

网络出版时间:2017-10-09 09:39

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2017.11.008

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20171009.0939.016.html>

外源激素对甘蓝 DH 植株生长的影响

王改改, 张恩慧, 李楠, 武习习

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】促进甘蓝胚状体再生 DH 植株在有限时间内健壮生长, 根系粗壮, 有利于当年提早移栽, 进而植株生长达到通过春化营养体。【方法】以甘蓝小孢子培养获得的胚状体不定芽为试验材料, 分别在 MS+Suc 30 g/L+Agar 8 g/L 培养基上添加不同浓度褪黑素(MT)(0, 1, 2, 5, 8 和 10 $\mu\text{mol/L}$), 在 MS+Suc 30 g/L+Agar 8 g/L+5 $\mu\text{mol/L}$ MT 培养基上添加不同质量浓度萘乙酸(NAA)(0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 和 0.5 mg/L), 研究再生植株生长势, 筛选再生植株快速健壮生长的培养基; 再研究分析 DH-A、DH-B 和 DH-C 3 种基因型胚状体不定芽在 MS+Suc 30 g/L+Agar 8 g/L+5 $\mu\text{mol/L}$ MT+0.1 mg/L NAA 培养基上再生植株的生长势, 比较 MT 和 NAA 对不同基因型 DH 植株生长的影响。【结果】MS 培养基添加 MT 有利再生植株生长, 与对照相比, 培养基添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 处理再生植株净生长高度、茎粗、最大叶宽和叶片数分别增加 1.33 cm, 0.17 mm, 0.67 cm 和 2.60 片, 根系变长、侧根增多, 翌年抽苔率提高 20.0%; MS 培养基添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 和 0.1 mg/L NAA 后再生植株健壮生长, 与对照相比, 再生植株净生长高度、茎粗、最大叶宽和叶片数分别增加 1.90 cm, 0.52 mm, 0.88 cm 和 3.00 片, 根系生长旺盛, 翌年抽苔率提高 26.6%; 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 和 0.1 mg/L NAA 对甘蓝 DH 植株的促进作用在 3 种不同基因型间无显著性差异, 且 DH-A、DH-B、DH-C 翌年抽苔率分别较对照提高 33.4%, 20.0% 和 20.0%。【结论】在 MS 培养基中添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 和 0.1 mg/L NAA, 甘蓝胚状体 DH 植株生长势最好, 当年炼苗移栽, 冬前植株生长可达到一定的营养体。

【关键词】 甘蓝; 褪黑素; 胚状体; 不定芽; DH 植株; 植株生长

【中图分类号】 S635

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2017)11-0058-09

Effect of melatonin on growth of cabbage DH plant

WANG Gaigai, ZHANG Enhui, LI Nan, WU Xixi

(College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to improve the growth of cabbage regeneration DH plant induced by embryoid in limited period and achieve vegetation by vernalization. 【Method】 The adventitious buds from cabbage microspore culture were planted in MS+Suc 30 g/L+Agar 8 g/L medium with different concentrations of melatonin (MT) (0, 1, 2, 5, 8, and 10 $\mu\text{mol/L}$). In MS+Suc 30 g/L+Agar 8 g/L+5 $\mu\text{mol/L}$ MT medium, different concentrations of NAA (0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 and 0.5 mg/L) were also supplemented. The effects of MT and NAA on growth of different genotypes DH plants were compared and the growth potential of adventitious buds regenerated plantlets of DH-A, DH-B, and DH-C in MS+Suc 30 g/L+Agar 8 g/L+5 $\mu\text{mol/L}$ MT+0.1 mg/L NAA medium were analyzed. 【Result】 The MS medium supplemented with MT was advantaged to growth and development of regeneration plants, and the net growth height, stem diameter, maximum width, number of leaf and rate of bolting in the following year

【收稿日期】 2016-09-14

【基金项目】 国家重点研发计划项目(2016YFD0101702); 陕西省农业科技创新与攻关项目(20016NY-046)

【作者简介】 王改改(1992-), 女, 陕西佳县人, 在读硕士, 主要从事甘蓝生物技术研究。E-mail: wgg1124@126.com

【通信作者】 张恩慧(1960-), 男, 陕西扶风人, 教授, 硕士生导师, 主要从事甘蓝育种与生物技术研究。

were increased by 1.33 cm, 0.17 mm, 0.67 cm, 2.60 and 20.0%, and longer root and more lateral roots were obtained when compared to the control. The regenerated plants grew vigorously when the medium MT and NAA were added, and the net growth of height, stem diameter, maximum width, number of leaf and rate of bolting in the following year were increased by 1.90 cm, 0.52 mm, 0.88 cm, 3.00 and 26.6%, respectively. There was no significant difference in the promoting effect, and the rates of bolting of DH-A, DH-B, DH-C in the following year were increased by 33.4%, 20.0% and 20.0% with 5 $\mu\text{mol/L}$ MT and 0.1 mg/L NAA on the three genotype cabbage DH plants, respectively. 【Conclusion】 The growth vigor of cabbage regeneration DH plant in MS medium supplemented with 5 $\mu\text{mol/L}$ MT and 0.1 mg/L NAA was the best to achieve definite vegetation before winter.

Key words: cabbage; melatonin; embryoid; adventitious buds; DH plant; plant growth

褪黑素(N-乙酰-5-甲氧基色胺, Melatonin, MT)是广泛存在于动物体内的一种小分子神经内分泌激素,主要由松果体分泌^[1]。褪黑素一直被认为是动物所专有,自从Dubbels 1995年发现MT广泛存在于植物中后,对MT在植物中功能的研究引起了学者们的广泛关注^[2-3]。Hernández-Ruiz等^[4]首次提出MT在植物中具有和吲哚乙酸相似的生理功能,并对植物生长有促进作用。Murch等^[5]研究认为,外源MT促进贯叶连翘(*Hypericum perforatum* L.)根的形成,MT浓度影响根的生长发育,低浓度MT可以促进侧根以及不定根的发生,高浓度MT则抑制侧根以及不定根的发生。用高浓度MT短期处理羽扇豆(*Lupinus albus* L.)的下胚轴和子叶,发现MT可以促进其下胚轴形成不定根,子叶也显著扩展^[6-8]。随着MT促进植物生长生根作用的研究,其在植物组织培养试验中得到使用。

结球甘蓝(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.)简称甘蓝,为十字花科芸苔属二年生草本植物。甘蓝育种研究中,利用游离小孢子培养创制新资源纯合自交系,仅需1~2年,并且易克服自交衰退,是缩短甘蓝新品种选育周期的一种最有效的育种方法^[9-10]。目前,甘蓝游离小孢子培养技术作为甘蓝新资源创制的一条重要途径已经取得了重大进展,在培养基中添加噻苯隆(TDZ)和秋水仙碱,显著提高了甘蓝产胚基因型比率、单蕾产胚量和胚状体再生植株比率,甘蓝产胚基因型比率达到80.7%,平均单蕾胚产量达到10.5胚/蕾,胚再生植株比率达到91.0%;获得一批DH系并应用于杂种一代品种配制^[11-16]。但该技术还存在诸多问题,就胚状体至再生植株即DH植株阶段而言,主要难点是胚状体成苗率较低、成苗质量差或生长势弱、苗体生长速度缓慢,至越冬前DH植株营养体达不到春化标准等^[17]。为此,本研究以甘蓝小孢子培养获得的胚状

体不定芽为试验材料,分析MS培养基中MT和NAA质量浓度对其再生长的影响,探寻一种促进胚状体再生DH植株健壮快速生长的褪黑素适宜浓度及与其他激素合理配比,探明缩短甘蓝小孢子胚状体茁壮成苗的时间,使其试管DH植株提早移栽露地,促进DH株健壮生长以顺利越冬完成春化,并为进一步完善甘蓝小孢子培养技术体系提供条件。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料选用甘蓝F1-A、F1-B和F1-C通过其游离小孢子培养获得的DH-A、DH-B和DH-C群体胚状体诱导的不定芽,均由西北农林科技大学园艺学院甘蓝育种课题组提供。

1.2 试验方法

1.2.1 MT对DH植株生长的影响 选取长势和高度一致的DH-A群体胚状体诱导的不定芽,转接到分别添加0,1,2,5,8和10 $\mu\text{mol/L}$ MT的MS+Suc 30 g/L+Agar 8 g/L培养基上培养再生植株,每处理10瓶,每瓶接种1个不定芽,每处理3次重复。在温度23~25 $^{\circ}\text{C}$ 、光照强度2 000~2 500 lx、光照时间14 h/d的条件下培养,20 d后统计DH植株的净生长高度、茎粗、最大叶宽、叶片数、生长势、翌年抽苔率、总根长、根表面积、根体积、根平均直径和根鲜质量,比较不同浓度MT对DH植株生长的影响。

1.2.2 NAA对DH植株生长的影响 选取长势和高度一致的DH-A群体胚状体诱导的不定芽,转接到已筛选获得最适MT浓度的培养基,即MS+Suc 30 g/L+Agar 8 g/L+5 $\mu\text{mol/L}$ MT培养基上,再添加0,0.01,0.05,0.1,0.2和0.5 mg/L的NAA培养不定芽。每处理10瓶,每瓶接种1个不定芽,每处理3次重复。在温度23~25 $^{\circ}\text{C}$ 、光照强度

2 000~2 500 lx、光照时间 14 h/d 的条件下培养,20 d 后统计 DH 植株的净生长高度、茎粗、最大叶宽、叶片数、生长势、翌年抽苔率、总根长、根表面积、根体积、根平均直径和根鲜质量,比较 MT 和 NAA 对 DH 植株生长的影响。

1.2.3 MT 和 NAA 对不同基因型 DH 植株生长的影响 选取长势和高度一致的 DH-A、DH-B 和 DH-C 3 种不同基因型群体胚状体诱导的不定芽,分别转接到 MS + Suc 30 g/L + Agar 8 g/L + 5 $\mu\text{mol/L}$ MT + 0.1 mg/L NAA 固体培养基上培养 DH 植株,均以未添加 MT 和 NAA 培养基为对照,每种基因型接种 10 瓶,每瓶接种 1 个不定芽,每种基因型设置 3 次重复。在温度 23~25 $^{\circ}\text{C}$ 、光照强度 2 000~2 500 lx、光照时间 14 h/d 的条件下培养,20 d 时统计不同基因型 DH 植株的净生长高度、茎粗、最大叶宽、叶片数、生长势、翌年抽苔率、总根长、根表面积、根体积、根平均直径和根鲜质量,比较两种激素对不同基因型 DH 植株生长的影响。

1.2.4 甘蓝 DH 植株主要生长指标的测定 用电子游标卡尺(临沂马尔商贸有限公司)分别测量转接时不定芽的生长高度(cm)和转接 20 d 后再生植株的生长高度(cm)、第 2~3 叶位茎粗(mm)、最大叶片宽度(cm);分别统计转接时不定芽的叶片数和转接 20 d 后再生植株的叶片数。

净生长高度(cm) = 转接 20 d 后再生植株的生

长高度(cm) - 转接时不定芽的生长高度(cm);

叶片数 = 转接 20 d 后再生植株的叶片数 - 转接时不定芽的叶片数;

翌年抽苔率 = 翌年抽苔植株数量 / 全部植株数量 $\times 100\%$ 。

根系参数的测定:处理 20 d 后从培养瓶中取出 DH 植株,蒸馏水冲洗干净根部培养基,用剪刀将根系从茎基部剪下,用根系扫描仪(MRS-9600TFU2L,上海中晶科技有限公司)对根系进行扫描,获得根系总根长(cm)、根表面积(cm^2)、根体积(cm^3)和根平均直径(mm)。

根系鲜质量的测定:处理 20 d 后从培养瓶中取出 DH 植株,蒸馏水冲洗干净根部培养基,滤纸吸干根部水分,切取根部用精度为 0.1 mg 的电子天平(FA2004,上海双旭电子有限公司)测定根系鲜质量。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2016 和 SPSS 13.0 对试验数据进行统计分析,Duncan's 多重比较分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 MT 对甘蓝 DH 植株生长的影响

2.1.1 甘蓝 DH 植株地上部生长势差异比较

MT 对甘蓝 DH 植株地上部生长的影响见表 1。

表 1 MT 对甘蓝 DH 植株地上部生长的影响

Table 1 Effects of MT concentrations on shoot growth of cabbage DH plant

MT 浓度/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) MT concentration	净生长高度 Net height		茎粗 Stem diameter		最大叶宽 Width of maximum leaves		叶片数 Number of leaves		生长势 Growth vigor	翌年抽苔率 Rate of bolting in the following year	
	测定值/ cm	比 CK 增减/%	测定值/mm	比 CK 增减/%	测定值/cm	比 CK 增减/%	测定值	比 CK 增减/%		测定值/%	比 CK 增减/%
	Measured value	Compared to control	Measured value	Compared to control	Measured value	Compared to control	Measured value	Compared to control		Measured value	Compared to control
0	2.39 dC	—	1.55 dC	—	1.62 dB	—	5.40 dD	—	+	33.3 cC	—
1	3.73 bB	56.07	1.58 cdBC	1.94	1.70 cdB	4.94	6.60 cBC	22.22	++	50.0 aAB	16.7
2	4.49 aA	87.87	1.64 bcABC	5.81	1.96 bcAB	20.99	7.40 abAB	37.04	+++	50.0 aAB	16.7
5	3.72 bB	55.65	1.72 aA	10.97	2.29 aA	41.36	8.00 aA	48.15	+++	53.3 aA	20.0
8	3.08 cBC	28.87	1.66 abAB	7.10	2.05 abAB	26.54	6.80 bcBC	25.93	++	46.7 abABC	13.4
10	2.88 cdC	20.50	1.60 bcdBC	3.23	1.77 bcdB	9.26	6.40 cC	18.52	+	36.7 bcBC	3.4

注:1.“+”表示 DH 植株生长状况,“+”越多说明植株生长势越强。下同。

2. 同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。下同。

Note:1.“+” indicates the growth conditions of DH plant. More “+” indicates stronger growth potential. The same below.

2. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$), and uppercase letters indicate extremely significant difference ($P < 0.01$). The same below.

由表 1 可知,MS 培养基中添加不同浓度 MT 对促进甘蓝 DH 植株地上部生长有不同程度的影响。不同处理间 DH 植株净生长高度、茎粗、最大叶宽、叶片数、生长势和翌年抽苔率存在显著或极显著

差异;添加 MT 能快速促进 DH 植株健壮生长,未添加 MT 的 DH 植株瘦小,生长势弱,叶片较小且数量少。在添加不同浓度 MT 的 5 种处理中,DH 植株的各项生长指标值均随着添加 MT 浓度的增

大呈现出先升高后降低的变化趋势,其中植株净生长高度以 2 $\mu\text{mol/L}$ MT 处理效果最好,达到 4.49 cm,比 CK 增加 87.87%;茎粗、最大叶宽、叶片数和翌年抽苔率均以 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 处理效果最好,分别达 1.72 mm,2.29 cm,8.00 片和 53.3%,分别比 CK 增加 10.97%,41.36%,48.15%和 20.0%。由此表明,MS 固体培养基中添加适量浓度的 MT 有利于促进 DH 植株地上部健壮快速生长,其中添加 2 $\mu\text{mol/L}$ 和 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 促进效果较好。

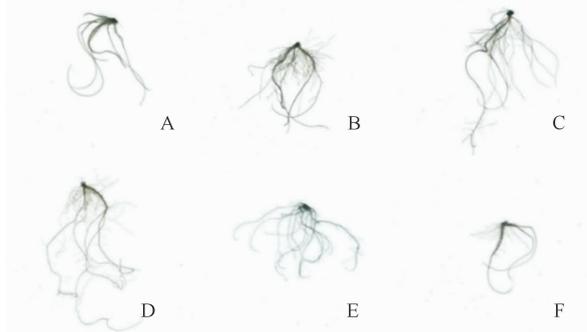
2.1.2 甘蓝 DH 植株地下部生长势差异比较 由表 2 可以看出,MS 培养基中添加不同浓度 MT,处理间 DH 植株根系形态发生了较大的变化。不同处理间 DH 植株总根长(全部根系长度)、根表面积、根

体积、根平均直径和根鲜质量差异显著或极显著。MS 培养基中添加 MT 促进了 DH 植株根系生长,根系变粗、侧根增多(图 1-B-F),而未添加 MT 的 DH 植株根系细小、几乎未长出侧根(图 1-A)。在添加 MT 处理中,根系总根长、根表面积、根体积、根平均直径和根鲜质量均在 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 处理下达到最大,分别为 40.68 cm,34.65 cm^2 ,1.02 cm^3 ,0.50 mm 和 0.30 g/株,分别比对照增加 50.11%,13.20%,34.21%,28.21%和 30.43%。由此表明,MS 培养基中添加一定浓度 MT 能够促进甘蓝根系快速发育,从而有利于 DH 植株健壮生长;特别是在 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 的作用下甘蓝 DH 植株根系生长最茁壮。

表 2 MT 对甘蓝 DH 植株地下部生长的影响

Table 2 Effects of MT concentration on root growth of cabbage DH plant

MT 浓度/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) MT concentration	总根长 Total root length		根表面积 Root surface area		根体积 Measured value		根平均直径 Root diameter		根鲜质量 Root fresh weight	
	测定值/cm	比 CK 增减/%	测定值/ cm^2	比 CK 增减/%	测定值/ cm^3	比 CK 增减/%	测定值/mm	比 CK 增减/%	测定值/ ($\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$)	比 CK 增减/%
	Measured value	Compared to control	Measured value	Compared to control	Measured value	Compared to control	Measured value	Compared to control	Measured value	Compared to control
0	27.10 dD	—	30.61 bAB	—	0.76 dC	—	0.39 cB	—	0.23 dC	—
1	39.61 aA	46.16	32.59 abA	6.47	0.83 bcdBC	9.21	0.43 bcAB	10.26	0.26 bB	13.04
2	33.52 bB	23.69	32.07 abA	4.77	0.90 bB	18.42	0.44 bcAB	12.82	0.29 aA	26.09
5	40.68 aA	50.11	34.65 aA	13.20	1.02 aA	34.21	0.50 aA	28.21	0.30 aA	30.43
8	31.46 cBC	16.09	33.54 abA	9.57	0.89 bcB	17.11	0.42 bcAB	7.69	0.26 bB	13.04
10	28.82 dCD	6.35	26.98 cB	-11.86	0.81 cdBC	6.58	0.47 abAB	20.51	0.24 cBC	4.35



A. 0(CK); B. 1 $\mu\text{mol/L}$; C. 2 $\mu\text{mol/L}$; D. 5 $\mu\text{mol/L}$; E. 8 $\mu\text{mol/L}$; F. 10 $\mu\text{mol/L}$

图 1 不同浓度 MT 处理下甘蓝 DH 植株根系形态的变化

Fig. 1 Changes of root morphology of cabbage DH plant with different concentrations of MT

2.2 NAA 对甘蓝 DH 植株生长的影响

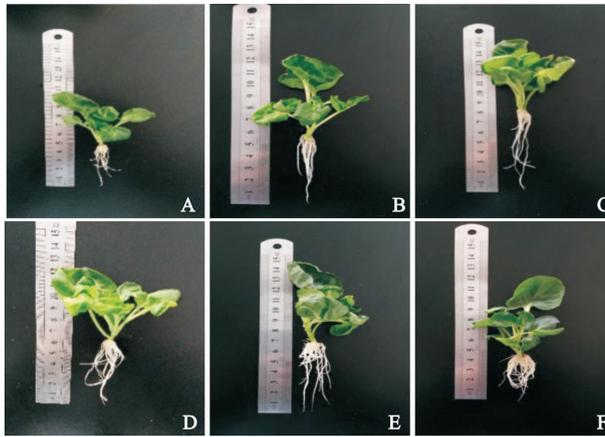
2.2.1 甘蓝 DH 植株地上部生长势差异比较 由表 3 和图 2 可知,在 MS + Suc 30 g/L + Agar 8 g/L + 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 固体培养基中添加一定质量浓度 NAA 更有利于促进 DH 植株的茎叶生长。在添加不同质量浓度 NAA 的处理中,DH 植株的净生长高度、茎粗、最大叶宽、叶片数和翌年抽苔率均较对照(CK)增加,且 NAA 质量浓度处理间存在着显著

或极显著差异;在不同质量浓度 NAA 处理中,添加 0.1 mg/L NAA 作用效果最显著(图 2-D),上述指标较对照分别增加 49.35%,30.77%,38.77%,38.46%和 26.6%,且植株生长势最强;0.01,0.05 和 0.2 mg/L 处理的作用效果次之(图 2-B-E),0.5 mg/L 处理的作用效果较差(图 2-F)。由此得出,在添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 固体培养基上再添加 0.1 mg/L NAA 能更好地促进甘蓝 DH 植株快速健壮生长。

表 3 NAA 对甘蓝 DH 植株地上部生长的影响

Table 3 Effects of NAA concentration on shoot growth of cabbage DH plant

NAA 质量浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NAA mass concentration	净生长高度 Net height		茎粗 Stem diameter		最大叶宽 Width of maximum leaves		叶片数 Number of leaves		生长势 Growth vigor	翌年抽苔率 Rate of bolting in the following year	
	测定值/cm Measured value	比 CK 增减/% Compared to control	测定值/mm Measured value	比 CK 增减/% Compared to control	测定值/cm Measured value	比 CK 增减/% Compared to control	测定值 Measured value	比 CK 增减/% Compared to control		测定值/% Measured value	比 CK 增减/% Compared to control
0	3.85 eE	—	1.69 cB	—	2.27 dD	—	7.80 cB	—	+++	56.7 cB	—
0.01	4.90 bcBC	27.27	1.77 bcB	4.73	3.07 aAB	35.24	8.60 bcB	10.26	++++	73.3 abAB	16.6
0.05	4.55 cdCD	18.18	1.88 bB	11.24	2.81 bBC	23.79	9.40 bAB	20.51	++++	76.7 abA	20.0
0.1	5.75 aA	49.35	2.21 aA	30.77	3.15 aA	38.77	10.80 aA	38.46	+++++	83.3 aA	26.6
0.2	5.29 bAB	37.40	1.79 bcB	5.92	2.65 bcC	16.74	8.00 cB	2.56	++++	66.7 bcAB	10.0
0.5	4.16 deDE	8.05	1.75 bcB	3.55	2.52 cCD	11.01	8.40 bcB	7.69	++++	70.0 bAB	13.3



A. 0(CK); B. 0.01 mg/L NAA; C. 0.05 mg/L NAA; D. 0.1 mg/L NAA; E. 0.2 mg/L NAA; F. 0.5 mg/L NAA

图 2 添加 NAA 后甘蓝 DH 植株茎叶形态的变化

Fig. 2 Changes of shoot morphology of cabbage DH plant with different concentrations of NAA

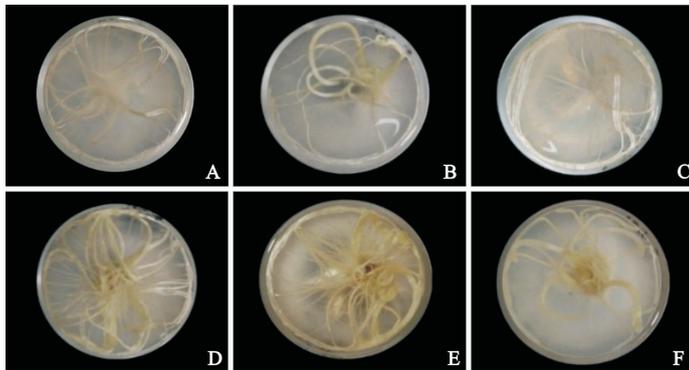
2.2.2 甘蓝 DH 植株地下部生长势差异比较 由表 4 和图 3 可知,在 MS + Suc 30 g/L + Agar 8 g/L + 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 培养基上添加一定质量浓度 NAA,可在 MT 和 NAA 两种激素共同作用下促使 DH 植株根系旺盛生长。添加 NAA 的 DH 植株根系表现出根较粗且根数多,尤其在 0.1 mg/L(图 3-D)和 0.2 mg/L(图 3-E)处理下根系数量明显多于其他处理,其中 0.1 和 0.2 mg/L NAA 处理下 DH 植株根系总根长均 > 60.00 cm,分别比 CK 增加了

37.26% 和 36.25%;根表面积 0.1 mg/L NAA 处理下最大,达 50.24 cm^2 ,比 CK 增加了 50.10%,这也说明 DH 植株根系表面积的增大,有利于促进根系对水分和养分的吸收;根体积、根平均直径和根鲜质量均在 0.1 和 0.2 mg/L NAA 处理下效果较好。由此得出,MS + Suc 30 g/L + Agar 8 g/L + 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 固体培养基上再添加 0.1 或 0.2 mg/L NAA 均能够更好地促进 DH 植株根系旺盛生长。

表 4 NAA 对甘蓝 DH 植株地下部生长的影响

Table 4 Effects of NAA concentration on root growth of cabbage DH plant

NAA 质量浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NAA mass concentration	总根长 Total root length		根表面积 Root surface area		根体积 Root volume		根平均直径 Root diameter		根鲜质量 Root fresh weight	
	测定值/cm Measured value	比 CK 增减/% Compared to control	测定值/ cm^2 Measured value	比 CK 增减/% Compared to control	测定值/ cm^3 Measured value	比 CK 增减/% Compared to control	测定值/mm Measured value	比 CK 增减/% Compared to control	测定值/ ($\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$) Measured value	比 CK 增减/% Compared to control
0	44.50 dC	—	33.47 cB	—	1.06 cB	—	0.56 cB	—	0.28 dB	—
0.01	59.10 bA	32.81	36.65 cB	9.50	1.52 bcAB	43.40	0.79 abAB	41.07	0.31 cB	10.71
0.05	55.10 cB	23.82	45.10 bA	34.75	1.94 abAB	83.02	0.65 bcAB	16.07	0.31 cB	10.71
0.1	61.08 aA	37.26	50.24 aA	50.10	2.29 aA	116.04	0.89 aA	58.93	0.39 aA	39.29
0.2	60.63 aA	36.25	47.05 abA	40.57	2.09 aA	97.17	0.84 abAB	50.00	0.37 bA	32.14
0.5	43.58 dC	-2.07	36.18 cB	8.10	1.74 abAB	64.15	0.74 abcAB	32.14	0.29 cdB	3.57



A. 0(CK); B. 0.01 mg/L NAA; C. 0.05 mg/L NAA; D. 0.1 mg/L NAA; E. 0.2 mg/L NAA; F. 0.5 mg/L NAA

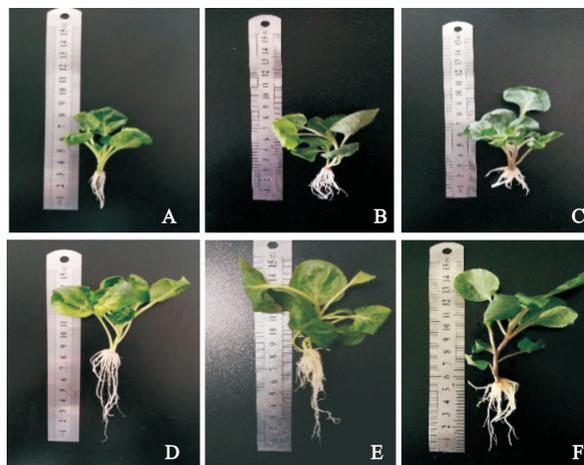
图 3 NAA 处理下甘蓝 DH 植株根系形态的变化

Fig. 3 Changes of root morphology of cabbage DH plant with different concentrations of NAA

2.3 MT 和 NAA 对不同基因型甘蓝 DH 植株生长的影响

2.3.1 不同基因型甘蓝 DH 植株地上部生长势差异比较 从图 4 和图 5 可以看出,在 MS 培养基上添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 和 0.1 mg/L NAA 均能有效促进 3 种基因型 DH 植株茎叶的生长,且 3 种基因型甘蓝 DH 植株的净生长高度、茎粗、最大叶宽、叶片数和翌年抽苔率均无显著性差异;MT 和 NAA 处理植株地上部生长均比对照植株健壮(图 4),其中 DH-A、DH-B 和 DH-C 净生长高度分别较对照增加

149.14%,152.49%和 148.48%;茎粗分别较对照增加 38.46%,38.04%和 38.04%;最大叶宽分别较对照增加 101.90%,101.36%和 104.76%;叶片数分别较对照增加 84.43%,86.80%和 89.80%;翌年抽苔率分别较对照增加 77.41%,42.83%和 40.0%。由此表明,MS 固体培养基中添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 和 0.1 mg/L NAA 均能促进 DH 植株地上部健壮生长,且对不同基因型 DH 植株的促进效果无显著性差异。



A. CK(DH-A); B. CK(DH-B); C. CK(DH-C); D. DH-A; E. DH-B; F. DH-C

图 4 MT 和 NAA 处理下 3 种基因型 DH 植株茎叶形态的变化

Fig. 4 Changes of shoot morphology of three genotypes DH plants under the treatment of MT and NAA

2.3.2 不同基因型甘蓝 DH 植株地下部生长势差异比较 由图 6 可以看出,在 MS 培养基中添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 和 0.1 mg/L NAA 也有利于 3 种基因型甘蓝 DH 植株根系生长。3 种基因型甘蓝 DH 植株根系总根长、根表面积、根体积、根平均直径和根鲜质量均无显著性差异,而添加 MT 和 NAA 有效促进了植株根系数量的增加,根变粗、健壮(图 4)。

添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 和 0.1 mg/L NAA 处理的 3 种基因型甘蓝 DH 植株根系总根长分别较对照增加 101.09%,136.69%和 98.35%;根表面积分别较对照增加 71.04%,72.41%和 68.88%;根体积分别较对照增加 177.01%,171.11%和 180.39%;根平均直径分别较对照增加 120.00%,118.92%和 117.95%;根鲜质量分别较对照增加 73.91%,

69.57%和 72.00%。由此得出,在 MS 固体培养基中添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 和 0.1 mg/L NAA 能促进不

同种基因型甘蓝 DH 植株根系健壮生长。

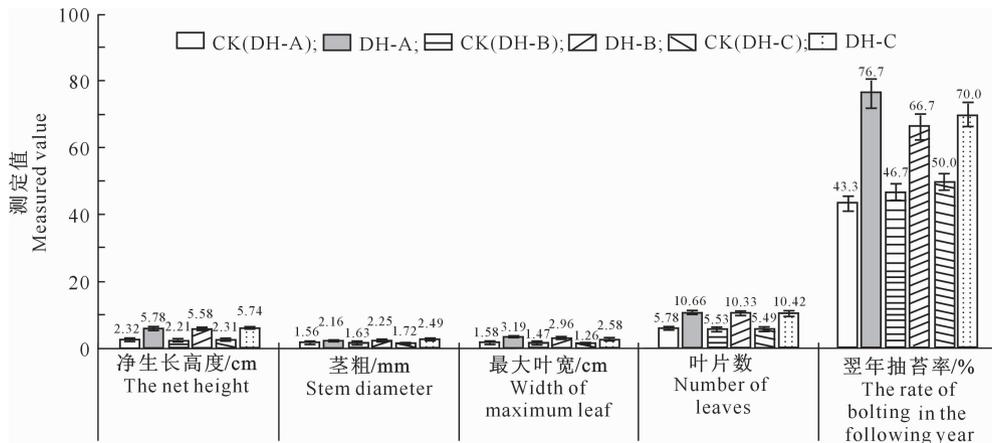


图 5 MT 和 NAA 对不同基因型 DH 植株地上部生长的影响

Fig. 5 Effects of MT and NAA on shoot growth of different genotypes DH plant

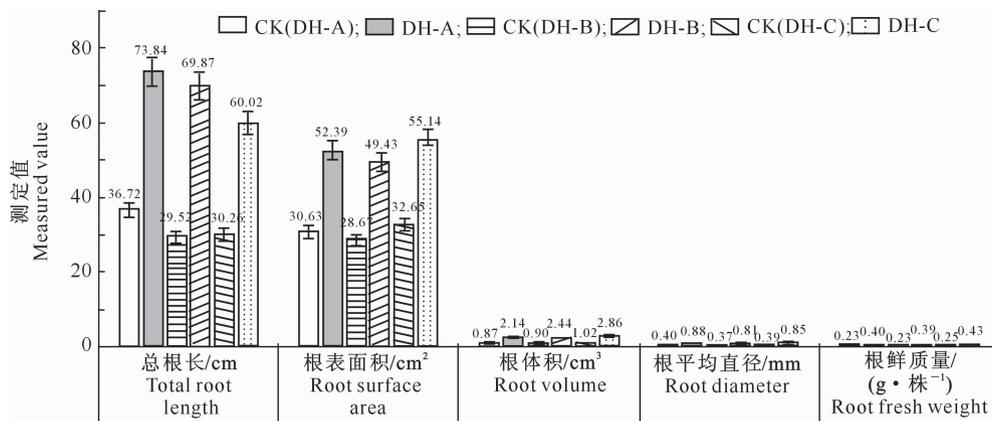


图 6 MT 和 NAA 对不同基因型 DH 植株地下部生长的影响

Fig. 6 Effects of MT and NAA on root growth of different genotypes DH plant

3 讨论

植物组织培养中,培养基附加植物生长调节剂的种类和浓度是影响再生植株生长的主要因素。褪黑素(MT)作为一种植物生长调节剂,具有与生长调节剂吲哚乙酸(IAA)相似的生理功能^[18-20],它能够促进再生植株根茎叶生长。本研究中,在甘蓝胚状体不定芽再生植株培养中添加 MT 能显著提高 DH 植株的生长能力,其中添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 促进 DH 植株根、茎、叶片快速生长的效果最显著,这与前人在其他作物上的研究结果相一致。前人在甘草^[21]再生培养基中添加 MT,高浓度处理再生植株生长较低浓度处理健壮;虎杖^[22]、芥菜^[23]、羽扇豆^[6]、樱桃^[24]等植株再生培养基中添加较低浓度的 MT 显著促进植株生长。本研究结果表明,与未添加 MT 相比较,MS 培养基中添加 5 $\mu\text{mol/L}$ MT 处理再生植株净生长高度、茎粗、最大叶宽和叶片数分

别增加 1.33 cm, 0.17 mm, 0.67 cm 和 2.60 片,根系变粗、侧根增多。这可能与 MT 有利于刺激 DH 植株茎秆形成层细胞分裂、叶片细胞伸长、诱导叶原基分化和促进木质部、韧皮部细胞分化进而促进植株健壮生长发育有关;也可能与前人在芥菜^[23]研究中的结果较低浓度外源 MT 激发了芥菜内源 IAA 的含量,从而促进再生植株快速生长有关;这都有待进一步研究。

甘蓝离体培养中,根茎叶分化对植物生长调节剂的需求不一致,主要由培养基中生长素和细胞分裂素的比例控制。马勇斌等^[25]利用甘蓝 DH 株叶片再生植株,在 MS 培养基中添加 2.0 mg/L 6-BA 和 0.1 mg/L NAA 有利于分化不定芽,其不定芽再生频率达 64.29%。许念芳等^[26]利用甘蓝下胚轴和子叶再生植株,在 MS 培养基中添加 1.0 mg/L 6-BA 和 0.2 mg/L NAA 对下胚轴不定芽的诱导效果较好,芽再生频率达 80.7%;添加 4.0 mg/L 6-BA

和 0.3 mg/L NAA 对子叶不定芽的诱导效果较好,芽再生频率达 50.0%。刘争等^[17]对甘蓝胚状体再生植株生长研究发现,在 1/2MS 培养基中添加 0.1 mg/L NAA 促使小孢子 DH 植株生长速度最显著,生根快,植株长势强。本研究利用胚状体不定芽作为外植体再生植株,认为在 MS 培养基中添加 5 μ mol/L MT 和 0.1 mg/L NAA 有利快速促进再生植株健壮生长,与单一添加 5 μ mol/L MT 相比较,同时添加 5 μ mol/L MT 和 0.1 mg/L NAA 再生植株净生长高度、茎粗、最大叶宽和叶片数分别增加 1.90 cm,0.52 mm,0.88 cm 和 3.00 片,根系旺盛。MT 有利于茎叶细胞分裂和伸长,NAA 有利于根系分生,两者共同作用促进根茎叶生长旺盛。由此表明,不同生长素与细胞分裂素的种类和浓度以及两者不同比例,对甘蓝再生植株不同器官的诱导和生长,与外植体的种类和生长调节剂的功能密切相关。不同植物生长调节剂种类和不同比例之间的相互作用,会引起再生植株不同的生理效应和生长发育。因此,植物组织培养中要获得理想的培养效果,选择适宜植物生长调节剂的种类和比例是关键。

本研究中,将甘蓝 3 种不同基因型的胚状体不定芽,转接到再生植株快速健壮生长的相同培养基上,均有利于再生植株生长。由此表明,甘蓝 DH 植株在附加 MT 和 NAA 两种植物生长调节剂的同一培养基上培养,其生长势不受基因型的影响。因此本研究认为,通过甘蓝小孢子培养创制育种资源时,为了克服胚状体不定芽成苗时间长,苗体长势弱的难题,宜在 不定芽再生植株的 MS 培养基中添加 5 μ mol/L MT 和 0.1 mg/L NAA,可以促使 DH 植株当年达到通过春化的营养体,提高翌年抽苔率。

4 结 论

在甘蓝小孢子胚状体不定芽培养再生 DH 植株的过程中,在 MS+Suc 30 g/L+Agar 8 g/L 培养基中添加 5 μ mol/L MT 和 0.1 mg/L NAA 对再生 DH 植株生长有促进效果,并且不受基因型差异影响。MS 培养基中添加 5 μ mol/L MT 和 0.1 mg/L NAA,再生 DH 植株生长势最强,根系粗壮且数量多,有利于当年提早移栽进而促进甘蓝 DH 植株冬前达到一定的营养体。

[参考文献]

[1] 赵 燕,王东华,赵曦阳.植物中褪黑素的研究进展[J].西北植物学报,2014,34(1):196-205.

- Zhao Y,Wang D H,Zhao X Y. Recent advance on the melatonin in plant [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014,34(1):196-205.
- [2] Dubbels R,Reiter R J,Klenke E,et al. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Pineal Res,1995,18: 28-31.
- [3] Kolar J,Machackova I,Ilnerova H,et al. Melatonin in higher plants determined by radioimmunoassay and liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Biol Rhythm Res,1995,26:406-409.
- [4] Hernández-Ruiz J,Cano A,Arnao M B. Melatonin: a growth-stimulating compound present in lupin tissues [J]. Planta,2004 (220):140-144.
- [5] Murch S J,Campbell S S B,Saxena P K. The role of serotonin and melatonin in plant morphogenesis: regulation of auxin-induced root organogenesis in in-vitro cultured explants of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) [J]. In Vitro Cell Dev Biology Plant,2001(37):786-793.
- [6] Arnao M B,Hernández-Ruiz J. Melatonin promotes adventitious and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. [J]. Journal of Pineal Research,2007,42(2): 147-152.
- [7] Hernández-Ruiz J,Arnao M B. Melatonin stimulates the expansion of etiolated lupin cotyledons [J]. Plant Growth Regulation,2008,55(1):29-34.
- [8] Aloni R. The induction of vascular tissues by auxin [M]//Davies P J. In plant hormones, biosynthesis, signal transduction, action. 3rd ed. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers,2004:471-492.
- [9] 袁素霞,刘玉梅,方智远,等. 结球甘蓝和青花菜小孢子胚植株再生 [J]. 植物学报,2010,45(2):226-232.
- Yuan S X,Liu Y M,Fang Z Y, et al. Plant regeneration from microspore-derived embryos in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) and broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italic* Planch.) [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2010, 45 (2): 226-232.
- [10] 严 准,田志宏,孟金陵. 甘蓝游离小孢子培养的初步研究 [J]. 华中农业大学学报,1999,18(1):10-12.
- Yan Z,Tian Z H,Meng J L. Primary study on isolated microspore culture of cabbage (*Brassica oleracea* L.) [J]. Journal of Huazhong Agricultural University,1999,18(1):10-12.
- [11] 方淑贵,陈文辉,曾小玲,等. 结球甘蓝游离小孢子培养及植株再生 [J]. 园艺学报,2006,33(1):158-160.
- Fang S G,Chen W H,Zeng X L,et al. Isolated microspore culture and plantlet regeneration in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2006, 33 (1):158-160.
- [12] 姜凤英,冯 辉,李 娜,等. 甘蓝类植物游离小孢子培养研究进展 [J]. 辽宁农业科学,2006(5):28-30.
- Jiang F Y,Feng H,Li N, et al. Research advance on isolated microspore culture in cabbage vegetable [J]. Liaoning Agri-

- cultural Sciences, 2006(5):28-30.
- [13] 杨安平, 张恩慧, 王莎莎, 等. 甘蓝类蔬菜小孢子培养研究进展 [J]. 中国农学通报, 2008, 24(7):332-335.
Yang A P, Zhang E H, Wang S S, et al. The advances of studies on microspore culture in cabbage vegetables [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(7):332-335.
- [14] 曾爱松, 冯翠, 高兵, 等. 结球甘蓝小孢子培养技术体系的优化研究 [J]. 华北农学报, 2010, 25(S):40-44.
Zeng A S, Feng C, Gao B, et al. The optimization study of isolated microspore culture system in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2010, 25(S):40-44.
- [15] 刘莹莹, 张恩慧, 许忠民, 等. 甘蓝小孢子胚状体分化不定芽再生植株的研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 41(8):149-154.
Liu Y Y, Zhang E H, Xu Z M, et al. Adventitious bud regeneration plant differentiation from cabbage microspore embryoid [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2013, 41(8):149-154.
- [16] 张恩慧, 程芳芳, 杨安平, 等. 株龄、栽培环境及温度对甘蓝小孢子诱导出胚的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014, 42(1):120-124.
Zhang E H, Cheng F F, Yang A P, et al. Influence of plant age, cultivation environment and temperature on cabbage embryo induction by isolated microspore culture [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2014, 42(1):120-124.
- [17] 刘争, 张恩慧, 程永安, 等. 影响甘蓝小孢子 DH 植株生长的几个因素 [J]. 西北农业学报, 2016, 25(4):605-611.
Liu Z, Zhang E H, Cheng Y A, et al. Influence of several factors on growth of DH plants regenerated from microspore in cabbage [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2016, 25(4):605-611.
- [18] Kolar J, Machackova I. Melatonin in higher plants: occurrence and possible functions [J]. Journal of Pineal Research, 2005, 39(4):333-341.
- [19] Hernández-Ruiz J, Cano A, Arnao M B. Melatonin act as a growth-stimulating compound in some monocot species [J]. Journal of Pineal Research, 2005, 39(2):137-142.
- [20] Pelagio F R, Munoz P E, Ortiz C R, et al. Melatonin regulates *Arabidopsis* root system architecture likely acting independently of auxin signaling [J]. Journal of Pineal Research, 2012, 53(3):279-288.
- [21] Afreen F, Zobayed S M A, Kozai T. Melatonin in *Glycyrrhiza uralensis*: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation [J]. Journal of Pineal Research, 2006, 41(2):108-115.
- [22] 张来军, 贾敬芬, 王凤琴, 等. 外源褪黑素对离体培养虎杖生长的影响 [J]. 江苏农业科学, 2015, 43(8):58-60, 105.
Zhang L J, Jia J F, Wang F Q, et al. Effect of melatonin on the growth of *in vitro* cultured *Polygonum cuspidatum* [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2015, 43(8):58-60, 105.
- [23] Chen Q, Qi W B, Reiter R J, et al. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea* [J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166(3):324-328.
- [24] Sarropoulou V N, Theios I N, Dimassi-Theriu K N. Melatonin promotes adventitious root regeneration in *in vitro* shoot tip explants of the commercial sweet cherry rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus* L.), Gisela 6 (*P. cerasus* × *P. canescens*), and MxM 60 (*P. avium* × *P. mahaleb*) [J]. Journal of Pineal Research, 2012, 52(1):38-46.
- [25] 马勇斌, 张恩慧, 李殿荣, 等. 利用甘蓝游离小孢子不定芽叶片再生 DH 植株技术研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(4):111-116.
Ma Y B, Zhang E H, Li D R, et al. Study on plantlet regeneration technique of DH lines with leaf of adventitious buds from isolated microspore culture in cabbage (*Brassica oleracea* L.) [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2011, 39(4):111-116.
- [26] 许念芳, 张恩慧, 李殿荣, 等. 甘蓝 CMS 下胚轴和子叶的离体培养与植株再生研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, 38(4):115-120.
Xu N F, Zhang E H, Li D R, et al. Study on tissue culture and plant regeneration of hypocotyl and cotyledon of cytoplasmic male sterile line in cabbage [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2010, 38(4):115-120.

(上接第 57 页)

- [17] 何道航, 徐汉虹, 田永清, 等. 0.3% 印楝素乳油防治小菜蛾效果 [J]. 现代化农业, 2001(6):8.
He D H, Xu H H, Tian Y Q, et al. Control efficacy of 0.3% azadirachtin EC against *Plutella xylostella* L. [J]. Modernizing Agriculture, 2001(6):8.
- [18] 王桂清, 姬兰柱, 张弘, 等. 中国植物源杀虫剂研究进展 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(3):510-517.
Wang G Q, Ji L Z, Zhang H, et al. Current progress in research of botanical insecticides in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(3):510-517.
- [19] 吴文君, 曹金娟. 植物源农药的质量控制 [J]. 农药科学与管理, 1997, 61(1):24-25.
Wu W J, Cao J J. The quality control of botanical pesticide [J]. Pesticide Science and Administration, 1997, 61(1):24-25.
- [20] 马树杰, 李雪娇, 马志卿, 等. 中国粗榧杀虫活性初步研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(8):155-161.
Ma S J, Li X J, Ma Z Q, et al. Preliminary studies on the insecticidal activity of extracts from *Cephalotaxus sinensis* [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2016, 44(8):155-161.