

苳菜离体快繁技术的研究

李智辉¹, 年玉欣¹, 王新颖¹, 罗凤霞²

(1. 沈阳农业大学 林学院, 沈阳 110161; 2. 北京市农林科学院 蔬菜研究中心, 北京 100097)

摘要:为提高苳菜(*Nymphoides peltatum*)繁殖率,研究了苳菜的离体快繁技术。结果表明:带芽的嫩茎段为较适宜的外植体,升汞消毒时间以7min为宜;适宜的初代培养基为MS+BA0.5mg·L⁻¹+NAA0.05mg·L⁻¹;适宜的继代培养基为MS+BA1.0~1.5mg·L⁻¹+NAA0.10~0.15mg·L⁻¹;适宜的生根培养基为MS+NAA0.2mg·L⁻¹。

关键词:苳菜;离体繁殖;培养基

中图分类号:S636.9

文献标识码:A

文章编号:1000-1700(2007)04-0609-03

Technology of in Vitro Propagation of *Nymphoides peltatum*

LI Zhi-hui¹, NIAN Yu-xin¹, WANG Xin-ying¹, LUO Feng-xia²

(1. College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China;

2. Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100089, China)

Abstract: The reproduction rate of *Nymphoides peltatum* is often very low when reproduced from seed or stem planting. In order to improve its reproduction rate, technology of in vitro propagation of *Nymphoides peltatum* was studied. The results indicated that the young stem segment with buds was the best explant; the optimum sterilization time with 1g·L⁻¹ HgCl₂ was 7 min; MS+BA0.5mg·L⁻¹+NAA0.05mg·L⁻¹ was the optimum medium for primary culture; the most suitable medium for proliferation was MS+BA1.0~1.5mg·L⁻¹+NAA0.10~0.15mg·L⁻¹ and MS+NAA0.2mg·L⁻¹ was the best medium for root induction.

Key words: *Nymphoides peltatum*; in vitro propagation; medium

苳菜[*Nymphoides peltatum* (Gmel) O. Kuntze],也称苦菜,为龙胆科、睡菜亚科多年生浮水草本。自生于静水的湖泊、池塘和沼泽水面^[1]。花多且花期长,是点缀水景的佳品,且具有较好的净化水质之功效^[3,4]。苳菜可播种或扦插繁殖,但因其种子采集难、扦插繁殖速度慢,故均难以满足对其种苗的大量需求。苳菜的组织培养研究国内外均未见报道,仅见国外有同属植物印度苦菜(*Nymphoides indica*)和水皮莲(*Nymphoides cristatum*)有相关报道^[5,6]。本试验对苳菜的组织培养技术进行了研究,以期解决苳菜人工快繁问题。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于2006年5月~2007年7月于沈阳农业大学林学院组培室进行,供试苳菜为采自辽宁省丹东市。

1.2 方法

1.2.1 不同外植体的试验 以苳菜老茎段、嫩茎段、叶、根、花蕾、花为外植体,将外植体在自来水下冲洗干净,消毒后,接种到无菌固体MS培养基中,25d时调查外植体的成活率。

1.2.2 不同消毒时间的试验 以苳菜的嫩茎段位外植体,用75%酒精浸泡30s,放入1g·L⁻¹HgCl₂中分别消毒3,5,7,9min,然后用无菌水冲洗5次,接种到无菌固体MS培养基中,每处理接种100块外植体,20d后调查不同消毒时间下外植体成活率。

1.2.3 不同培养基的试验 将诱导出的小苗分别转接到添加不同浓度NAA和BA的MS培养基上,25d时调查幼苗的成苗数、苗高、平均叶宽、长势。

1.2.4 不同培养基对生根的试验 将诱导出的小苗分别转接到添加了不同浓度NAA的MS和1/2MS培养基上,25d时调查苳菜苗的根长、根粗、根数量、幼苗长势。

收稿日期:2007-01-16

作者简介:李智辉(1975-),男,沈阳农业大学讲师,博士研究生,从事园林植物栽培生理研究。

所有培养基蔗糖含量均为 $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 琼脂含量 $7\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 值为 5.8, 培养温度 $20\sim 25^\circ\text{C}$, 光照强度为 $1500\sim 2000\text{lx}$, 光照时间 $16\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 不同外植体对诱导成苗的影响

由表 1 可以看出, 采用苜蓿的不同部位作为外植体, 对诱导成苗的影响较大, 其中以带芽的嫩茎段诱导成苗情况最好, 带芽的老茎段较差, 其他部位均未诱导成苗。因此, 适宜的外植体部位是带芽的嫩茎段。

表 1 不同部位的外植体在培养基上诱导分化的情况
Table 1 Induction rate of different explants in medium

培养基 Medium	老茎段 Old stem segment	嫩茎段 Young stem segment	叶 Leaf	根 Root	花蕾 Flower bud	花 Flower
MS	4	28	0	0	0	0
MS+BA0.3mg·L ⁻¹ +NAA0.03mg·L ⁻¹	4	36	0	0	0	0
MS+BA0.5mg·L ⁻¹ +NAA0.05mg·L ⁻¹	16	64	0	0	0	0
MS+BA1.0mg·L ⁻¹ +NAA0.10mg·L ⁻¹	12	56	0	0	0	0

2.2 消毒时间对外植体成活的影响

由表 2 可以看出, 随着消毒时间的延长, 污染率逐渐降低, 当消毒时间达到 9min 时, 污染率仅为 15.2%, 但成活率却仅为 39.6%。当消毒时间为 7min 时, 污染率较低 (16.7%), 而成活率较高 (45.8%), 因此, 适宜的消毒时间为 7min。

表 2 不同消毒时间对苜蓿成活的影响
Table 2 Effects of different sterilization time on the survival rate of *Nymphoides peltatum*

时间 Time/min	3	5	7	9
污染率 Pollution rate /%	32.2	29.1	16.7	15.2
成活率 Survival rate /%	57.7	49.7	45.8	39.6

2.3 不同初代培养基对诱导成苗的影响

由表 1 可以看出, 不同的初代培养基对诱导成苗有较大影响, 在一定范围内诱导率随激素浓度升高而升高。当激素浓度为 $\text{BA}0.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{NAA}0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 成苗情况最好, 成苗率达 64%, 但激素浓度再升高, 叶片会出现皱缩现象。因此, 较适宜的初代培养基为 $\text{MS}+\text{BA}0.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{NAA}0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.4 不同培养基对苜蓿继代培养的影响

由表 3 可以看出, 激素浓度对苜蓿增殖有很大影响, 无激素时, 苜蓿无增殖, 激素浓度偏低时, 增殖系数较小。当激素浓度在 $\text{BA}1.0\sim 1.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{NAA}0.10\sim 0.15\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 增殖系数较大, 可以达到 4.7~5.2。当激素浓度高于此范围时, 虽有增殖, 但叶片出现皱缩, 生长异常。因此, 适宜的继代培养基为 $\text{MS}+\text{BA}1.0\sim 1.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{NAA}0.10\sim 0.15\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 3 苜蓿在不同继代培养基上的生长状况
Table 3 Effects of different subculture media on proliferation

培养基 Medium	每芽成苗数 No. of shoots induced from per bud	苗高/cm Seedling height	平均叶宽/cm Leaf width	长势 Growth vigour
MS	1.0	2.8	0.9	生长健壮无增殖, 有少量根产生 Healthy, no propagation, few roots
MS+BA1mg·L ⁻¹	1.6	2.6	0.8	少量增殖 A little propagation
MS+NAA0.1mg·L ⁻¹	1.2	2.6	1.0	无增殖, 但已生根 No propagation, but roots induced
MS+BA0.5mg·L ⁻¹ +NAA0.05mg·L ⁻¹	2.9	2.1	0.7	有增殖, 苗长势一般 Some propagation, common growth vigour
MS+BA1mg·L ⁻¹ +NAA0.1mg·L ⁻¹	4.7	2.7	0.7	长势良好 Very healthy
MS+BA1.5mg·L ⁻¹ +NAA0.15mg·L ⁻¹	5.2	2.3	0.6	长势较好 Healthy
MS+BA2mg·L ⁻¹ +NAA0.2mg·L ⁻¹	4.4	1.9	0.7	叶片厚而皱缩 Thick and shrinking leaves
MS+BA2.5mg·L ⁻¹ +NAA0.25mg·L ⁻¹	3.2	1.7	0.8	叶片厚而皱缩 Thick and shrinking leaves

2.5 不同培养基对苕菜生根的影响

从表4可以看出,以1/2MS为基本培养基,生根量较少,虽然根较长,但根细,且苗长势较弱;而以MS为基本培养基,苗生长正常,生根量较大,根也较粗。当NAA浓度达 $0.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,生根量最大,平均生根数为12.3条。因此,适宜苕菜的生根培养基为MS+NAA $0.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表4 苕菜在不同生根培养基上的生根情况
Table 4 Effects of different media on root induction

培养基 Medium	每株根数 No. of roots	平均根长/cm Length of root	根粗/mm Width of root	长势 Growth vigour
1/2MS	2.0	1.3	0.3	
1/2MS+NAA $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	6.5	1.8	0.3	长势较弱
1/2MS+NAA $0.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	8.5	2.4	0.5	Unhealthy
1/2MS+NAA $0.3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	10.3	1.8	0.4	
MS	1.8	1.1	0.6	
MS+NAA $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	7.5	1.7	0.9	生长良好
MS+NAA $0.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	12.3	2.2	1.1	Healthy
MS+NAA $0.3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	11.9	1.9	1.0	

3 讨论

由于苕菜是水生植物,因此外植体消毒是一个难题。试验结果表明,以根、叶、花蕾和花作为外植体污染都很严重,且均为细菌污染。这可能是由于苕菜生于水中,沾染的细菌较多,采用常规消毒方法很难清除引起的。另外,在本试验所用到的培养基上,苕菜主要是定芽和不定芽成苗,且以嫩茎段效果最好,很少形成愈伤组织,这与NIRANJAN(2000)^[5]由愈伤组织成苗的研究结果不同。究其原因,可能是因为试验所用的外植体和培养基中添加的激素种类不同,本试验所用的激素为NAA和BA,而NIRANJAN是以花芽为试验材料,所用的激素为2,4-D,另外还添加了椰乳。试验还发现,苕菜在以1/2MS为基本培养基的生根培养基上生根量较少,苗长势也较弱,可能是由于1/2MS培养基中的营养元素不充足所致。这与JENKS(2000)在印度苕菜上的研究结果相近^[6]。苕菜离体培养的时间超过35d,常出现叶片褪绿软化现象,这可能是由于营养匮乏所致,也可能是由于离体培养条件下,苕菜本身产生了一些有毒物质,积累到一定程度后发生了自毒作用,抑制其生长,具体原因还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 赵家荣.水生花卉[M].北京:中国林业出版社,2002.
- [2] 邢世瑞.苕菜作浮萍药用的历史及其本草考证[J].宁夏医学杂志,1992,14(1):43-44.
- [3] 张秀玉,柴团耀.植物耐重金属机理研究进展[J].植物学报,1999,41(5):453-457.
- [4] 顾龚平,吴国,陆长梅,等.苕菜对镉污水的净化作用及其机制探讨[J].农村生态环境,2000,16(3):9-14.
- [5] NIRANJAN M H, SUDARSHANA M S. In vitro plant regeneration in *Nymphoides cristatum* (Roxb.) O. Kuntze[J]. Phytomorphology, 2000, 50(3-4): 343-344.
- [6] JENKS MA, KANE ME, MCCONNELL DB. Shoot organogenesis from petiole explants in the aquatic plant *Nymphoides indica*[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2001, 63: 1-8.

[责任编辑 马迎杰]