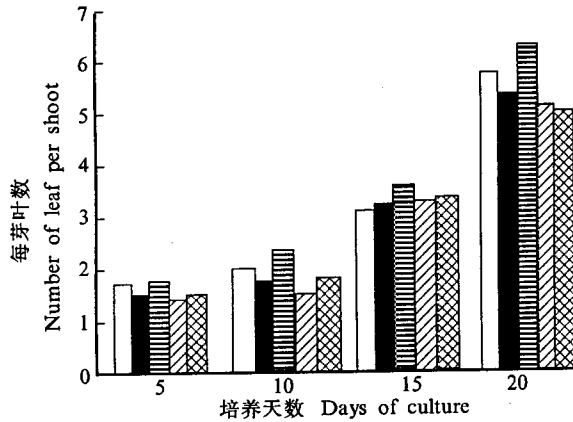


图1 粉锈宁对培养过程中茎尖叶片数的影响

Fig. 1 Effect of triadimefon on leaf number per shoot during culture

粉锈宁浓度 Triadimefon concentration:

- 0 $\mu\text{mol/L}$; ■ 0.5 $\mu\text{mol/L}$; ▨ 1 $\mu\text{mol/L}$;
- ▩ 5 $\mu\text{mol/L}$; ▤ 10 $\mu\text{mol/L}$

表1 粉锈宁对茎尖生长的影响

Table 1 Effect of triadimefon on the development of shoot apex explants of *Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *utilis* after 20 days of culture

粉锈宁浓度 Concentration of triadimefon ($\mu\text{mol/L}$)	玻璃化率(%) % Vitrification of shoots	生根率(%) % Rooting	丛芽率(%) % Clumped bud
0	25	18.75	50
0.5	12.5	12.5	60
1	4.17	18.75	67
5	6.25	20.83	58
10	12.5	37.5	53

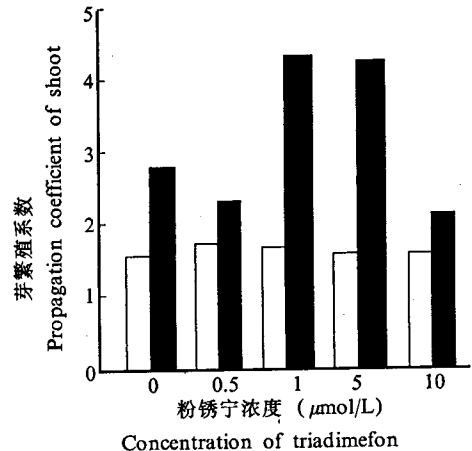


图2 粉锈宁对茎尖繁殖系数的影响

Fig. 2 Effect of triadimefon on propagation coefficient of shoot in vitro

- 初次培养 Initial culture
- 继代培养一次 Subculture once

2.4 生根移栽

将分化形成的不定芽(0.5-1 cm高)切下转入1/2MS培养基, 20 d后90%的芽基部可形成数条1 cm左右的白色不定根。这时可将培养瓶打开, “炼苗”1-2 d, 然后将小植株取

出, 小心洗净根部的培养基, 移入沙与珍珠岩混合的基质中, 并加盖烧杯保湿, 1 周后逐渐取去烧杯。再生植株成活率为 70% 左右。

3 讨论

植物离体培养快速繁殖技术的关键在于建立有效的培养体系以提高其繁殖系数, 而植物离体培养过程中芽的分化与增殖主要受体内细胞分裂素与生长素比例的调控^[5]。近年来有研究指出三唑类植物生长延缓剂多效唑可以通过抑制贝壳杉烯酶活性而阻断 GA 生物合成, 使内源 IAA 含量下降^[3,6]。同时一些试验结果也表明将这类植物生长调节剂应用于植物离体培养, 可以提高芽的繁殖能力^[7], 促进愈伤组织的分化和绿苗的形成^[8], 表现出良好的作用效应。粉锈宁与多效唑同属三唑类植物生长延缓剂, 其作用机制与多效唑大抵相同。我们在菜心的快速繁殖中应用了粉锈宁后发现在低浓度下可以使菜心茎尖繁殖系数明显提高, 可见粉锈宁也能提高芽的繁殖能力; 随着粉锈宁浓度的增加, 茎尖繁殖系数有所下降, 而新梢的生根率则大幅度提高, 因此认为粉锈宁在调控植物内源细胞分裂素与生长素的比例时具有浓度效应。

植物离体培养中再生芽的玻璃化是影响不定芽正常生长、分化与植株再生的重要障碍之一^[9]。通常可用降低培养基中激素水平等方法来降低玻璃化程度^[5], 但激素水平的降低也会导致不定芽分化率下降。在培养基中加入粉锈宁可以在不降低不定芽分化率的同时使玻璃化程度大幅度减少, 从而改善试管苗的生长状况。同时我们还注意到在培养基中加入低浓度粉锈宁对试管苗叶片数目的增加具有一定促进作用, 并且这些试管苗茎节粗矮, 生长健壮, 易于成活。这与试管苗的壮苗培育中多效唑的作用^[8,10]非常相似。

综上所述, 由于粉锈宁有着促进菜心试管苗生根、提高芽繁殖系数、减轻玻璃化程度和改善试管苗生长状况等多重功效, 因此可作为一种优良的植物生长调节剂广泛用于菜心乃至其它植物离体培养的各个领域。

参考文献

- 1 潘瑞炽, 李玲. 植物生长发育的化学调控. 广州: 广东高等教育出版社, 1995, 24
- 2 Pan R C, Zhao Z Z. Synergistic effects of plant growth retardants and IBA on the formation of adventitious roots in hypocotyl cutting of mung bean. *Plant Growth Regul*, 1994, 14:15-19
- 3 李明军. 多效唑——一种优良的植物生长调节剂. *植物学通报*, 1995, 12(2):27-31
- 4 李曙轩, 李树德, 蒋先明等. 中国农业百科全书 蔬菜卷. 北京: 农业出版社, 1990, 33-34
- 5 Pierik R L M. *In vitro* Culture of High Plant. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1987, 56-60
- 6 施天生, 陆定志. S-3307、PP333 对水稻幼苗根系和地上部生长影响的比较. *植物生理学通讯*, 1993, 29(4):272-274
- 7 Ziv M, Ariel T. Bud proliferation and plant regeneration in liquid-culture *Philodendron* treated with ancymidol and paclobutrazol. *J Plant Growth Regul*, 1991, 10:53-57
- 8 赵成章, 戚秀芳, 郑康乐等. 多效唑在水稻试管苗离体调控技术中的应用. *中国水稻科学*, 1990, 4(4):169-174
- 9 卜学贤, 陈维伦. 试管植物的玻璃化. *植物生理学通讯*, 1987, (5):13-18
- 10 赵成章, 郑康乐, 戚秀芳. 多效唑对水稻未成熟胚愈伤组织诱导、分化和壮苗培养的影响. *植物学报*, 1990, 32(5):407-409