

三个棉种茎尖培养再生植株培养基的研究

贾景日 徐荣旗 刘金星

(河北省农林科学院棉花研究所, 石家庄)

摘 要

海岛棉、陆地棉、中棉的茎尖(5—10mm)培养在改良MS附加IAA和Kt的培养基上,均诱导产生了完整小植株,由此为繁殖植茎尖无性系提供了可能性。

改良MS培养基不但适用于棉花二倍体茎尖培养,而且适用于棉花单倍体茎尖培养,这为单倍体的快繁提供了可能性。

棉株发育初期的茎尖和腋芽较现蕾后的茎尖和腋芽更易于生根,根、茎、叶分化也好。

日温32℃、夜温28℃比试验的其它温度更有利于棉花生根和茎、叶分化。

关键词 海岛棉 陆地棉 中棉 茎尖培养 改良MS培养基

截至1983年,据Smith估计已有700多种植物通过组织培养得到再生植株,300多种植物诱导出单倍体,这种技术广泛地应用于栽培植物上,取得了巨大的经济效益。

棉花的组织培养多年来虽有一定成绩,但陆地棉花药培养仅能获得早期胚、根、茎、叶状体等组织^[1],未能得到完整植株;Stewart和Hsu(1977, 1978)将杂交2天后的胚珠经培养产生出小植株,但未受精的胚珠尚未见到有成苗的报道;Chappell和Mauuey(1976)用陆地棉研究茎尖培养中正常生长和发育的营养要求,看到了叶原基启动,但未能生根和长成完整植株^[2];Jay Thomas等(1979)报道,陆地棉和海岛棉的分生组织经4—6周培养后,能生出叶片,有的能长出根,但小苗呈矮生状;C. H. Daridonis等于1983年虽从陆地棉愈伤组织诱导出体细胞再生植株,但培养周期需2年以上^[3];1985年王月芳和奚元龄报道用陆地棉品种荆436茎尖培养,产生了完整小植株,但未报道生根频率^[4]。

本文报道了改良MS培养基成功地用于3个棉种8个品种(包括单倍体植株)的茎尖培养,再生完整小植株(有根、茎、叶完整组织)的全过程。

材料和方法

以陆地棉栽培品种冀棉8号、冀棉10号、海岛棉比马VS₄-1、中棉石系亚、海陆野杂交F₁〔比马VS₄-1×(405×296)〕F₁、比马VS₄-1单倍体株、海陆×中₃₁为试验材料。茎尖(或芽子,下同)取自现蕾前及现蕾后茎的顶端和腋芽。

将茎尖外部的小叶去掉,用0.1% HgCl₂浸泡10—15分钟,随即在无菌室内将浸泡材料用无菌水冲洗4—5遍,然后把茎尖浅插于琼脂固体培养基上。

采用改良MS基本培养基(MS基本培养基1962,去掉有机部分,只保留V_{B1} 0.2mg/l,

单位下同)，附加6-BA、IAA、IBA、Kt和不同量的碳源（葡萄糖），有的附加了肌醇。

培养是在日温32℃、夜温28℃，光照13小时，光强2 000Lux条件下。并进行了不同培养温度的比较试验。

结 果

一、激素试验

接种在改良MS培养基上的冀棉8号茎尖，由于附加激素种类、浓度和配比的不同，根、茎、叶的分化有明显差异，见表1。

表 1 不同附加激素对棉株茎尖生根率的影响

编 号	培养基组成 (mg/l)	接 种 茎尖数	生 根 茎尖数	生根率 (%)
改良 MS—1	IAA 2.0 Kt 1.0 IP50	41	0	0
改良 MS—2	IAA 1.0 Kt 2.0	40	0	0
改良 MS—3	IAA 6.0 Kt 0.6	40	36	90
改良 MS—4	IAA 8.0 Kt 0.8	38	2	5.3
改良 MS—5	IBA 2.0 Kt 0.6	39	1	2.6
改良 MS—6	IAA 6.0 Kt 0.2 6-BA 0.4	40	3	7.5

注：改良 MS—1、改良 MS—2、改良 MS—3 加葡萄糖 3%；改良 MS—4、改良 MS—5、改良 MS—6 加葡萄糖 2%；IAA—吲哚乙酸、IBA—吲哚丁酸、Kt—激动素、6-BA—6-苄氨基嘌呤、IP—肌醇。

结果表明，在改良MS培养基中以葡萄糖为碳源（用量2%—3%）在一定的激素配合下茎尖均能分化出茎、叶，或产生完整小植株，但葡萄糖含量在2%的茎、叶弱小。在6个不同激素配比的改良MS培养基中，以改良MS—3（附加IAA6.0，Kt0.6）培养基为最好，其上的茎尖接种后15天基部即有少量小白根长出，茎、叶也有所生长。到30天统计茎尖生根率达到90%，茎尖生根4—7条，苗高均达2.5cm以上，无畸形苗（参见图1、a—e）。其余5个培养基中，改良MS—1、改良MS—2接种的茎尖，一直没有生根；改良MS—4、改良MS—5、改良MS—6在接种25天以后才有少数茎尖生根，且根量少。

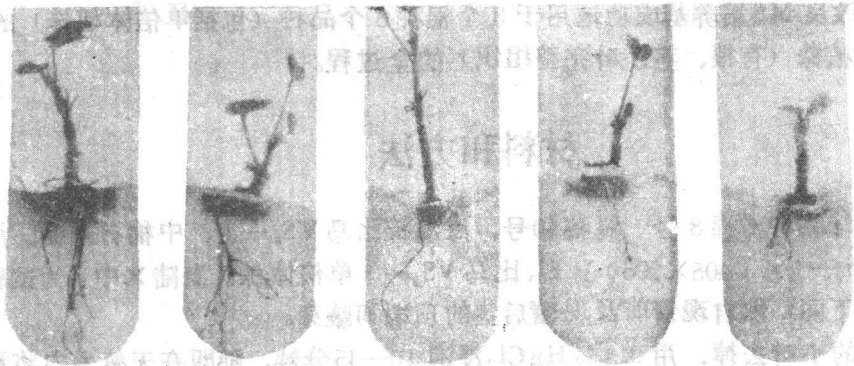


图 1 三个棉种茎尖在改良MS—3培养基上诱导生根成苗

a 海岛棉 b 陆地棉 c 中棉 d 单倍体 e 茎段

二、品种试验

取材部位为现蕾前的茎尖或腋芽。来源于 4 个品种、2 个杂交种和 2 个品种的单倍体植株, 计 8 个基因型的遗传材料, 其棉种为海岛棉、陆地棉和中棉的栽培品种。培养在改良 MS—3 培养基上, 每个材料接种 40 个茎尖, 结果见表 2。

表 2 不同棉花品种对培养基的反应

棉种	品种	生根率 (%)	生根数/株	茎尖分化表现
海岛棉	比马 VSg-1	87.5	4-7	根茎叶成完整植株, 生长正常
陆地棉	冀棉 8 号	85	4-7	同比马 VSg-1
	冀棉 10 号	20	2-4	根茎叶生长迟缓, 有少量黄叶
中棉	石系亚	60 ^①	3-4	茎细叶小, 节间长
杂交种	海陆野杂交 F ₁	90 ^①	5-7	根茎叶成完整植株, 生长正常
	〔比马 VSg-1 × (405 × 296)〕 F ₁	87.5	5-7	同海陆野杂交 F ₁
单倍体	比马 VSg-1	85	2-3	根茎叶成完整植株, 生长缓慢
	海陆 × 中 ₁₁	85 ^②	2-4	同单倍体比马 VSg-1

注: ①接种 30 个茎尖; ②接种 20 个茎尖, 其余均接种 40 个茎尖。

从表 2 看出, 有 6 个材料生根率达到 80% 以下 (其中海陆野杂交 F₁ 生根率达 90%), 茎叶生长正常; 冀棉 10 号生根率 20%, 石系亚生根率 60%, 根茎叶生长迟缓、弱小, 根数也较少。

三、取材部位试验

试验品种为冀棉 8 号。现蕾前选取健壮、无病虫害、生育正常的茎尖、腋芽和茎切段 (保留一个营养芽); 现蕾后的只取茎尖。每种取材部位各接种 40 个在改良 MS—3 培养基上, 结果: 现蕾前的茎尖和腋芽生根率分别为 87.5% 和 82.5%, 根茎叶生长良好, 每株生根 4—7 条, 但接种的茎段生根率只有 20%, 根发育得粗而短。现蕾后的茎尖生根率最低, 仅有 15.0%, 根茎发育得短粗, 叶不平展, 每株生根仅 3—5 条。

四、温度试验

取品种试验中 8 个基因材料的茎尖接种于改良 MS—3 培养基上。于 3 个不同的日温和夜温条件下培养。接种 20 天后, 观察温度对茎尖生根的影响, 并统计生根率 (见表 3)。

表 3 温度对棉花品种茎尖生根率 (%) 的影响

棉种	品种	26℃/24℃	32℃/28℃	34℃/32℃
海岛棉	比马 VSg-1	37.5	87.5	72.5
陆地棉	冀棉 8 号	37.5	85.0	75.0
	冀棉 1 号	7.5	20.0	15.0
中棉	石系亚	22.9 ^①	60.0 ^②	53.3
杂交种	海陆野杂交 F ₁	44.0 ^③	90.0 ^②	76.0 ^③
	〔比马 VSg-1 × (405 × 296)〕 F ₁	40.0	87.5	77.5
单倍体	比马 VSg-1	32.5	85.0	67.5
	海陆 × 中 ₁₁	33.3 ^⑤	85.0 ^④	60.0 ^⑤

注: 各处理接种茎尖数: ① 35 个 ② 30 个 ③ 25 个 ④ 20 个 ⑤ 15 个, 其余皆为 40 个。

从表 3 可以看出,在试验条件下,以日温 32°C 、夜温 28°C 为棉花茎尖生根的最佳温度;培养温度增高到日温 34°C 、夜温 32°C ,茎尖生根较早(接种后 7—25 天生根),但不整齐,生根率普遍下降;培养温度降低到日温 26°C 、夜温 24°C ,迟至接种后 25—35 天才生根,生根率下降更为明显。温度对茎尖分化发育的影响:培养温度过高各品种苗子生长不健壮,且有畸形苗;培养温度过低茎叶生长缓慢。

讨 论

一、本试验摸索出适合 3 个棉种茎尖再生植株的培养基,它不仅适用于棉花二倍体,而且适用于棉花杂交种和单倍体植株。初步明确了适宜的培养温度和取材部位,对改进棉花组织培养技术有重要意义。茎尖培养有利于建立棉花无性繁殖系,它不仅能加速有希望的品系、不易结籽的远杂材料和杂种优势组合的大量繁殖,而且为棉花的单倍体育种、体细胞融合,以及理化诱变产生的新个体的快速繁殖、研究和利用提供了可能性。

二、在改良 MS 基本培养基上,茎尖的生长分化对于附加不同的激素培养条件反应不同,说明诱发棉花茎尖分化成苗,必需一定的外源营养,尤其是激素配合,才能实现。但到目前为止,植物激素的生物合成、代谢的调节机制尚未搞清。我们曾利用 MS (1962) 培养基,将其有机部分保留 V_{B1} 和 IP,其它培养条件均同本试验,生根率只有 7.5%,茎叶分化生长表现不良,25 天以后茎尖变褐、干枯而死。由此看来,棉花茎尖培养再生植株的培养基中,有机营养的组成调节十分重要。关于棉花外植体茎尖内源激素和营养水平,加上培养基本身的激素和营养,导致棉花茎尖生根和茎叶分化的机制尚待进一步研究。

三、以本试验条件为基准,在 MS—3 培养基上,取材部位不同,其根茎叶分化有明显的差异。在本试验条件下,取材部位以现蕾前的主茎尖为最好。

日温 32°C 、夜温 28°C 是本试验的培养适温。昼夜温差大小对棉花茎尖培养生根的影响还需进一步试验。

参 考 文 献

- (1) Xi Yuanling et al: Callus formation induced from the anther culture of upland cotton (*G. hirsutum* L.) (Abstract). Proc. Sym. Plant Tissue Culture. Science Press, Peking, China. 1978: 239—240
- (2) Chappell, E. J. et al: Culture of the apical meristem of *G. hirsutum* L. in vitro. Phyton. 24, 1976: 93—100
- (3) Davidson, G. H. et al: Plant regeneration from callus tissues of *G. hirsutum* L. Plant Science Letters, 32, 1983: 89—93
- (4) 王月芳等: 陆地棉茎尖培养再生植株,《江苏农业学报》, 2 (2) 1986: 13—16

A Study on the Culture Medium of Regenerative Cultivation with Shoot Apex of 3 Cotton Species

Jia Jingri, Xu Rongqi, Liu Jinxing
(Cotton Institute, Hebei Academy of Agricultural
and Forestry Sciences, Shijiazhuang)

Abstract

Shoot apex (5—10mm in length) of Sea Island Cotton (*Gossypium barbadense* L.), Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and Tree Cotton (*Gossypium arboreum* L.) were cultured on improved MS medium supplemented with IAA and KT, all resulting in formation of complete plantlet. This way provided the possibility of micro-propagation of cotton clones derived from the shoot apex.

The improved MS culture medium is applicable not only to the cultivation of cotton diploid with shoot apex, but also to the cultivation of cotton haploid with shoot apex. It provided possibility for the fast breeding of haploid.

Shoot apex and axillary bud in the early stage of the development of cotton plantlet are easier to strike roots than those in the bud and boll squaring stage, and their roots, shoot and leaf differentiation are also better.

The temperature 32°C in daytime and the temperature 28°C in nighttime are more favorable to root striking and differentiation of shoot and leaf than other temperatures in the experiment.

Key words: *Gossypium barbadense* L., *Gossypium hirsutum* L., *Gossypium arboreum* L., Shoot apical culture; Improved MS medium