

陆地棉体细胞胚的白化 与植株再生的关系*

李俊兰 张寒霜 王海波 高 鹏
贾景日 黄国存 郝企信 魏建昆

(河北省农林科学院, 石家庄 050051)

摘 要 通过对棉花体细胞胚胎发育过程的观察发现, 其发育的四个时期即球形期, 心形期, 鱼雷期和子叶期均有白化现象。成熟期的白色子叶胚比绿色子叶胚在成苗培养基上生长快, 且形成再生植株的频率高。

关键词 陆地棉 体细胞胚 白化 植株再生

近年来棉花组织培养研究进展较快, 有关棉花体细胞胚胎发生和植株再生的报道不少^[1-5], 张家明曾报道胚状体萌发前失绿白化^[6], 但胚状体发生过程中的白化, 及白色胚状体与植株再生关系的研究方面尚未见报道。本试验对此做了初步的研究。

1 材料和方法

以低酚陆地棉衡无 89-30为材料, 取培养 5天左右的无菌苗下胚轴切段 (长约 0.5cm), 在附加激素 0.1mg/L KT, 0.1mg/L IAA 和 0.1mg/L 2,4-D 的 MSB培养基上诱导出疏松灰软的愈伤组织。经继代培养两个月后, 在去掉 2,4-D, 且 NH_4NO_3 减半的上述培养基上诱导出松散的、颗粒状的胚性愈伤组织。然后观察胚性愈伤组织在不含激素、 KNO_3 加倍的 MSB培养基上胚状体分化过程中的变化, 及子叶期的白色和绿色胚状体在含活性 C 1.5g/L 而不含激素的 SH培养基和附加 0.1mg/L 6-BA/L, 0.1mg/L IAA/L 的 MS培养基上的萌发和成苗情况。培养条件为温度 $28 \pm 2^\circ\text{C}$, 光照时间每天 14h, 光照强度 2000lx。

2 结果与分析

2.1 棉花体细胞胚的发生过程及其白化现象的观察

将松散的、颗粒状胚性愈伤组织转接到胚状体分化培养基上, 10天左右愈伤组织状态发生

变化, 颗粒由硬变软, 由粗变细, 形成较小的灰白色或米黄色结构, 其中绝大多数继续发育成黄绿色的球形期胚状体, 进而发育通过心形期, 形成清晰可见的鱼雷状胚。此时下端呈白色, 上端呈淡绿色, 最后发育成具有浅绿色子叶, 胚轴和白色胚根的成熟期胚状体。

除上述情况外, 观察中发现有的在胚状体发育的球形期就呈白色, 一直到发育成子叶期, 胚保持不变; 也有的是在后三个时期的任一时期开始白化, 到子叶期或呈白色或转绿。

2 2 白色胚状体与绿色胚状体的成苗情况比较

2 2 1 两类胚状体在成苗培养基上的萌发与形成正常苗的频率 将白色和绿色的两类子叶期胚状体从分化培养基上转移到 SH 和 MS 成苗培养基上。开始萌发时, 白色胚状体的最明显特点是, 转移 2 天后变绿, 子叶伸展较快, 叶面积较大, 萌发率在 SH 和 MS 培养基上分别为 100% 和 93.3%, 明显高于绿色胚状体的 75.0% 和 84.4% (表 1); 绿色胚状体的变化也

表 1 两类胚状体在成苗培养基上形成正常苗的比率

培养基	胚状体类型	胚状体个数	胚状体萌发率 (%)	正常苗占胚状体比率 (%)
SH	绿色	48	75.0	4.17
	白色	18	100.0	22.22
MS	绿色	45	84.4	0.00
	白色	46	93.5	13.04

发生在转接 2 天之后, 有的在保持绿色的基础上直接发育, 或长出胚根, 或胚轴伸长、增粗, 或子叶展开, 或根、茎、叶同时生长; 有的却由绿色变成白色, 再恢复绿色后进行生长。

胚状体萌发后, 继续生长的关键在于其能够长出真叶。在成苗培养基上生长一个月时, 所形成的正常苗的情况列于表 1。由表 1 可知, 在 SH 和 MS 两种培养基上, 白色胚状体萌发形成的正常苗分别为 22.22% 和 13.04%, 明显地高于绿色胚状体的 4.17% 和 0%。

由此可见, 白色胚状体与绿色胚状体相比较, 更易萌发, 更易长出真叶形成正常苗。

2 2 2 两类胚状体再生植株的变异比较 再生植株表现的变异很大, 这与人前的研究结果一致^[5-7]。两类胚状体形成的再生植株间差异很大, 主要表现在根、茎、叶的生长方面 (表 2)。

表 2 两类胚状体成苗的变异比较

培养基	胚状体类型	胚状体个数	生根率 (%)	胚轴伸长率 (%)	长子叶率 (%)
SH	绿	48	33.3	25.0	45.8
	白	18	50.0	77.8	77.8
MS	绿	45	11.1	8.9	77.8
	白	46	34.8	23.9	89.1

由表 2 可见, 白色胚状体在 SH 和 MS 培养基上的生根率分别为 50.0% 和 34.8%; 胚轴伸长率分别为 77.8% 和 23.9%; 长子叶的百分率为 77.8% 和 89.1%, 均高于绿色胚状体的相应值。说明白色胚状体的器官发育好于绿色胚状体。

综上所述, 在同一培养基中, 两类胚状体间萌发和成苗结果的差异表明, 白色胚状体的胚根、胚轴和子叶发育均比绿色胚状体更成熟, 白色胚状体转接到成苗培养基上转绿后直接萌发成苗, 而一些绿色胚状体则在转接后先变白再变绿, 然后萌发, 说明白化有可能是绿色胚状体从发育成熟到萌发的必经过程, 是发育的一个阶段。

3 讨论

本试验结果表明, 棉花体细胞胚形成再生植株的过程中, 畸形苗发生频率很高, 为 92.4%,

刘春明等的研究中畸形苗占萌发胚状体的 90% 左右^[5]。对于畸形苗的克服已有一些研究, 如 Voo 等用风干法处理后的胚状体 40% 可再生出完整植株^[8]。本研究结果还表明, 在成苗培养时, 选择白色胚状体, 或经过白化时期的绿色胚状体, 可以获得较高频率的正常苗。白色胚状体形成正常苗的机理和条件有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 陈志贤等. 棉花细胞悬浮培养的胚胎发生和植株再生的某些特性的研究. 中国农业科学, 1987, 20(5): 6~11
- 2 王喆之等. 陆地棉胚性愈伤组织的变异及高频胚胎发生. 植物学报, 1994 36(5): 331~ 338
- 3 李秀兰等. 棉花体细胞培养再生植株研究. 中国棉花, 1989(6): 13~ 15
- 4 Davidson GH. Plant regeneration from callus tissues of *Gossypium hirsutum* L., Plant Sci Lett, 1983 32 89~ 93
- 5 刘春明等. 陆地棉体细胞胚发生及其细胞组织学研究. 植物学报, 1991 33(5): 378~ 384
- 6 张家明等. 陆地棉体细胞胚的萌发及再生植株变异的初步研究. 华中农业大学学报, 1992, 11(1): 31~ 35
- 7 郑泗军等. 棉花组织培养中畸形胚产生原因的分析. 浙江农业大学学报, 1993 19(2): 193~ 197
- 8 Voo KS, et al Indirect somatic embryogenesis and plant recovery from cotton. *In vitro Cell Dev Bio*, 1991, 27: 117~ 124

Relationship Between the Albinism of Somatic Embryo and Plant Regeneration in *Gossypium hirsutum* L.

Li Junlan Zhang Hanshuang Wang Haibo Gao Peng

Jia Jingri Huang Guocun Hao Qixin Wei Jiankun

(Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences Shijiazhuang 050051)

Abstract It was noticed that there existed albinism in all of four development stages of cotton somatic embryological heart, torpedo and cotyledon stage. In the maturity date, albinotic cotyledon somatic embryos growed more quickly and had a higher frequency of plant regeneration than green cotyledon ones in SH and MS plant forming media.

Key words *Gossypium hirsutum* L.; Somatic embryo Albinism; Plant regeneration