

## 浮毛茛的组织培养与植株再生

吴侠, 张鑫, 王亚芬, 姜长阳\*

辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁大连 116029

### Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Ranunculus natans* C. A. Mey.

WU Xia, ZHANG Xin, WANG Ya-Fen, JIANG Chang-Yang\*

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

1 植物名称 浮毛茛(*Ranunculus natans* C. A. Mey.), 又称水毛。

2 材料类别 基生茎。

3 培养条件 愈伤组织诱导培养基:(1) MS+6-BA  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (单位下同); (2) MS+6-BA 1+IBA 0.6; (3) MS+6-BA 1+IAA 0.6; (4) MS+6-BA 1+2,4-D 0.6; (5) MS+6-BA 1+NAA 0.6。愈伤组织分化培养基:(6) 1/2MS+6-BA 0.2+NAA 0.1; (7) 1/2MS+6-BA 0.2+ NAA 0.5; (8) 1/2MS+6-BA 0.2+NAA 1; (9) 1/2MS+6-BA 0.2+NAA 1.5。生根培养基:(10) MS+NAA 0.2; (11) 1/2MS+NAA 0.2; (12) 1/3MS+NAA 0.2。上述MS培养基中加  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖, 1/2MS培养基中加  $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖, 1/3MS培养基中加  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖。所有固体培养基琼脂的含量均为  $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 6.0。光强  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 光照时间  $12 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ ; 温度  $18^\circ\text{C}$ 。愈伤组织分化培养时光强为  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 培养温度为  $21^\circ\text{C}$ 。

#### 4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 将3月中旬在水塘浅水区采集的浮毛茛幼苗去掉叶子和根系后, 用画笔刷洗基生茎 10 min 左右, 放入 250 mL 的磨口广口瓶中, 用自来水冲洗 30 min 后, 加 0.05% 的安利洗涤剂振荡洗涤 20 min, 再用自来水振荡洗涤至完全没有泡沫为止, 移至超净台上, 用 75% 的乙醇灭菌 15 s 后, 迅速用无菌水清洗 4 次, 接着用 0.03% 的  $\text{HgCl}_2$  溶液振荡灭菌 10 min, 再用无菌水振荡清洗 5 次, 即获得无菌材料。

4.2 愈伤组织的诱导 用解剖刀将基生茎切成长 0.2 cm 左右的茎块后, 接种到培养基(1)~(5)上, 进行愈伤组织的诱导培养。接种 50 d 时, 在培养基(1)~(3)上基本未见变化, (4)、(5)上开始形成愈伤组织。随后, 愈伤组织迅速生长, 培养到

90 d 时, 培养基(4)、(5)上的愈伤组织诱导率均达 100%。观察表明, 在培养基(4)上诱导生长的愈伤组织为浅黄松软状, 为没有分化能力的愈伤组织; 在培养基(5)上诱导的愈伤组织为绿色的颗粒状(图 1), 培养到 90 d 时, 伴随着愈伤组织的生长, 少数愈伤组织颗粒会分化出不定芽。在培养基(5)上诱导培养的愈伤组织经过连续 9 代的继代培养, 不仅愈伤组织生长速度加快了 1 倍左右, 而且绿色颗粒状形态保持不变。



图1 浮毛茛的愈伤组织培养

4.3 分化培养 把在培养基(5)上继代培养的绿色颗粒状愈伤组织接种到培养基(6)~(9)上进行分化培养。培养 30 d 左右, 培养基(6)上的部分愈伤组织颗粒分化出绿色芽点, 培养到 65 d 时, 愈伤组织颗粒分化率达到 89% (图 2); 在培养基(6)上继续培养 15 d 左右, 绿色的芽点就会分化生长成具有少许根的丛生芽。将其切成基部具有愈伤组

收稿 2007-06-25 修定 2007-08-18

资助 辽宁师范大学教学改革项目(20050101123)。

\* 通讯作者(E-mail: changyangjiang@126.com; Tel: 0411-84258983)。

织的不定芽,接种到培养基(6)上进行分化继代培养,15 d开始分化,60 d时分化形成旺盛的丛生不定芽,平均每块愈伤组织上为9.6个。

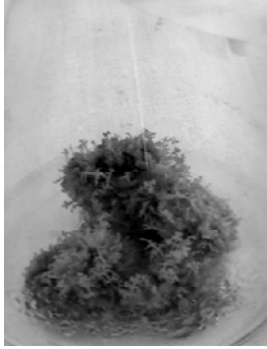


图2 浮毛茛愈伤组织的分化培养

**4.4 试管苗的生根** 将不定芽从基部剪开形成单芽后,接种到培养基(10)~(12)上进行生根培养。在培养基(11)和(12)上培养7~10 d均能生根,但培养基(12)较培养基(11)的根原基形成早2~3 d,根生长速度也较快,25 d时生根率为100%,平均每株生根5.5条,根长3 cm左右,生根试管苗生长较为旺盛(图3)。



图3 浮毛茛不定芽的生根培养

**4.5 试管苗的移栽** 将试管苗从三角瓶中取出,立即洗去根部培养基,栽到下部为7~8 cm厚的鱼塘土、上面约为10 cm深清水的烧杯等容器中,在保持温度15℃左右的条件下,成活率达90%以

上。移栽40 d左右,试管苗生长旺盛(图4)。将移栽成活的试管苗于5月中下旬移植到鱼塘浅水区,小批量的移栽成活率为99%。移植试管苗的当年长势与野生苗的一样,6月下旬至7月上旬可正常开花。



图4 浮毛茛生根苗移栽成活

**5 意义与进展** 浮毛茛属于毛茛科毛茛属多年生沉水草本植物,全草含白头翁素、毛茛甙等化学成分,具有杀菌作用。近年来,辽宁部分地区有人将浮毛茛栽种到鱼塘的浅水区后,草鱼等鱼类疾病明显减少。但由于这种水生植物在北方难以形成种子,即使形成了种子在水中的发芽率也非常低,并且在自然条件下不能进行无性繁殖,因此无法满足农民的需要。本文采用组织培养的方法获得了浮毛茛的试管苗,为满足农民栽植的需要提供了可能。毛茛科植物的组织培养已有宣威乌头(王定康等2004)、乌头(胡延玉和伍光庆1985)和大花飞燕草(何小玲和王金发1998)的报道,但浮毛茛的组织培养与植株再生的报道尚未见。

#### 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): 39~40  
 胡延玉,伍光庆(1985). 乌头的组织培养与植株再生. 植物生理学通讯, (5): 37  
 王定康,郭丽红,翟书华(2004). 宣威乌头的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 40 (4): 464