

美洲落葵的组织培养及快速繁殖

张云峰¹, 严胜荣¹, 谢庆华¹, 桑林¹, 谢世清²

(1. 云南师范大学 生命科学学院, 昆明 650092; 2. 东南亚薯类作物研究与培训中心 昆明 650201)

摘要:以美洲落葵试管苗的茎段为材料, 通过正交实验设计, 以平均增殖倍数和茎段平均长度为指标, 对美洲落葵的组织快繁培养基进行了筛选。结果表明: $MS+0.08\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{BA}+0.03\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{NAA}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{GA}_3$ 是最佳培养基, 在该培养基中, 5 种材料的平均增殖倍数均在 20 倍以上, 除 U2 外, 茎段平均长度提高均在 7 cm 以上。在添加 $1/2\text{ MS}+0.03\text{ mg/L}$ 的生根培养基中, 7~10 d 开始长根, 15 d 后即可长出 1.0~2.0 cm 的须根 3~6 条, 生根率可达 100%。

关键词: 美洲落葵; 茎段; 平均增殖倍数

中图分类号: S 636.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)11-0172-03

美洲落葵(*Ulluco*, *Ullucus tuberosus*), 作为安地斯地区的四大大块茎作物之一, 在植物学分类上属落葵科(Bassellaceae), 块根落葵(*Ullucus*)属^[1], 国内也有人将其

称为乌卢库薯^[2]。该属在南美地区具有丰富的遗传多样性, 目前发现 70 多个克隆或生态株系, 块根的色泽具有白、黄、绿、红紫色^[3,4]。由于其在安第斯地区的食物组成中占有重要的地位, 尽管没有充足的科学依据, 当地妇女认为食用美洲落葵有助减轻怀孕和分娩中的痛苦^[5]。现代的研究表明, 美洲落葵的含水量一般高于 75%、蛋白质含量为 1%, 碳水化合物含量为 10%~14%, 氨基酸组分中除缺少色氨酸和缬氨酸外, 其余的含量均较为平衡; 同时由于其叶片含有丰富的钙和类胡萝卜素, 因此是典型的菜食两用型作物^[6]。在原产地,

第一作者简介: 张云峰(1964), 男, 副教授, 主要从事植物遗传及植物资源研究。E-mail: xqinghua@vip.sina.com.

通讯作者: 谢庆华(1958-), 女, 高级农艺师, 主要从事资源评价及植物资源开发。

基金项目: 云南省农业厅国际合作资助项目(YNPG-CIP)。

收稿日期: 2007-06-26

[1] 顾玉成, 吴金平. 利用离体培养技术筛选抗病突变体的研究进展[J]. 湖北农业科学, 2004(2): 56-58.

[2] 张秀省, 张荣涛, 曹岚等. EMS 诱变的长春花细胞系突变研究[J]. 中草药, 2004, 35(11): 1293-1296.

Effect by EMS Treating *Asparagus officinalis* Callus in Vitro

JIAN Wen-lei, LU Gang

(Institute of Vegetable Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: The effect of Ethyl methyl sulfonate(EMS) treating on the proliferation and regeneration of in vitro callus from *Asparagus officinalis* seedling was studied using three varieties, 'UC800', 'Guanjun', 'Shuofeng'. The proliferation rate and growth rate of the callus was found to be significantly different among different genotypes, and the proliferation rate of the variety 'Shuofeng' were highest. The callus was obviously inhibited on the medium containing 0.5% EMS, and more significantly on the higher concentration of 0.7% EMS. The effect was depended on the genotypes, and the callus from 'Guanjun' was most susceptible to EMS treatment among three test varieties. The regeneration rate of the in vitro callus was significantly affected by the combinations of different plant growth regulators in the media and the highest rate with 61.8% was found in percent of bulblet when cultured in the MS media containing with $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{KT}$. When compared with different genotypes, the Guanjun was most easy for induction the stem. The combination of in vitro callus culture and EMS treatment will provide a potential tools for screening the mutant with biotic and abiotic resistance in asparagus breeding program.

Key words: *Asparagus officinalis*; callus; EMS; Mutant induction

美洲落葵适应的生态条件为:海拔2 400~2 500 m, 年降水500~600 mm, 年活动积温20℃以下的高海拔地区。云南作为高海拔地区,在理论上应该是该作物的理想种植地。为此云南省与国际马铃薯中心合作,从中心引进5份美洲落葵资源材料,在云南进行引种、栽培示范,以扩大云南的蔬菜种类。

1 材料与方法

以国际马铃薯中心所提供的U3、U4、U2、U1、U7使用试管苗为试验材料,以MS为培养基,添加BA、NAA、GA₃,设不同浓度水平,按正交设计L₉(3⁴)配制培养基,同时培养基添加泛酸钙2.0 mg/L、3%蔗糖及0.7%琼脂粉,培养基的pH均为5.8,每个处理共计60个茎段,分6瓶培养。培养温度为25℃左右,光照时间16 h/d,光照度3 000 lx。通过植物组织培养,为美洲落葵大面积提供种苗、种质资源离体保存、品种定向改良等研究提供试验依据。

2 结果分析与讨论

2.1 无性繁殖系的建立

将试管苗茎段切为长度为3 cm左右且带腋芽小段,接种于诱导培养基中,3 d后茎段上的腋芽开始萌动,培养15 d后,腋芽萌发到长度为2~3 cm时,将腋芽萌动形成的茎条切下转入新的诱导培养基中,茎条会不断生长,同时在茎段与培养基接触的部位会形成丛生芽(图1)。将长度大于5~6 cm的茎段切割为带有腋芽的小段,每段上至少有2个腋芽,重新接种到增殖培养基上,经过15 d后又可进行切割、繁殖;形成的丛芽分割后,再接种于增殖培养基上,经过20~25 d又可形成大量的丛芽。如此操作可得到大量的茎段和丛芽。此步的繁殖系数为20~25倍。

2.2 激素及不同外材对繁殖率的影响

利用正交设计进行培养基设计,将BA的浓度设0.01、0.05、0.08 mg·L⁻¹, NAA浓度设为0.03、0.05、0.1 mg·L⁻¹, GA₃浓度0.0、0.5、1.0 mg·L⁻¹,以U3为材料(每瓶接种10个茎段),培养15 d后的茎段平均长度及平均增殖倍数见表1。从表1中可以看出,BA浓度为0.01、0.05、0.08 mg·L⁻¹时,茎段平均长度分别为3.57、4.30、5.37 cm,平均增殖倍数分别为10.57、13.03、16.93,表明随着BA浓度的升高,茎段长度及增殖倍数都在增加。而NAA浓度的增加,尽管对于增殖倍数没有明显的影响,但对茎段平均长度还是有一定的影响,NAA从0.03、0.05增至0.1 mg·L⁻¹时,茎段平均长度从4.83、3.57变为4.83。GA₃对平均增殖倍数及茎段平均长度的影响,表现与NAA的类似,随着浓度的增加,增殖倍数及茎段平均长度不一定增加。

从表1中还可看出,在各种组合的培养基中,以平均增殖倍数及茎段平均长度为指标,以培养基6的效果

最好,茎段平均长度达到7.5 cm,平均增殖倍数达到25.6倍。其次是培养基5,茎段平均长度达到5.3 cm,平均增殖倍数达到21.4倍。培养基1的效果最差,茎段平均长度仅为3.6 cm,平均增殖倍数仅为5.8倍。经过F检验,BA、NAA、GA₃ 3因素对平均增殖倍数、茎段平均长度的F值分别为0.538、1.173; 0.002、0.674; 16.216、2.147,因此除NAA对平均增殖倍数的影响不显著外,其余的均存在显著差异。LDS多重比较结果,BA、NAA添加不同剂量对平均增殖倍数和茎段平均长度均存在差异显著;GA₃添加0.5 mg/L与添加1.0 mg/L、不加间差异显著。

表1 不同浓度BA、NAA、GA₃处理组合对增殖的影响

处理	BA / mg · L ⁻¹	NAA / mg · L ⁻¹	GA ₃ / mg · L ⁻¹	平均增殖 倍数	茎段平均 长度 / cm
1	0.01	0.03	0	5.8	3.6
2	0.05	0.05	0	9.3	4.2
3	0.08	0.1	0	13.5	5.7
4	0.01	0.05	0.5	19.7	3.6
5	0.05	0.1	0.5	21.4	5.3
6	0.08	0.03	0.5	25.6	7.5
7	0.01	0.1	1.0	6.2	3.5
8	0.05	0.03	1.0	8.4	3.4
9	0.08	0.05	1.0	11.7	2.9
K1		39.8	28.7		
K2		40.7	66.7		
K3		41.1	26.3		
K1	10.57	13.27	9.57		
K2	13.03	13.57	22.23		
K3	16.93	13.70	8.77		
G1	3.57	4.83	4.50		
G2	4.30	3.57	5.47		
G3	5.37	4.83	3.27		

以6号为培养基,以U3、U4、U2、U1、U7的茎段为材料,试验重复3次,每瓶接种10个茎段,培养15 d后的茎段平均长度及平均增殖倍数见表2。从表2中可以看出,培养基6基本适合于所有的株系,平均增殖倍数均在20倍以上,尽管对U2的茎段平均长度的提高较小,但对其他株系的提高均在7.0 cm以上,与U3的提高是一致的。6号培养基适合于所试4个美洲落葵生态型的增殖。

表2 在培养基6中不同材料对增殖的影响

材料	平均增殖倍数				茎段平均长度 / cm			
	1	2	3	平均	1	2	3	平均
U3	25.6	25.2	24.9	25.2	7.5	7.4	7.5	7.5
U4	22.7	23.2	21.7	22.5	8.4	7.9	8.2	8.2
U2	27.4	26.9	26.5	26.9	5.4	4.9	5.3	5.2
U7	21.1	19.6	20.7	20.4	7.3	7.6	7.2	7.4
U1	26.4	25.7	26.0	26.0	8.2	8.5	8.2	8.3

2.3 不定根诱导及练苗

将高度大于6 cm的茎段切为带有2~3个腋芽的小段及高约1~2 cm的健壮小芽切下接种在1/2MS添加不同浓度NAA的生根培养基中。结果表明,在不添

加 NAA 的培养基中, 茎段及幼芽生根数目少而且缓慢, 培育 20 d 后, 平均生根率为 11.9%, 平均生根 2.8 条; 在添加 0.03 mg/L 的培养基中, 7~10 d 开始长根, 15 d 后即可长出 1.0~2.0 cm 的须根 3~6 条, 生根率可达 100%。将生根苗取出, 洗去粘附的培养基, 移入装有预先消毒基质的穴盘中, 穴盘选用 128 孔的塑料育苗盘(图 2)。移栽完毕后用喷雾器将基质浇透直至穴盘底部有水留下为止, 将穴盘放置在带有适度遮阳的小棚中, 经



图 1 美洲落葵组培苗



图 2 美洲落葵穴盘苗

参考文献

- [1] King S R. Four endemic Andean tuber crops: promising food resource for agricultural diversification[J]. Mountain Res. And Devel., 1987, 7(1):43-53.
- [2] 旺姆, 次卓嘎, 次白, 等. 乌卢库薯(*Ullucus tuberosus*——一种南美块茎作物[J]. 西藏农业科技, 2002, 24(1): .41-45.
- [3] Rousi A P, Jolliola L, Pietil J Salo & M. YliRekola Morphological variation among clones of Ulluco (*Ullucus tuberosus*, basellaceae) collected in Southern Peru[J]. Economic Bot., 1989, 43(1): 58-72.

- [4] Yamaguchi M. World vegetables: Principles, production and nutritive values[M]. AVI, Westport, CT, 1983.
- [5] Ruskin F R. Anonymous National Research Council. Lost crop of the Incas: Little known plants of the Andes with promise for world-wide Cultivation[M]. Washington, D. C: National Academy Press, 1989: 83-113.
- [6] King S E, Gershoff S N. Nutritional evaluation of three underexploited Andean tuber: *Oxalis tuberosum* (Oxalidaceae), *Ullucus tuberosus* (Basellaceae), and *Tropaeolum tuberosus* (Tropaeolaceae)[J]. Econ. Bot. 1987, 41(4): 503-511.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Ullucus tuberosus*

ZHANG YunFeng¹, YAN Sheng-Qi¹, Xie Qing-Hua¹, San Ling¹, XIE Shi-qing²

(1. College of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China; 2. East-south Asia Reseach and Train Center for Potato, Kunming 650201, China)

Abstract: Axillary node segment from test-tube plant provided by CIP was used as explants to establish the regeneration system of *Ullucus tuberosus*. Propagation was selected according to experimental design using orthogonal table using Mean multiple per generation and Mean length of shoot as index. Result showed that MS medium supplemented with $0.08 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{GA}_3$ was the most suitable one for proliferation of axillary node segment taken from growing shoot, and axillary bud could proliferation above 20 times per 25 days in 5 clones provided by CIP, except clone U2, mean length of total axillary node increasing above 7cm. In addition, 1/2 primary medium supplement with 0.03 mg/L NAA was efficient for rooting of node, rhizogenesis start after 7 to 10 d, 15 d later 3 to 6 fibres root could extend 1.0~2.0cm long. radication rate was 100%.

Key words: *Ullucus tuberosus*; Axillary node segment; Mean multiple per generation