

耧斗菜的组织培养

李群^{1,*}, 赵富群^{1,2}, 陈丽萍¹, 蒋娜¹, 孟亚婷¹

¹四川师范大学生命科学学院, 成都 610101; ²华南农业大学林学院, 广州 510642

Tissue Culture of *Aquilegia vulgaris* L.

LI Qun^{1,*}, ZHAO Fu-Qun^{1,2}, CHEN Li-Ping¹, JIANG Na¹, MENG Ya-Ting¹

¹College of Life Sciences, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China; ²College of Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

1 植物名称 耧斗菜(*Aquilegia vulgaris* L.)。

2 材料类别 幼叶叶片、叶柄。

3 培养条件 愈伤组织诱导和增殖培养基: (1) MS+2,4-D 0.5~2.0 mg·L⁻¹ (单位下同)+6-BA 0.5; (2) MS+NAA 0.2~1.5+6-BA 0.2; (3) MS+NAA 0.2~1.5+6-BA 2.0。不定芽分化及增殖培养基: (4) MS+NAA 0.2~1.0+6-BA 0.5; (5) MS+NAA 0.1~0.5+6-BA 0.5。生根培养基: (6) 1/2MS+NAA 0.1~1.0; (7) 1/2MS+IBA 0.2、1.0。上述各培养基均含 0.7% 琼脂、3% 蔗糖, pH 6.0~6.5。培养温度为(21±2)℃, 光照强度为 40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 将嫩叶叶片、叶柄分别剪下, 然后用适量洗衣粉浸洗 10 min 后, 流水冲洗 30 min, 用 75% 酒精消毒 20 s, 无菌水冲洗 2 次后再用 0.1% 升汞灭菌, 叶片处理 3 min, 叶柄处理 5 min, 然后于无菌操作台上用无菌吸水纸吸干表面水分, 叶片剪去其周围叶缘、叶柄剪成 2 cm 左右。

4.2 愈伤组织的诱导和增殖 将外植体分别接种于培养基(1)~(3)上, 先置于黑暗中培养 3 d, 后转入光照培养箱中培养。外植体培养 5 d 左右, 叶片开始出现皱缩, 叶柄两端开始膨大; 培养 10 d 左右后, 叶片边缘、叶柄两端陆续有愈伤形成, 其出现愈伤组织方式同毛茛科大花飞燕草(何小玲和王金发 1998)和花毛茛的方式相同(李洪忠等 2004)。在培养基(1)、(3)中, 随着 2,4-D、NAA 浓度的增加, 出现愈伤组织时间短, 出愈率高; 当 2,4-D 超过 2.0 mg·L⁻¹ 或 NAA 超过 1.5 mg·L⁻¹ 时, 愈伤组织呈褐黄色, 并很快褐化死亡。而在培养基(2)上, 愈伤组织出现较晚, 愈伤量小, 出愈率低, 愈伤组织深黄色且较硬实, 增殖较慢甚至不增殖。比较培养基(1)、(3)中

愈伤组织生长状况发现, 首先, 从外植体种类来看, 叶柄的出愈率明显大于叶片的; 其次, 从生长调节物质作用来看, 2,4-D 诱导愈伤组织的作用大于 NAA。总之, 愈伤组织诱导的实验结果表明, 在培养基 MS+2,4-D 1.0+6-BA 0.5 上叶片愈伤诱导效果最好, 诱导率为 28.72%; 在培养基 MS+NAA 1.5+6-BA 2.0 上, 叶柄愈伤诱导效果最好, 诱导率为 64.56%。且用培养基 MS+2,4-D 0.5+6-BA 0.5 和培养基 MS+NAA 0.5+6-BA 2.0 作为继代培养基, 愈伤组织增殖较快且呈致密状态, 每 20 d 左右继代一次, 可继代增殖 3~4 次后转入不定芽分化培养基中。

4.3 不定芽的分化和增殖 选取质地较紧的愈伤组织切成 1 cm×1 cm 大小, 继代于培养基(4)中, 继代 15 d 后, 有绿色芽点分化。在 NAA 0.2 mg·L⁻¹ 的培养基中, 芽分化的同时出现根的分化; 在 NAA 1.0 mg·L⁻¹ 的培养基中, 愈伤组织褐化严重, 部分愈伤组织分化出畸形的叶和芽。在培养基 MS+NAA 0.5+6-BA 0.5 中, 芽的分化效果最好(图 1), 分化率高达 80%。将分化出的芽点转移至培养基(5)中, 芽在 MS+NAA 0.1+6-BA 0.5 中长势好, 分化快, 20 d 后芽增殖倍数达 7.32。随着 NAA 浓度的增加, 不定芽叶片逐渐呈现黄色, 当 NAA 浓度达 0.5 mg·L⁻¹ 时, 新生丛生芽生长状态差且少许叶片枯萎。

4.4 生根 待芽长到 5 cm 左右高时, 将芽切下, 转接到培养基(6)、(7)中, 培养 20 d 后, 所有幼苗基部均有白色根产生, 但随着 NAA、IBA 浓度的增加, 幼苗基部出现愈伤组织、叶片逐渐枯萎。当 NAA 0.1 mg·L⁻¹ 或 IBA 0.2 mg·L⁻¹ 时, 幼苗基部有较多丛

收稿 2008-10-23 修定 2008-12-04

* E-mail: liqun01234@163.com; Tel: 028-84480660

生根产生, 两者对根的生长无明显差别, 生根率均达90%以上(图2)。

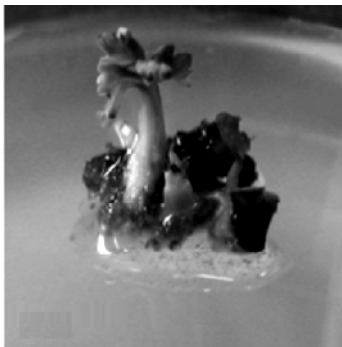


图1 耧斗菜愈伤组织的分化



图2 耧斗菜的生根

4.5 试管苗的炼苗与移栽 试管苗在生根培养基中生长30 d左右、生长健壮时进行移栽。移栽前, 将培养瓶瓶头解开, 保留密封膜培养1 d后, 将培养瓶密封膜打开, 置于室内自然光下炼苗3~5 d, 然后将试管苗从瓶中取出, 清水冲净根表面的培养基, 移入蛭石:沙土:腐殖土=1:1:1混合的基质中, 保湿遮荫。成活率高达80%以上。

5 意义与进展 耧斗菜是毛茛科(Ranunculaceae)耧斗菜属植物。是一种耐寒的多年生宿根草本植物。花型独特、色彩丰富、花期较长(5~7月), 具有较高观赏价值, 广泛运用于园林绿化、家居绿化和切花。此外, 耧斗菜的各种器官还有不同的作用: 其根含糖类物质, 可制饴糖或酿酒; 种子含油, 其植株中含有的黄酮素、皂苷成分, 有较高的药用价值。耧斗菜主要靠播种和分株繁殖, 而其发芽率、圃地出苗率和分株繁殖系数都较低, 来年的成花受播种时间影响, 不能满足生产需求。组培技术可以加快耧斗菜快速繁殖, 或许可以解决上述问题。耧斗菜的组织培养尚未见报道。

参考文献

- 何小玲, 王金发(1998). 大花飞燕草的组织培养及植株再生. 植物生理学通讯, 34 (1): 39
李洪忠, 彭世勇, 于艳, 冯艳秋, 关丽霞, 林海静(2004). 花毛茛叶片组织培养的初步探索. 辽宁农业职业技术学院学报, 6 (3): 4