

激动素和萘乙酸不同浓度配比对大豆 组织培养器官分化的影响*

陈云昭 王玉国

(山西农业大学)

摘 要

本文报道激动素(KT)和萘乙酸(NAA)不同浓度配比对大豆上胚轴和小真叶外植体愈伤组织器官分化的影响以及对分化成苗与未分化愈伤组织过氧化物酶活性的分析。

B₅基本培养基附加KT 1 + NAA 0.2毫克/升(5:1)对大豆上胚轴和小真叶外植体愈伤组织再生植株较适宜,增加NAA的比例抑制芽的分化,增加KT的比例抑制根的分化,都不利于再生植株。

过氧化物酶活性,分化成苗愈伤组织都较未分化愈伤组织的高。

大豆组织培养的研究,国内外已有报道。吉林农科院作物育种所⁽¹⁾从大豆下胚轴愈伤组织诱导出植株。蒋兴邨等⁽²⁾从野生大豆下胚轴和子叶的愈伤组织获得幼苗。尹光初等⁽³⁾从大豆花药培养得到花粉植株。Tsaiying Cheng等⁽⁴⁾从子叶节切片获得再生植株。Hitoshi Saka等⁽⁵⁾以大豆茎节切段培养获得植株。我们曾报道过,在B₅附加外源激素的培养基上,由大豆上胚轴和小真叶外植体一次接种培养,不需转移,直接诱导出愈伤组织进而分化出植株。并分析几种外源激素对诱导愈伤组织和器官分化的效应,得出KT和NAA配合使用对大豆组织培养再生植株较单独使用效果好的初步结果⁽⁶⁾。在此基础上,为进一步完善大豆组织培养技术,又研究了KT与NAA不同浓度配比对上胚轴和小真叶外植体愈伤组织器官分化的影响,并对分化成苗与未分化愈伤组织的过氧化物酶活性作了初步分析。

材 料 和 方 法

试验材料为山西农大大豆科研组培育成的晋豆1号品种。使种子在湿砂中萌发,一

* 张世煌同志帮助拍照。

周左右取未伸出子叶的上胚轴和小真叶先在75%的酒精中浸几秒钟,取出立即放入0.1%的升汞中消毒12分钟,然后用无菌水冲洗5次。将消过毒的上胚轴切成约1毫米厚的切片,小真叶切成直径约2毫米的小块,分别接种在B₅附加KT和NAA的培养基上,每瓶4—5块。KT和NAA的浓度配比分别是KT1+NAA (1:1), KT1+NAA 0.5 (2:1), KT1+NAA 0.2 (5:1), KT2+NAA 0.2 (10:1), KT3+NAA 0.2 (15:1)和KT4+NAA 0.2 (20:1)毫克/升。材料接种后置于变温条件下培养,控制白天最高温度不超过25℃,夜晚不低于18℃。白天用日光灯补充光照10小时,光强为3000勒克斯。

培养50天时,取上胚轴和小真叶外植体分化成苗与未分化愈伤组织按1与5之比加蒸馏水,经研磨匀浆,离心后,取上清液稀释到适当浓度,加愈创木酚过氧化氢试剂准确反应3分钟,于751分光光度计波长470纳米处记下光密度。过氧化物酶活性以 $\Delta O \cdot D \cdot / \text{分} \cdot \text{毫升}$ 表示。

试验结果

在B₅基本培养基上附加KT1毫克/升改变NAA浓度时,NAA1毫克/升的上胚轴和小真叶外植体愈伤组织只分化出根;NAA0.5和0.2毫克/升的培养30天左右都再生出完整植株。不同的是:NAA0.5较0.2的根分化早,生长快。芽的分化相反,NAA0.2较0.5的早而且生长快(照片1)。成苗率(以外植体为基数)无论是上胚轴还是小真叶外植体都是NAA0.2较0.5的高,平均成苗率前者为17%,后者为10%。上胚轴外植体的成苗率无论是NAA0.2还是0.5的(23%和13%)都较小真叶外植体的(11%和7%)高。照片2和3分别是上胚轴和小真叶外植体在B₅附加KT1+NAA0.2毫克/升培养基中再生的植株。

在B₅基本培养基上附加NAA0.2毫克/升而改变KT浓度时,培养30天左右只有KT1毫克/升的再生出完整植株,KT2—4毫克/升的上胚轴愈伤组织只分化出芽,根的分化完全被抑制;小真叶愈伤组织除分化出芽以外,还分化出极少的根,二者芽的分化率都有随KT浓度增高而增高的趋势。KT2毫克/升的上胚轴愈伤组织,芽分化25天以后也可在芽的基部长出根,这可能是培养基中的KT利用消耗浓度降低所致。

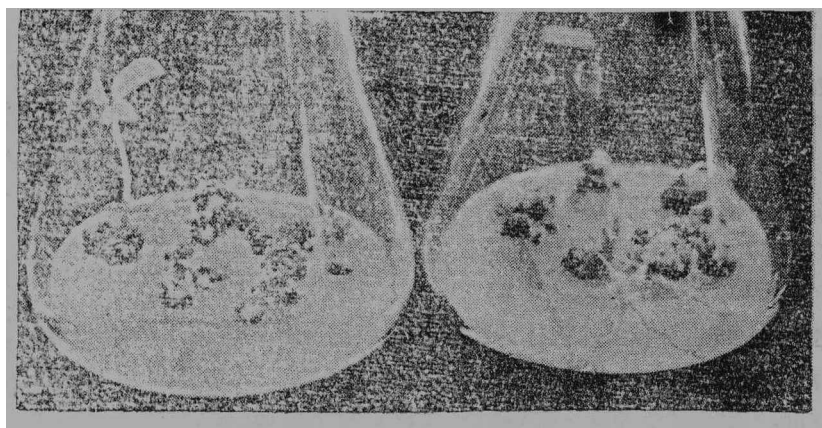
分化成苗愈伤组织都较未分化愈伤组织的过氧化物酶活性高,上胚轴分化成苗愈伤组织的酶活性($44.5 \Delta O \cdot D \cdot / \text{分} \cdot \text{毫升}$)为未分化愈伤组织($39.0 \Delta O \cdot D \cdot / \text{分} \cdot \text{毫升}$)的1.14倍;小真叶分化成苗愈伤组织的酶活性($61.39 \Delta O \cdot D \cdot / \text{分} \cdot \text{毫升}$)为未分化愈伤组织($35.64 \Delta O \cdot D \cdot / \text{分} \cdot \text{毫升}$)的1.72倍。

讨论

试验结果表明,B₅附加KT1+NAA0.2毫克/升培养基对诱导大豆上胚轴和小真叶外植体愈伤组织再生植株较适宜。当KT浓度(1毫克/升)不变,NAA浓度

增加到 0.5 毫克/升时促进根的分化，对芽的分化有抑制，成苗率降低（NAA 0.2 的平均成苗率 17%，NAA 0.5 的 10%）；NAA 浓度增到 1 毫克/升时，只分化根，芽分化完全被抑制。当 NAA 浓度（0.2 毫克/升）不变，KT 浓度增加到 2—4 毫克/升时，分化芽、根的分化几乎完全被抑制。说明 KT 和 NAA 配合使用需要有适当的比例。本试验中 KT 与 NAA 为 5：1 时有利于再生植株，增加 NAA 的比例抑制芽的分化，增加 KT 的比例抑制根的分化，都不利于再生出完整的植株。这一结果与 Skoog 和 Miller（1957）由烟草愈伤组织试验提出的芽和根的形成主要受激动素和生长素两种激素相对浓度的控制⁽⁷⁾相符合。

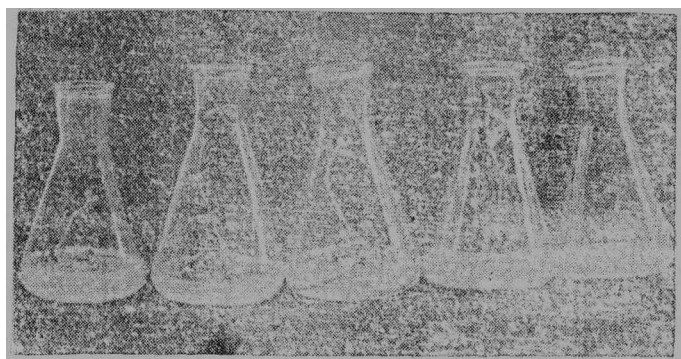
莫荣达等⁽⁸⁾报道苎麻茎外植体分化愈伤组织过氧化物酶同工酶谱比未分化愈伤组织多两条酶带。我们对大豆上胚轴和小真叶外植体分化与未分化愈伤组织过氧化物酶活性的初步分析，观察到分化成苗愈伤组织都较未分化愈伤组织的活性高。此结果的生理生化意义如何，尚待进一步探讨。



照片 1

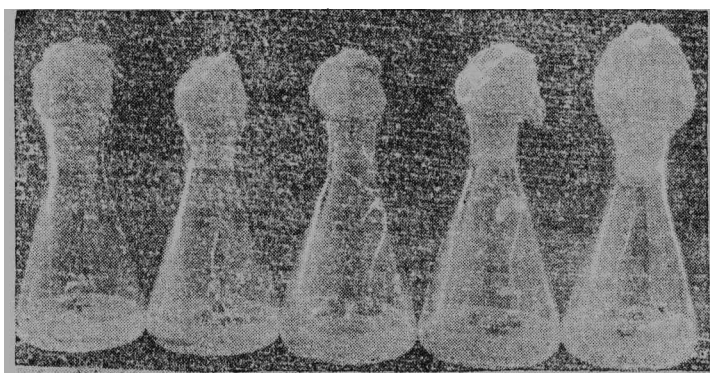
(培养40天的情况)

左为小真叶外植体在 F_5 附加 KT 1 + NAA 0.2 毫克/升培养基中芽分化早根分化较迟
 右为小真叶外植体在 F_5 附加 KT 1 + NAA 0.5 毫克/升培养基中根分早芽分化较迟



照片 2

上胚轴外植体在 F_5 附加 KT 1 + NAA 0.2 毫克/升培养基中再生植株



照片 3

小真叶外植体在 F_5 附加 KT 1 + NAA 0.2 毫克/升培养基中再生植株

参 考 文 献

- [1] 吉林农业科学院作物育种所大豆组织培养组：1986，植物学报18（3）：254—262
- [2] 蒋兴邨等：1983，大豆科学2（1）：25—29
- [3] 尹光初等：1981，黑龙江农业科学1：12—14
- [4] Tsaiying Cheng 等：1980，Plant Science letters 19（2）：91—99
- [5] Hitoshi Saka 等：1980，Plant Science letters 19（3）：193—201
- [6] 陈云昭等：1983，山西农业大学学报3（1）：41—45
- [7] 中国科学院上海植生所：1979，植物组织和细胞培养 171
- [8] 莫荣达等：1982，植物生理学通讯3：39—41

THE EFFECT OF VARIOUS CONCENTRATIONS AND RATIO OF KINETIN AND NAA ON ORGAN DIFFERENTIATION OF TISSUE CULTURE OF SOYBEAN

Chen Yunzhao Wang Yugao

(*Shanxi Agricultural University*)

Abstract

The effect of various concentrations and ratio of kinetin and NAA on organ differentiation of epicotyls and callus of explants of young unifoliolate leaves, and the activity of peroxidase of the differentiated plantlets and undifferentiated callus was studied in this paper.

It was suitable to add KT 1 mg/l and NAA 0.2mg/l to B₅ basal medium. Increasing the ratio of NAA and KT inhibited the differentiation of buds and roots, respectively. All of those weren't favourable to the differentiation of epicotyls and regeneration plants differentiated from callus of explants of young unifoliolate leaves.

The activity of peroxidase of the differentiated plantlets was higher than of undifferentiated callus.