

菜用大黄组培苗不定芽增殖能力比较研究

吴亚蓓, 蔡祖国, 张有铎, 赵一鹏

(河南科技学院 园林学院, 河南 新乡 453003)

摘 要:以 5 个欧洲菜用大黄品种‘RT’、‘RO’、‘RV’、‘R5’和‘R19’种子为试材,以组培苗茎尖为外植体,在 MS+1.0 mg/L NAA+1.0 mg/L 6-BA+5.3 g/L 琼脂+30 g/L 蔗糖培养基上进行连续 24 d 的离体培养,研究不同欧洲菜用大黄品种组培苗不定芽增殖能力差异。结果表明:5 个品种的不定芽再生方式可以分为基部愈伤组织萌发再生不定芽和腋芽萌发再生不定芽。各品种间不定芽再生能力差异显著,‘RT’的再生不定芽增殖速度最快,增殖系数最大,为 3.71,‘R19’的再生不定芽增殖速度最慢,增殖系数最小,为 1.96;根据各品种增殖系数连续变化曲线得出,菜用大黄合理的继代周期为 24 d。

关键词:菜用大黄;组织培养;再生能力

中图分类号:S 644.9;Q 813.1⁺2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)18-0141-03

菜用大黄(*Rheum rhaiponticum* L.)为蓼科大黄属多年生四倍体($2n=4x=44$)草本植物,以叶柄为食用器官,其产量高、适应性强、且便于管理,一次定植可连续收获 4~6 a^[1]。叶柄粗嫩多汁,营养丰富,风味独特,是理想的芳香保健类蔬菜,由它制成的饼派、甜点、果酱、果酒等已经成为西方国家人们日常生活中不可或缺的传统食品^[2-4]。近年来,随着 2008 北京奥运会的举行,菜用大黄作为一种“新兴特色保健类蔬菜”开始逐渐走入中国人的视野^[5]。

2004 年以来,河南科技学院菜用大黄引种育种课题组赵一鹏教授从英国引入了几个优良的菜用大黄栽培种,并通过茎尖离体培养成功地建立起了菜用大黄组培快繁体系^[6-8]。然而,在离体培养条件下,各品种的再生能力之间有着显著的差异。该试验研究了菜用

大黄各品种的不定芽再生方式、增殖能力之间的差异性,菜用大黄组培苗合理的继代培养周期,为深入探讨菜用大黄离体条件下的快速繁殖奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

该试验所用种子均来自英国 Writtle 学院种质资源库,所选用的 5 个欧洲菜用大黄品种分别是:(1)‘RT’,(2)‘RO’,(3)‘RV’,(4)‘R5’,(5)‘R19’。种子经过消毒灭菌后,置于不添加任何激素的 MS 基本培养基上进行无菌萌发。当幼苗长至 2 cm 左右时,切取 1 cm 长的茎尖作为外植体。

1.2 试验方法

培养环境的温度保持在 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$,光周期为 16 h/d,光照强度为 1 500 lx。将由种苗获得的茎尖外植体接种于 MS+2.0 mg/L+1.0 mg/L+30 g 蔗糖+5.3 g 琼脂^[6]的培养基上进行愈伤组织诱导,待再生不定芽发生后,将再生不定芽转入不添加任何植物生长调节剂的 MS 基本培养基上培养 2 周,随后接入 MS+1.0 mg/L+1.0 mg/L+30 g 蔗糖+5.3 g 琼脂^[6]上进行不定芽增殖培养。所有培养基均经过 121 $^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 30 min,pH 5.8。

第一作者简介:吴亚蓓(1986-),女,在读硕士,研究方向为蔬菜种质资源与育种。E-mail:yabeiwu@126.com。

责任作者:赵一鹏(1962-),男,博士,教授,研究方向为园艺植物种质资源。E-mail:yipengzhao@hist.edu.cn。

基金项目:河南省杰出人才创新基金资助项目(074100510019)。

收稿日期:2011-06-01

Abstract: *L. davidii* var. *unicolor*(Hoog)Cotton scale was used as test material to induced the polyploidy of *L. davidii* var. *unicolor*(Hoog)Cotton using colchicine solution. The results showed that best concentration of colchicine was 0.1% in chromosome doubling induction of *L. davidii* var. *unicolor*(Hoog)Cotton. Under the concentration,the optimal time was 24 h,and the mutagenesis rate was 60%. Comparing the size and the number of stomata per unit leaf area of the leaf of diploid and the polyploidy plants,by the statistical analysis those index was significantly different. Cytological observation showed that the chromosome number of some cells were $2n=4x=48$,and the others were $2n=2x=24$ in polyploidy plants. In diploid plants the chromosome number of all cells were $2n=2x=24$.

Key words: *Lilium davidii* var. *unicolor*(Hoog) Cotton; polyploidy; colchicin

1.3 数据处理

每个品种接种 30 个外植体,3 次重复,每 2 d 统计、记录 1 次再生不定芽数目,并计算各品种的再生率和增殖系数,再生率的计算方法为新生不定芽数目与接种时外植体总数的比值,而增殖系数的计算方法为不定芽总数与接种时外植体总数的比值^[9]。数据采用 Spss 17.0 进行处理,用 LSD 最小显著差异法对数据进行差异显著性分析。

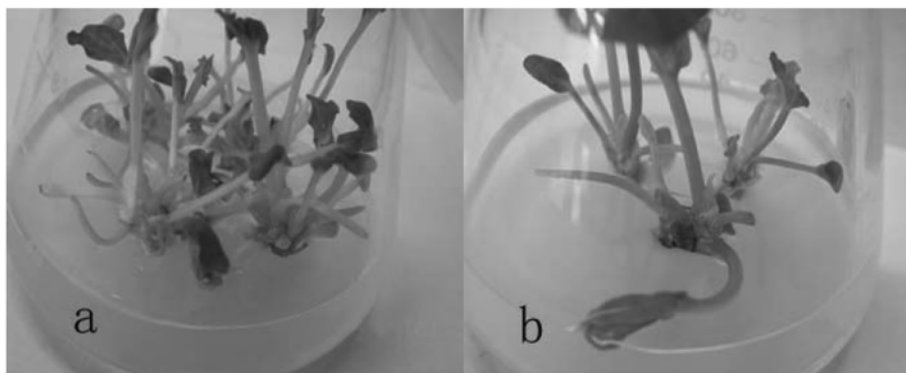


图 1 菜用大黄不同品种间不定芽再生方式的差异

注:a. 愈伤组织萌发再生不定芽型('RT');b. 腋芽萌发再生不定芽型('RO')。

Fig. 1 Differences in proliferative patterns of shoot regeneration among rhubarb cultivars

Note:(a)caespitose pattern in cultivar 'RT';(b)axillary bourgeoning in cultivar 'RO'.

2.2 菜用大黄不同品种再生能力的差异

由表 1 可知,接种 4 d 后,菜用大黄各品种均开始再生不定芽,但各品种不定芽再生的初始时间各有不同。'RO'和 RT 在接种后 2 d 内均无新生不定芽发生,而'R5'、'R19'、'RV'在接种后 2 d 内已有新生不定芽发生,'R5'在接种后第 2 天不定芽的再生率就已达到 60.7%, 'R19'的再生率较低,但也达到了 26.5%。

表 1 菜用大黄不同品种再生能力的差异

Table 1 Difference in regeneration rate of five rhubarb cultivars

品种 Cultivars	再生率 Regeneration rate/%	
	第 2 天 The second day	第 4 天 The forth day
'RO'	0	65.5
'RT'	0	56.3
'R19'	26.5	—
'R5'	60.7	—
'RV'	41.2	—

2.3 菜用大黄不同品种增殖系数的差异显著性分析

经过 24 d 的培养,各品种的增殖系数之间的差异见表 2。'RT'的增殖能力最强,其次是'RO'、'R5'、'RV'和'R19'。'RT'的增殖系数为 3.71,而'R19'的增殖能力最差,增殖系数仅为 1.96。'RO'、'R5'和'RV'这 3 个品种在 5% 水平上无显著差异,'RT'和其余 4 个品种的增殖系数之间有显著差异,

2 结果与分析

2.1 不定芽的再生方式

由图 1 可看出,离体培养条件下,不定芽再生方式可分为 2 类,'RT'表现为典型的基部愈伤组织萌发再生不定芽型(图 1-a),'RO'则表现为腋芽萌发再生不定芽型(图 1-b)。「RV」、「R5」和「R19」则兼具这 2 种再生方式。之所以会表现出这 2 种不同的不定芽再生方式,可能是由于各品种的基因型不同所致,还有待于进一步探讨^[10]。

'R19'和其余 4 个品种的增殖系数之间也有显著差异,这种差异可能是由各品种基因型之间的差异所造成的。

表 2 不同品种组培苗增殖系数差异显著性分析

Table 2 Difference analysis of proliferation coefficient among different cultivars

品种 Cultivars	培养时间 Culture period/d	增殖系数 Proliferation coefficient	标准差 Standard deviation	5% 显著水平 Significant level at 5%
'RT'	24	3.71	0.10	a
'RO'	24	2.91	0.17	b
'R5'	24	2.88	0.43	b
'RV'	24	2.53	0.30	b
'R19'	24	1.96	0.27	c

2.4 菜用大黄不同品种增殖系数的连续变化

在 24 d 的连续培养过程中,各品种增殖曲线的变化趋势也各不相同(图 2),'RT'的增殖速度最快,且其再生不定芽整齐度较高(图 1-a),说明'RT'这个品种的增殖能力在所考察的 5 个品种中是最强的。由图 2 可知,'RO'、'R5'和'RV'在培养的前 12 d 内,增殖系数变化趋势大体一致,增殖速度较快,随后,这三者的增殖速度均有不同程度的下降,尤其是'RV',从第 14 天开始到培养结束,其增长几乎停滞,这种现象说明,菜用大黄的不定芽的分化速度随着培养时间的延长而逐渐减缓;'R19'的增殖速度最慢,且增殖系数最小,说明其再生不定芽分化速度慢,增殖能力较差,这可能与其外植体的形态有关,'R19'

的叶面积大约是‘RT’的3倍,但其叶柄短缩,紧贴培养基表面生长,在一定程度上抑制了不定芽的再生,可能是由于主芽的顶端优势所致^[11]。从第20天开始,各品种的增殖系数变化幅度几乎为0,说明不定芽的分化数量明显减少,各品种的增殖系数趋于最大,说明合理的继代周期为24 d。

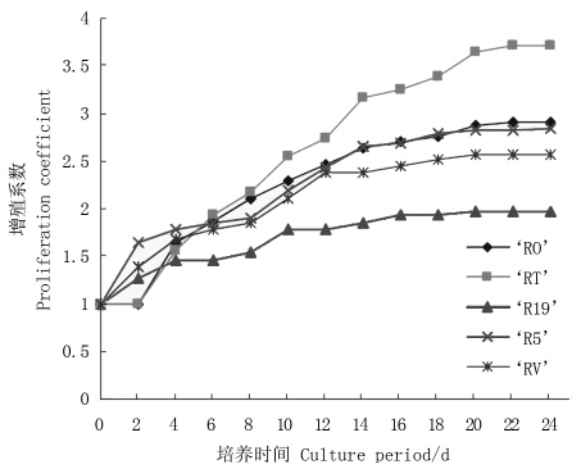


图2 菜用大黄不同品种组培苗增殖系数变化曲线

Fig. 2 Variation curve in proliferation coefficient of rhubarb cultivars

3 结论与讨论

菜用大黄的茎尖离体培养能够保持母本的优良性状,且出苗整齐一致,可用于种苗的快速繁殖,并为新品种的选育开辟了一个更有效的途径。

研究表明,离体培养条件下,菜用大黄的再生不定芽再生方式分为愈伤组织萌发再生不定芽型和腋芽萌发再生不定芽型2类;接种后第2天,‘R5’、‘R19’和‘RV’即有再生不定芽发生;各品种间不定芽

再生能力存在着显著的差异,‘RT’的再生不定芽增殖速度最快,增殖系数最大,为3.71,‘R19’的再生不定芽增殖速度最慢,增殖系数最小,为1.96;根据各品种增殖系数连续变化曲线得出,菜用大黄合理的继代周期为24 d。不定芽再生方式的差异性,以及各品种间增殖能力的差异性,可能是由于各品种的基因型不同所致,但这些差异性具体由哪一种基因所控制还有待于进一步深入研究。

参考文献

- [1] Rubatzky V E, Yamaguchi M. World Vegetable: Principles Production and Nutritive Values(Second edition)[M]. New York: Chapman and Hall, 1997: 692-695.
- [2] Rumpunen K and Henriksen K. Phytochemical and morphological characterization of seventy-one cultivars and selections of culinary rhubarb (*Rheum* spp.)[J]. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 1999, 74: 13-18.
- [3] 卢莉, 赵一鹏. 菜用大黄的研究进展[J]. 广东农业科学, 2008(2): 19-21.
- [4] 卢莉, 赵一鹏, 蔡祖国, 等. 欧洲大黄(*Rheum rhaponticum* L.)种子发芽特性研究[J]. 种子, 2007, 26(3): 35-37.
- [5] 王健梅. 奥运蔬菜系列—叶菜类[J]. 中国农业信息, 2006, 4(2): 8.
- [6] 赵一鹏, Grout B W W, 周岩. 欧洲大黄茎尖组织培养与快速繁殖[J]. 河南职业技术学院学报, 2004, 32(3): 24-26.
- [7] 蔡祖国, 周岩, 卢莉, 等. 不同激素对菜用大黄茎尖离体再生的影响研究[J]. 广东农业科学, 2010(3): 132-134, 144.
- [8] Zhao Y P. Somaclonal variation and crop failure of micropropagated rhubarb[D]. UK: Ph. D Thesis, University of Essex, 2004.
- [9] 曹君迈, 王薇, 任贤, 等. 不同因素对蝴蝶兰无性系组培苗增殖系数的影响[J]. 北方园艺, 2006(5): 152-153.
- [10] 刘玲梅, 汤浩茹, 刘娟. 试管苗长期继代培养中的形态发生能力与遗传稳定性[J]. 生物技术通报, 2008(5): 22-27.
- [11] 孙诚志, 刘伟清, 陈雄进. 顶端优势现象在香蕉组培苗中的应用研究[J]. 广西农业科学, 2006, 37(1): 75-77.

Study on Regeneration of Adventitious Bud of Tissue Culture Seedling of Different Rhubarb Cultivars

WU Ya-bei, CAI Zu-guo, ZHANG You-duo, ZHAO Yi-peng

(Department of Horticulture and Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: Five rhubarb cultivars seeds of ‘RT’, ‘RO’, ‘RV’, ‘R5’ and ‘R19’ introduced from Europe were used as test material, and shoot tip of tissue culture seedling as explants cultured on MS medium supplemented with 1.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L 6-BA and 5.3 g/L agar and 30 g/L sucrose, to investigated the regeneration difference of tissue culture seedling of five cultivars. The results showed that two different patterns of shoot proliferation were noted, i. e. caespitose shoots proliferating from callus of explants and axillary shoot bourgeoning from explants; significant difference in regenerative ability was observed, with cultivar ‘RT’ showed the highest proliferation coefficient was 3.71 and ‘R19’ presenting the lowest proliferation coefficient was 1.96; the variation curve of proliferation coefficient suggested that subculture for multiplication can be conducted in every 24 days to establish a micro-propagation system.

Key words: culinary rhubarb; tissue culture; regenerative ability