

## 羟脯氨酸对离体培养的莱薹幼苗、茎尖和愈伤组织的生理效应

廖飞雄<sup>1,\*</sup> 潘瑞炽<sup>2</sup>

<sup>1</sup>广东省农业科学院花卉研究所, 广州 510640; <sup>2</sup>华南师范大学生命科学学院, 广州 510631

研究了离体培养下羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)对菜薹(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *utilis*)品种“六十天特青”的幼苗、茎尖和愈伤组织的生理效应。培养基中添加7 g·L<sup>-1</sup>琼脂和30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖。结果用 Microsoft 的 Excel 进行曲线拟合和显著性检验。得到如下结果:

1. 无菌种子播种于含不同浓度 Hyp 的 1/2MS (大量元素减半) 培养基上, 每瓶 30 粒左右。每处理 6 瓶, 重复 3 次。结果表明: Hyp 延缓种子的萌发速度, 但对种子萌发率影响不大。一般种子萌发后, 胚根和主根上产生大量白色毛状根; 加入 Hyp 的根和根毛的发生明显受抑, Hyp 浓度 20 mmol·L<sup>-1</sup> 以上就很少生根。幼苗成活率随培养时间的延长和浓度的增加而下降, 10 d 后子叶还能保持绿色的苗基本上能存活下来, 但生长缓慢甚至停止。存活率与浓度呈显著相关(图 1)。通过回归式可推算出幼苗的 Hyp 半致死浓度为 13.8 mmol·L<sup>-1</sup>。

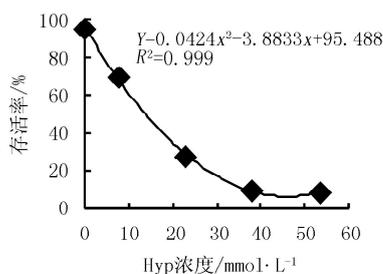


图1 Hyp 对菜心实生幼苗的影响

2. 无菌种子于 1/2MS 培养基上萌发培养 7 d 后, 取约 0.5 cm 茎尖, 接种于含不同浓度 Hyp 的 MS+2 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> 的培养基上。每瓶接种 8 个, 每处理 6 瓶。结果表明: Hyp 浓度在 1.5 mmol·L<sup>-1</sup> 以上时, 茎尖因伤害而变暗褐色, 几乎不能再生新芽; 10 d 时 2 mmol·L<sup>-1</sup> 以上处理能萌发生长并保持绿色的茎尖显著减少, 15 d 后趋于稳定; 20 d 后, 3.8 mmol·L<sup>-1</sup> 以上浓度培养的苗全部死亡。存活率与浓度之间呈二元回归关系(图 2), 可推算出茎尖的 Hyp 半致死浓度为 1.98 mmol·L<sup>-1</sup>。

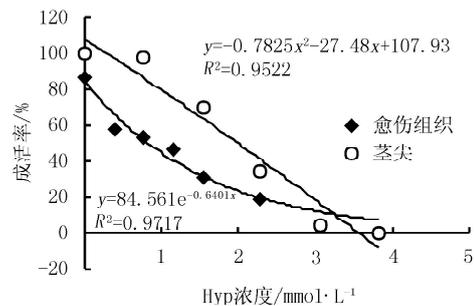


图2 不同浓度Hyp对茎尖和愈伤组织培养的影响

3. 用萌发第7天的幼苗子叶接种于MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> 2, 4-D的培养基上诱导愈伤组织。继代2次增殖, 20 d为1代。取约 2 mm×2 mm 愈伤组织块接种于含不同浓度 Hyp 的 MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> 2, 4-D+0.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA 上培养。在含 Hyp 的培养基上, 愈伤组织第5天便有褐变发生, 10 d 后褐变进程加速, 15 d 后, 未褐变的基本上稳定存活。愈伤组织块在培养过程中敏感细胞褐变死亡后, 抗性强的细胞增殖形成色泽鲜白、增殖量大、具活力的愈伤组织块。以愈伤组织块褐变完全作死亡标志。存活率与 Hyp 浓度间呈指数回归关系(图 2), 半致死剂量为 0.83 mmol·L<sup>-1</sup>。

在已有相关的报道中筛选采用的 Hyp 浓度或提供的半致死浓度, 大多在 10 mmol·L<sup>-1</sup> 以内, 以 1~3 mmol·L<sup>-1</sup> 为多。本文所得茎尖和愈伤组织的结果也在此范围内。筛选中种子和萌发后的幼苗能耐较高的 Hyp, 但这种伤害是潜隐的, 在进一步生长中还会逐渐表现出来, 因此, 在多代筛选中不宜采用过高浓度的压力。还有一点要注意的是, 当用茎尖或再生苗作筛选材料时, Hyp 处理后会引引起组织整体性损伤, 筛选压力宜小于半致死浓度; 而愈伤组织在筛选中能不断增殖形成新愈伤组织, 组织抗性可提高, 筛选时宜选择高于半致死浓度或逐步提高选择压力。

收稿 2003-03-27 修定 2003-09-27

资助 广东省重点科技攻关项目(970306)。

\* E-mail: lfeixiong@tom.com, Tel: 020-87593429