

抗生素对尾巨桉愈伤组织诱导和植株再生的影响

韦大器^{1,2,*}, 时群², 李恂¹

¹湖南农业大学作物基因工程湖南省重点实验室, 长沙410128; ²广西钦州市林业科学研究所, 广西钦州535000

取尾巨桉(*Eucalyptus urophylla*×*Eucalyptus grandis*)无菌苗, 除去叶片后剪成2~3 mm的茎段, 平放于含不同抗生素的愈伤组织诱导培养基(改良的H培养基+0.5 mg·L⁻¹2,4-D+0.1 mg·L⁻¹6-BA+3%蔗糖)上, 暗培养10 d后转入自然光下培养, 30 d后观察茎段愈伤组织诱导和生长情况。所诱导出的愈伤组织接种于含有不同抗生素的愈伤组织分化培养基(改良H培养基+1.0 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹NAA+5%蔗糖)上培养, 观察不定芽分化和生长情况并测量茎径(郑进等2006)。从中取生长健壮, 高2.5~3 cm的不定芽转入含有不同抗生素的生根培养基[改良MS+0.6 mg·L⁻¹生根粉6号(北京双吉尔生物技术开发中心生产)+0.2 mg·L⁻¹IBA+1.5%蔗糖]上培养, 10 d后观察生根情况。上述培养基均加入0.3%琼脂, pH 5.8, 培养温度为(26±1) °C, 光照时间为12 h·d⁻¹, 光照强度

为7.2~36 μmol·m⁻²·s⁻¹。每个试验重复3次, 得到如下结果。

1. 愈伤组织诱导培养基上培养30 d后的诱导率均达到100%, 而且生长良好, 呈淡黄色或黄白色, 少数呈粉红色, 形状呈颗粒状, 结构较致密, 表面湿润, 质地新鲜, 无褐化现象。

2. 茎段对卡那霉素均表现出高度的敏感性, 不加卡那霉素的出愈率为100%, 含有5 mg·L⁻¹卡那霉素的出愈率下降到40%, 卡那霉素浓度增至7 mg·L⁻¹时, 则不能诱导出愈伤组织(表1), 并逐渐黄化、死亡。

3. 卡那霉素对愈伤组织生长有很强的抑制作用, 加5 mg·L⁻¹卡那霉素的愈伤组织很快褐化死亡, 不能继代, 也不能作不定芽分化培养。

4. 含有氨苄西林钠的培养基上的茎段在25 d内可不同程度地形成愈伤组织。愈伤组织多呈黄

表1 抗生素对尾巨桉外植体愈伤组织诱导和不定芽分化的影响

抗生素	抗生素浓度/mg·L ⁻¹	接种外植体数/块	长出愈伤组织数/块	诱导率/%	不定芽茎径/mm	分化率/%
卡那霉素	0	30	30	100	—	—
	2	30	30	100	—	—
	5	30	12	40	—	—
	7	30	0	0	—	—
氨苄西林钠	0	20	20	100	1.5~1.8	22.2
	200	20	20	100	1.4~1.6	21.0
	300	20	19	95	1.0~1.2	20.0
	400	20	16	80	0.6~0.8	15.8
	500	20	14	70	0.6~0.8	14.3
头孢唑林钠	0	20	20	100	1.5~1.8	21.3
	200	20	20	100	1.3~1.6	13.3
	300	20	20	100	0.8~1.0	11.1
	400	20	20	100	0.6~0.8	10.0
	500	20	20	100	0.6~0.8	7.1

白色, 结构致密, 表面有颗粒状突起, 转入分化培养基中培养10 d后, 愈伤组织表面开始出现绿色颗粒状突起, 15 d后愈伤组织四周转为红色或紫红色, 表面湿润, 并逐渐分化出不定芽。在

收稿 2007-03-22 修定 2007-06-06

资助 广西钦州市科学技术局。

* E-mail: daqiwei@163.com; Tel: 0777-2808730

表2 抗生素对尾巨桉不定芽诱导生根的影响

抗生素	抗生素浓度 /mg·L ⁻¹	接种不定芽数 / 个	出根不定芽数 / 个	出根率 / %
卡那霉素	0	20	19	95
	2	20	3	15
	4	20	0	0
	6	20	0	0
氨苄西林钠	0	20	20	100
	200	20	16	80
	400	20	13	65
	500	20	10	50
头孢唑林钠	0	20	19.5	97.5
	200	20	12	60
	400	20	8.7	43.5
	500	20	5	25

100~500 mg·L⁻¹ 氨苄西林钠范围内, 出愈率随着氨苄西林钠浓度的增高而下降, 褐化率也升高。含不同浓度氨苄西林钠的分化培养基上所分化出的不定芽, 其形态特征和分化率有一定的差异(表1)。氨苄西林钠对不定芽的分化有一定的抑制作用, 其抑制程度随着培养基中氨苄西林钠浓度的增加而增强。

5. 在加有头孢唑林钠的愈伤组织诱导培养基上形成的愈伤组织多为白色, 呈颗粒状, 较疏松, 体积增加较快, 体积比不加头孢唑林钠的约大2倍。愈伤组织转入分化培养基中10 d后开始出现绿色芽点, 15 d后以茎段为外植体所诱导出的愈伤组织四周开始转为红色或紫红色、表面湿

润, 以后逐渐长出不定芽。30 d后, 含不同浓度头孢唑林钠的分化培养基上所分化的不定芽形态和分化率有一定的差异, 头孢唑林钠对不定芽有一定的抑制作用, 且随着浓度的增加而增强(表1)。

6. 卡那霉素浓度达到2 mg·L⁻¹时, 生根率仅为15%; 浓度为4 mg·L⁻¹的不定芽生根即受到严重抑制, 不能生根。低浓度的氨苄西林钠对不定芽诱导生根的影响不大, 头孢唑林钠对不定芽诱导生根的影响比氨苄西林钠稍大些(表2)。

参考文献

郑进, 康薇, 洪华珠(2006). 抗生素在农杆菌介导植物转基因中的应用. 林业科技开发, 20 (3): 8-11