

菜豆 (*Phaseolus Vulgaris* L.)、大豆 (*Glycine Max* L.) 组织培养绿

苗分化及植株再生

刘德璞 袁 鹰

(吉林省农科院大豆所)

摘 要

菜豆、大豆的种子于 1/2 MSBA 中萌发,取这种条件分化苗的子叶节为外植体,接在 1/2 MSBA 培养基中诱导了多芽产生(10—20个/节)。在 1/2 MSBA 或 1/2 MSBAIBA 中继代增殖。接于 Le-2 培养基的菜豆再生苗的叶片又诱导小芽。对来自大豆子叶节的愈伤组织进行了器官发生和胚胎发生试验,获得再生芽和胚状体。

菜豆 (*P. Vulgaris* L.) 是一种重要的食用豆,近些年国外已对它进行了组织培养、细胞培养以及原生质体培养研究,但只是在茎尖组织培养中获得植株^[6],在茎尖愈伤组织的悬浮细胞培养中获得胚^[3]。最近国内有报道在上胚轴和嫩茎的组织培养中获得再生植株^[1]。对大豆的组织、细胞、原生质体培养,国内外工作较多,尽管在原生质体培养及其植株再生方面集了众多工作者的兴趣,但在组织培养方面,还有不少工作者在努力工作,其目的是在于获得高频率。植株再生以使能在育种及其他遗传学研究上得以应用。目前,在下胚轴、上胚轴、子叶、子叶节、叶片等不同外植体部位都得到了再生植株^[2,4,5],频率也在不断提高。国内在提高再生频率方面近年也有人在工作。为了使这种组织培养技术能在国内应用于育种,我们参考国外工作报告,做了大豆和菜豆组织培养高频再生工作,获得了丛生苗,菜豆获得植株。

材 料 和 方 法

菜豆为大豆所资源室提供的菜豆457,大豆为吉林20号。取成熟种子用 2% 次氯酸钠消毒 10 分钟,无菌水冲洗 3 次,接于 1/2 MSBA (1/2 离子浓度 MS 基本培养基 + 6-BA 1—2 mg/升) 培养基中培养,一周后取无菌苗在无菌条件下去掉子叶和上下胚轴,截取子叶节部位 2—3 mm 切段,再培养于 1/2 MSBA 培养基中,待出芽后,转至增殖培养基。待苗约 1 cm 长时分割开移至生根培养基促进生根。将再生苗的叶子和嫩茎节截取再接至上述培养基和叶培养基上,观察其出芽情况。详细程序见图 1。

结 果 与 讨 论

菜豆 种子接于 1/2 MSBA 培养基培养一周后,种子萌发出小苗,小苗与不加 BA 的相比,显得粗而短,子叶节部位膨大。截取膨大的子叶节于 1/2 MSBA 中再培养 10—15 天,从子叶腋位置长出 2 个以上小芽。将组织块(带芽)再接至 1/2 MSBAIBA 培养基

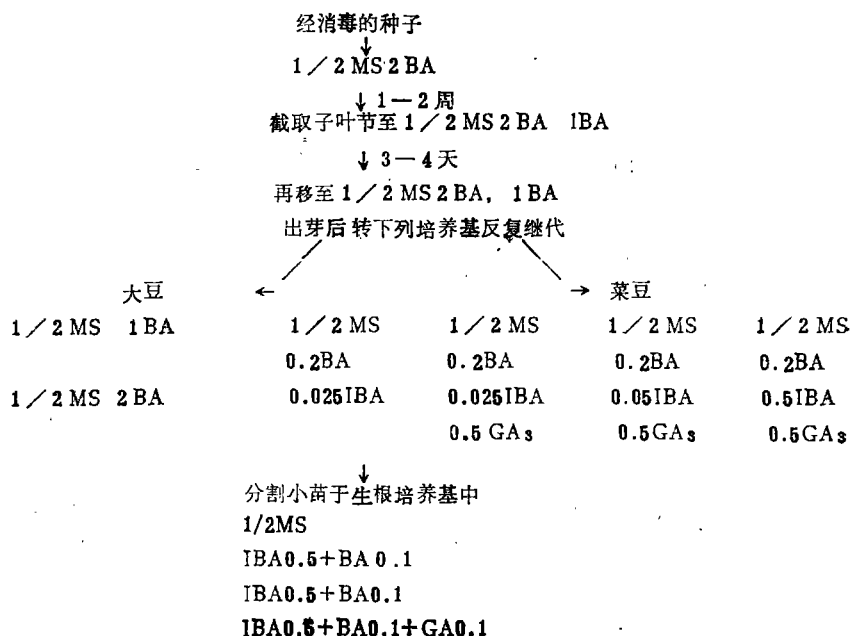


图 1 操作程序

中，一方面原有小苗向上生长，另一方面又不断长出新的嫩芽和嫩枝。同时又有愈伤组织形成（少量），尔后在愈伤组织上又分化出小芽。这样，每个节在第二次继代中便有10—20个苗形成（见图版）。增殖培养基中IBA的浓度（0.025、0.05、0.5），在小苗的增殖数量上影响不显著，但对小苗茎部分生长的强弱有影响，IBA浓度高，小苗较壮，反之较弱。再生苗茎节切段在增殖培养基上也可产生多苗，接于Le—2的叶培养基上的叶片，在叶柄和叶脉上产生小芽，芽的基部带有很少量的愈伤组织。

将无根小苗移至生根培养基上，很容易生根。生根培养基以1/2 MS + IBA 0.5为好，其余两个也能生根，但苗较细弱，并同时又形成新苗。

大豆 大豆子叶节培养与菜豆在增殖培养之前是相同的，即种子要在1/2 MSBA中预培养，然后在1/2 MSBA中诱导丛芽，不同的是大豆子叶节一直在1/2 MSBA中继代增殖小苗。小芽的形成与菜豆也不尽相同。除子叶叶腋位置产生2—4个枝芽外，大量小芽的产生是在横截面外周形成层位置。先是沿截面四周形成较光滑的绿色凸起，然后这些小凸起进一步分化出芽。将这种有小芽的子叶节在1/2 MSBA中每半月转移继代一次，可不断分化出新芽来。原有小芽应及时分割下来，若不分割移走，则影响新芽形成。试验得知，切段的长度对形成这种小芽有影响，从节向上的上胚轴留得越少越易形成这种丛生芽，而留的长，则只在叶腋位置形成多芽。

对从子叶节产生的愈伤组织进行再分化诱导，分别从氮源、生长素与分裂素配比、诱导程序、高生长素作用等几方面进行试验，结果在氮源与激素配比试验组中获得分化芽，在高生长素试验中得到胚性结构和一些“泡”状结构，但没有进一步分化出芽。

有关大豆组织培养再生植株的文献现已很多，但对不同外植体所用激素以及诱导程序不尽相同，都有独特的内容。从胚胎发生研究方面，目前多以未成熟胚为材料，通过高生长素诱导形成胚状体后再进一步分化苗^[7]。而器官分化则以上、下胚轴、子叶节、茎尖

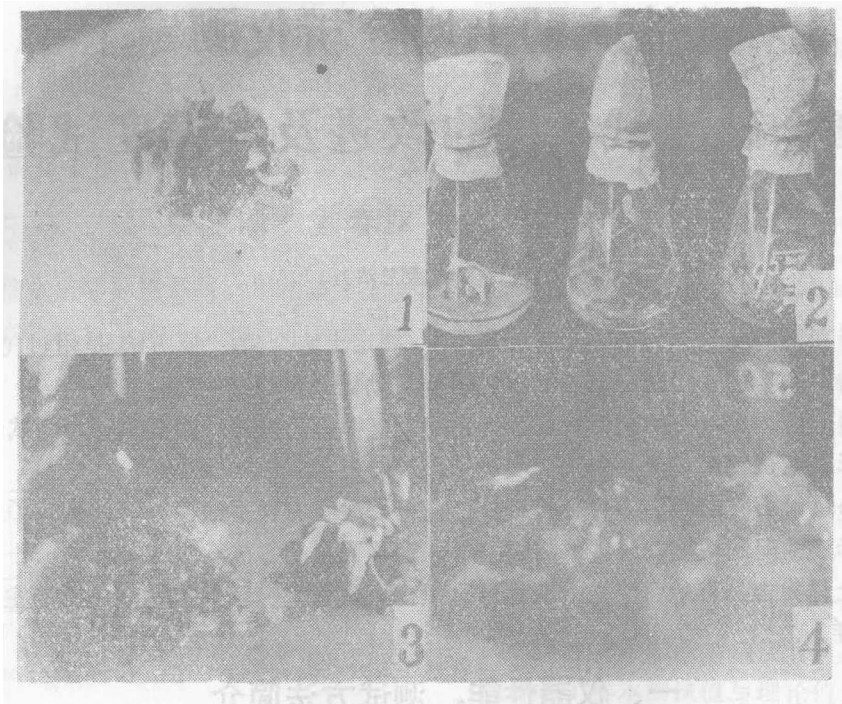


图 版 说 明

1. 菜豆子叶节诱导出丛生芽。2. 丛生芽分离后形成小植株。3. 大豆子叶节诱导的丛生芽。4. 大豆子叶节愈伤组织再分化出小芽。

以及叶片为外植体，所用激素方法也不同。这些都与内源激素水平等有关，其中规律性的东西是需要研究的。本试验对子叶节从胚胎发生及器官再生两方面的诱导方法做了初步试验，认为子叶节形成的愈伤组织其器官再生和胚胎发生的潜能都是存在的。

本试验菜豆再生苗技术，我们希望其能在菜豆育种中得以应用。

参 考 文 献

- (1) 朱有光、奚惕：《植物生理学通讯》，1988，(2)：60。
- (2) Cheng T.Y. et al, *Pl. Sci. Lett.*, 1980, 19 : 303—309.
- (3) Martin I.S., Sondahl M.R., *Z. Pflanzenphysiol.*, 1984, 117 : 97—104.
- (4) M.S. Wright et al, *Pl. Cell. Rep.*, 1986, 5 : 150—154.
- (5) M.S. Wright et al, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1987, 8 : 83—90.
- (6) Rubluo A., Karth K.K., *J. pl. physiol.*, 1985, 119 : 425—433.
- (7) U.B. Barwale et al, *Planta*, 1986, 167 : 473—481.