

变异焊菜组织培养及无性系建立的研究

孙立业, 张 卓, 全俊龙, 佟少明, 姜长阳*

(辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁 大连 116029)

摘要: 以野生变异焊菜根上部的生长点为外植体, 以附加不同浓度的 BA、IAA、NAA、2,4-D、GA 的 MS、1/2 MS 或 1/3 MS 为培养基, 进行了芽伸长生长培养、芽分化培养和试管苗生根培养研究。结果表明: 1/2 MS + IAA 0.2 mg/L 是促进变异焊菜培养芽伸长生长的理想培养基, MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L + GA 0.5 mg/L 是变异焊菜芽分化培养的理想培养基, 1/3 MS + IAA 0.5 mg/L 是变异焊菜试管苗生根培养的理想培养基; 变异焊菜试管苗移植后, 有利的变异性状保持不变。

关键词: 焊菜; 组织培养; 愈伤组织; 无性系

中图分类号: Q949.95

文献标识码: A

文章编号: 1008-1631(2007)05-0014-03

Study on Tissue Culture and Asexuality Establishment of Variation of *Rorippa indica* (L.) Hiem

SUN Li-ye, ZHANG Zhuo, QUAN Jun-long, TONG Shao-ming, JIANG Chang-yang*

(College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China)

Abstract: Corms of saffron crocus (*Crocus sativus*) were used as explants and cultured in the dark on MS medium supplemented with BA, IAA, NAA, 2,4-D or GA. The results showed that the optimum medium to promote bud growth, bud regeneration and root regeneration was 1/2 MS supplemented with IAA 0.2 mg/L; MS containing BA 0.5 mg/L, NAA 0.1 mg/L and GA 0.5 mg/L, 1/3 MS containing IAA 0.5 mg/L. The transferred cormlets could remain the advantageous variation characteristics.

Key words: *Rorippa indica* (L.) Hiem; Tissue culture; Callus; Clone

焊菜 [*Rorippa indica* (L.) Hiem] 属十字花科焊菜属 1a 生草本野生植物^[1], 全草入药, 其嫩茎叶可炒食或烧汤。辽宁南部地区的湿地或水边, 发现极少数耐寒且植物体的地上部和地下部均比非变异的植株大 3 倍左右的自然变异植株。由于分离作用种子种植后有利变异性状无法保持。利用分株方法进行人工繁殖, 无法满足人们的栽种需要。虽然目前已有十字花科植物组织培养及无性系建立的报道^[2-10], 但迄今未见焊菜属植物组织培养与无性系建立报道。为此, 对具有有利变异性状的焊菜进行了组织培养及无性系建立的研究, 以期获得具有有利变异性状的种苗, 满足人们的需要。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为变异焊菜。

1.2 方法

1.2.1 灭菌处理 将刚开始萌发的变异焊菜采回后除掉根的下部, 把具有较多生长点的上部放到 250 mL 的磨口广口瓶中, 用自来水振荡洗涤 20 min 左右, 再用 0.05% 安利洗涤剂振荡洗涤 2~3 min, 用自来水漂洗至泡沫消失时转移到超净工作台上, 加 75% 酒精灭菌 10~20 s, 迅速倒入无菌水, 洗涤 3 次, 加 0.05% HgCl_2 溶液振荡灭菌 1 min, 再加入等体积无菌水, 使 HgCl_2 灭菌液的浓度变为 0.025%, 继续振荡灭菌 13 min, 接着用无菌水振荡洗涤 5 次。获得无菌材料。

1.2.2 培养条件 以 MS、1/2 MS 或 1/3 MS 为基

收稿日期: 2007-07-31

作者简介: 孙立业 (1986-), 女, 吉林人, 在校本科生, 从事植物组织培养研究。

通讯作者: 姜长阳 (1954-), 男, 辽宁大连人, 教授, 从事生物技术研究。

本培养基, 附加不同浓度的 BA、IAA、NAA、2,4-D 和 GA。其中, 以 MS 为基本培养基时加蔗糖 30 g/L, 以 1/2 MS 为基本培养基时加蔗糖 15 g/L, 以 1/3 MS 为基本培养基时加蔗糖 10 g/L。培养基胨力强度 180 g/cm^{2[2]}, pH 值 5.8 ~ 6。培养温度 25 ℃, 光照强度 2 500 Lx, 光照时间 12 h/d。

1.2.3 试验方法

1.2.3.1 不同培养基对嫩芽生长的影响。在超净工作台上, 用解剖刀将根上部刚开始或即将开始萌发的芽挖下来后, 分别接种到附加 NAA 0.2 mg/L 和 IAA 0.2 mg/L 的 1/2 MS 培养基上。每处理接种外植体 10 个。在无光照条件下进行无菌芽的生长培养。观察芽的生长情况; 40 d 时统计生长芽数量, 计算芽生长率。

将培养生长的芽剪成具有 1 个侧芽的茎段, 接种到相同培养基上, 在培养条件不变的情况下进行继代培养。统计每代培养所需时间。连续培养 3 代, 第一代接种了 40 个侧芽, 第二代与第三代各接种了 100 个侧芽。观察培养芽的长势。

1.2.3.2 不同激素对芽分化培养的影响。将上述条件下培养的芽, 剪成具有顶芽或 1~2 个侧芽的茎段, 接种到附加不同浓度的 BA (0.0、0.5、1.0、1.5 和 2.0 mg/L)、IAA (0.0、0.1 和 0.5 mg/L) 和 NAA (0.0、0.1 和 0.5 mg/L) 的 MS + GA 0.5 mg/L 培养基上。每处理接种外植体 40 个, 4 次重复。光照条件下进行芽分化培养。观察芽的分化情况; 40 d 时统计分化芽数量, 计算分化率。

把分化丛生芽剪成具有顶芽或 1~2 个腋芽的茎段, 接种到相同培养基上进行分化继代培养。连续继代培养 10 代, 观察分化芽分化率、单芽分化数和长势。每次试验接种 100 个材料, 4 次重复。

1.2.3.3 不同培养基对生根的影响。将上述分化丛生芽剪成具有顶芽或 1~2 个腋芽、高 1.5 cm 左右的茎段, 接种到附加不同浓度 NAA (0.5、1.0 和 1.5 mg/L)、IAA (0.5、1.0 和 1.5 mg/L) 和 2,4-D (0.5、1.0 和 1.5 mg/L) 的 1/3 MS 培养基上进行生根培养。每处理接种外植体 40 个, 4 次重复。观察芽生根情况; 30 d 时统计生根株数和每株生根数量, 计算生根率。

把生根率和生根数量最多的试管苗剪成长 1.5 cm、具有 1~2 个顶芽或侧芽的茎段, 接种到相同的培养基上进行生根继代培养。在继代培养条件不变的情况下, 统计每代培养所需时间和计算繁

殖系数。连续生根继代培养 12 代, 观察生根试管苗的长势和计算繁殖系数。每次试验接种 50 个外植体, 4 次重复。

1.2.3.4 不同移栽和扦插基质对试管苗生长的影响。试验材料为 1/3 MS + IAA 0.5 mg/L 培养基上继代培养的生根试管苗, 试验基质为河沙、炉灰渣、肥沃园土、1/2 河沙 + 1/2 肥沃园土和 1/2 炉灰渣 + 1/2 肥沃园土 5 种。其中, 移栽试验是将试管苗移栽到 5 种基质上, 在温度 20~27 ℃、湿度 90% 以上、没有直射光的条件下进行培养; 扦插试验是将试管苗剪成长 1.5 cm 左右、具有 1~2 个生长点的茎段, 下部剪口在 50 mg/L 的 NAA 溶液中处理 3 min 后扦插到 5 种基质上。每组处理 50 个苗试管。4 次重复, 观察试管苗的生长情况; 30 d 统计成活数量, 计算成活率。

将移栽和扦插成活的变异焊菜试管苗, 于七八月小批量移植到河流旁的潮湿处, 翌年 4 月中旬观察越冬和生长情况。将培养的变异焊菜作为野菜食用, 比较与非变异焊菜的口感差异。

2 结果分析

2.1 不同培养基对嫩芽生长的影响

观察发现, 培养 20 d 左右时, 1/2 MS + IAA 0.2 mg/L 培养基上接种的材料开始萌发或生长。培养 40 d 时, 接种在 1/2 MS + NAA 0.2 mg/L 培养基上的材料仍不能生长, 并出现了褐化现象; 而接种在 1/2 MS + IAA 0.2 mg/L 培养基上的材料长势较好, 生长率达到了 100% (表 1)。观察还发现, 接种于 1/2 MS + IAA 0.2 mg/L 培养基上的每个芽均能长成具有 4~5 个芽 (1 个顶芽和 3~4 个侧芽)、高 3~4 cm 的黄色芽。继代培养结果显示, 35 d 培养 1 代, 连续培养 3 代, 培养芽的长势保持不变。这表明 1/2 MS + IAA 0.2 mg/L 是促进变异焊菜培养芽伸长生长的理想培养基。

2.2 不同激素对芽分化培养的影响

观察发现, 培养到 20 d 左右时芽开始分化。培养到 40 d 时, 接种在 BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基上的材料, 分化率高达 97.5%, 单芽分化的芽数达到了 6.6 个 (表 2), 且分化芽可生长形成高 3~4 cm、长势较好的丛生芽。分化继代培养结果显示, 连续继代培养 10 代, 分化芽的分化率、单芽分化数和长势基本保持不变。这表明 MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L + GA 0.5 mg/L 是变异焊菜分化培养的理想培养基。

表 1 不同培养基对芽生长的影响
Table 1 Influence on bud growth of different medium

培养基种类	芽生长情况	芽生长率 (%)
1/2 MS + NAA 0.2 mg/L	不生长, 褐化	0
1/2 MS + IAA 0.2 mg/L	生长较好	100

表 2 不同激素对芽分化培养的影响
Table 2 Influence on bud regeneration of different Hormone

BA (mg/L)	IAA (mg/L)	NAA (mg/L)	分化芽数 (个)	分化率 (%)	不定芽数 (个)	长势
0.0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	
0.0	0.1	0.0	0	0.0	0.0	
0.5	0.1	0.0	0	0.0	0.0	
1.0	0.1	0.0	0	0.0	0.0	
1.5	0.1	0.0	0	0.0	0.0	
2.0	0.1	0.0	0	0.0	0.0	
0.0	0.5	0.0	0	0.0	0.0	
0.5	0.5	0.0	0	0.0	0.0	
1.0	0.5	0.0	0	0.0	0.0	
1.5	0.5	0.0	0	0.0	0.0	
2.0	0.5	0.0	0	0.0	0.0	
0.0	0.0	0.1	0	0.0	0.0	
0.5	0.0	0.1	39	97.5	6.6	+++
1.0	0.0	0.1	28	70.0	4.7	++
1.5	0.0	0.1	20	50.0	5.9	++
2.0	0.0	0.1	15	37.5	3.2	+
0.0	0.0	0.5	0	0.0	0.0	
0.5	0.0	0.5	0	0.0	0.0	
1.0	0.0	0.5	0	0.0	0.0	
1.5	0.0	0.5	0	0.0	0.0	
2.0	0.0	0.5	0	0.0	0.0	

* +++ 表示长势好, ++ 表示长势较好, + 表示长势一般。

2.3 不同培养基对生根的影响

观察发现, 培养 10 d 左右时, 有的培养基上能够形成可见根原基。培养 30 d 时, 材料接种在附加的 2, 4-D 培养基上不能诱导生根, 在附加 NAA 的培养基上也难以诱导生根; 而在所有附加 IAA 的培养基上均可诱导生根。尤其是附加 IAA 0.5 mg/L 的培养基上, 此时材料诱导生根率高达 100%, 生根数量多达 7.4 条/株 (表 3), 试管苗高 5~6 cm 且长势非常旺盛。将该培养基上培养的试管苗进行生根继代培养, 结果显示, 在继代培养条件不变的情况下, 25 d 可培养 1 代生长非常旺盛的试管苗, 每一代的繁殖系数为 3.1; 连续生根继代培养 12 代, 生根试管苗的长势和繁殖系数保持不变。表明 1/3 MS + IAA 0.5 mg/L 是变异焊菜试管苗生根培养的理想培养基。

2.4 不同移栽和扦插基质对试管苗生长的影响

试验结果显示, 以炉灰渣为移栽和扦插基质,

成活率高 (分别为 93% 和 89%), 且成活苗生长旺盛; 移栽苗与扦插苗长势一致, 根系均非常发达。这表明炉灰渣是变异焊菜试管苗移栽和扦插的理想基质。

表 3 不同培养基对生根的影响
Table 3 Influence on root regeneration of different medium

培养基种类	生根株数 (株)	生根率 (%)	生根数量 (条/株)
1/3 MS + NAA 0.5 mg/L	13	32.5	3.4
1/3 MS + IAA 0.5 mg/L	40	100.0	7.4
1/3 MS + 2, 4-D 0.5 mg/L	0	0.0	0.0
1/3 MS + NAA 1.0 mg/L	0	0.0	0.0
1/3 MS + IAA 1.0 mg/L	27	67.5	5.5
1/3 MS + 2, 4-D 1.0 mg/L	0	0.0	0.0
1/3 MS + NAA 1.5 mg/L	0	0.0	0.0
1/3 MS + IAA 1.5 mg/L	12	30.0	2.4
1/3 MS + 2, 4-D 1.5 mg/L	0	0.0	0.0

潮湿地移植结果显示, 不论是移栽成活还是扦插成活的变异焊菜试管苗, 均可正常越冬, 而且生长非常旺盛。这种培养的变异焊菜作为野菜食用, 其口感与非变异的焊菜无差异。

3 讨论

该研究以变异焊菜为材料, 建立其无性系, 不仅为焊菜的快速繁殖奠定了技术基础, 而且还证明焊菜的野生有利变异植株通过人工的方法可以使其种质得到保存。

把移栽和扦插成活的变异焊菜试管苗, 于七八月份小批量移植到河流旁的潮湿地, 翌年春天观察发现, 移植的试管苗不仅可以正常越冬, 而且生长非常旺盛, 食用时口感与非变异的焊菜无差异。这说明通过组织培养的方法建立起变异焊菜无性系, 完全能保持变异焊菜的有利变异性状。

采用芽分化继代培养的方法进行繁殖, 40 d 的繁殖系数为 6.6, 按照这个速度进行人工繁殖, 每年可繁殖出约 6.6^9 个试管苗; 采用生根继代培养的方法进行繁殖, 25 d 的繁殖系数为 3.1, 按照这个速度进行人工繁殖, 每年可繁殖出约 3.1^{14} 个试管苗。说明不论采用哪种方法进行培养繁殖, 每年都能繁殖出大量的试管苗, 达到人们对变异焊菜种苗大量需要的目的。尽管采用芽分化继代培养的方法繁殖速度要比采用生根继代的方法快得多, 但在生产上应采用生根继代的方法进行繁殖。这是因为

(下转第 38 页)

评价,从中选择适合郑州城市的行道树种。

3.2 切实加强行道树种的引种工作

有计划地引进国内外观赏价值高的行道树树种,并通过试种—选择—推广的程序以丰富树种,但要反对盲目引种。

3.3 提高现有行道树的养护管理水平,增强树势,延长树木寿命

加强现有行道树的养护管理水平,对行道树进行科学管理,如浇水、施肥、修剪、病虫害防治等要根据不同树种和树势因地制宜进行,以提高养护管理水平,增强树势,提高观赏价值,延长树木寿命,保持城市街道绿化景观的长期稳定。

3.4 加强行道树的苗木培育

近几年全国各地大搞绿化,各地农村绿化苗木面积大幅增加,可供选择的行道树种的品种和规格越来越多。但现在的苗圃,培育树种带有一定的盲目性。因此搞好行道树的规划,加强技术指导,促使行道树培育工作走上良性发展的轨道。

3.5 重新建立与郑州市建设配套的大型苗圃

选择市郊良好地块,建立市级苗圃,归属园林局直接管理,以便在城市规划的前提下,有目的和有目标地针对郑州市培养行道树,主要是培养乡土树种,适当引进常绿树种。

3.6 郑州市区行道树树种推荐

根据目前郑州市城市行道树的现状和各种树种特性,推荐郑州市可用的行道树种为:(1)落叶阔叶类:法桐、国槐、毛白杨、垂柳、馒头柳、白

蜡、银杏、栾树、重阳木、榉树、合欢、千头椿、臭椿、朴树、无患子、红玉兰、白玉兰、马褂木、杜仲、喜树、椴树、白榆、七叶树、枫树、杂交马褂木、楸树和青桐;(2)落叶针叶类:池杉和水杉;(3)常绿阔叶类:大叶女贞、广玉兰、枇杷、乐昌含笑、深山含笑、木荷、杜英和香樟;(4)常绿针叶类:雪松、黑松、油松和大别山五针松。

参考文献:

- [1] 李 静,余皖苏,吴诗华,等.行道树研究[J].中国园林,1997,(4):34-35.
- [2] 苏雪痕.植物造景[M].北京:中国林业出版社,1994.
- [3] 余晓丽,张彩莹,庞发虎,等.绿化中应用树状花木的构想[J].安徽农业科学,2005,33(1):88-89,93.
- [4] 张 莉,高宏秀.徐州市区行道树现状及发展对策[J].安徽农业科学,2006,34(22):5863-5864.
- [5] 陈有民.园林树木学[M].北京:中国林业出版社,2002.
- [6] 张 涛,段大娟.略论小城镇园林绿化树种规划[J].中国园林,1998,(5):21-22.
- [7] 刘克胜.昆明市行道树现状和设想[J].中国园林,1990,(3):40-42.
- [8] 孟欣慧.中小城市道路绿化存在的问题及发展对策[J].安徽农业科学,2007,35(15):4499-4500.

[责任编辑 李布青]

(上接第 16 页)

采用芽分化继代培养的方法所繁殖的试管苗生长较弱,无效苗较多;而采用生根继代的方法所繁殖的试管苗,不仅几乎没有无效苗,而且所繁殖的试管苗生长非常旺盛,移栽和扦插都容易成活。

参考文献:

- [1] 郑汉臣.中国食用本草(植物卷)[M].上海:上海辞书出版社,2003.80-81.
- [2] 沈宗英,沈曾培,张志亮.花椰菜幼苗下胚轴诱导再生植株[J].植物生理学通讯,1984,20(1):37.
- [3] 李曙轩,裘文达.花椰菜组织培养形成植株[J].园艺学报,1981,8(3):33-35.
- [4] 吕德扬,王 超,陈正华,等.芥菜型油菜原生质体植株的再生[J].植物学报,1986,28(5):477-479.
- [5] 张 鹏,陵定原.提高菜心离体植株再生频率的研究[J].植物学报,1995,37(11):902-908.

- [6] 王晓佳,陈世儒,宋 明.皱叶甘蓝原生质体培养与植株再生[J].植物学报,1993,35(2):107-114.
- [7] 张兰英,李耿光,陈如珠,等.菜心下胚轴原生质体培养和植株再生[J].植物学报,1994,36(2):105-110.
- [8] 贾士荣,杨美珠.芸薹属作物原生质体培养与细胞融合[J].植物生理学通讯,1988,24(5):7-22.
- [9] 罗 科,罗 鹏.甘蓝型油菜叶柄原生质体培养与植株再生[J].植物学报,1991,32(3):237-239.
- [10] 傅幼英,贾士荣.结球甘蓝原生质体培养及植株再生[J].园艺学报,1985,12(2):171-175.
- [11] 安利佳,姜长阳.植物组织培养导论[M].大连:辽宁师范大学出版社,1996.28-30.

[责任编辑 杜晓东]