

芥菜快繁体系的初步研究

贾毛毛, 李学强, 李文静

(河南科技大学 林学院, 河南 洛阳 471003)

摘要:以芥菜种子为试材, 研究种子消毒对接种污染率、冷处理对种子萌发率、初代和继代增殖培养基对丛生芽诱导以及生根培养基对丛生苗生根的影响, 并以此为基础建立了无菌快繁体系。结果表明: 1% NaClO 消毒 9 min 最好, 污染率为 0, 在 4℃ 的冰箱中冷处理 96 h 萌发率较高, 达 36.97%。芥菜最适初代培养基为处理 9, 增殖系数达 3.2, 平均苗高达 3.3 cm; 最适继代培养基为处理 3, 增殖系数达 2.27, 最适生根培养基为处理 3, 平均根数 4~6 条, 根较粗壮, 生根率达 73.08%。适宜的芥菜快繁体系为: 新采集种子用 1% NaClO 消毒 9 min, 然后接种于 MS 培养基上在 4℃ 的冰箱中冷处理 96 h, 将培养出的无菌苗去掉下胚轴后接种在 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.20 mg/L 培养基上进行初代培养, 在 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.12 mg/L 培养基上进行增殖培养, 之后在 MS 培养基上进行壮苗培养, 在 MS+0.075 mg/L NAA 培养基上进行生根培养, 最后练苗移栽。

关键词: 芥菜; 快速繁殖; 试管培养

中图分类号: S 636.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)24-0157-03

芥菜 [*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic] 为十字花科 1 a 生草本植物, 别名野芥、护生草、鸡心菜等。我国自古以来就有采食芥菜的习惯, 芥菜叶绿鲜嫩、气味清香、味道鲜美、营养丰富又有一定药用功效, 富含 VC 及 Ca、P、Fe 等人体必需的矿物质元素。全株可入药, 具清热利尿、止血、凉血、明目降压、消炎解毒等功效颇受城乡人民喜爱。芥菜野生于南北各地, 全国各地均可栽培^[1-3]。目前, 芥菜的繁殖主要是依靠种子, 但种子繁殖有很大的局限性: 首先种子繁殖会使一些品种的某些优良性状难以保持^[4]; 其次种子发芽率低, 即使在最适宜的条件下, 其萌发率也只有 23.33%^[5]; 第三, 利用种子繁殖, 由幼苗长成成株的时间长。芥菜栽培所需种子量大, 一般情况下每 667 m² 所需种子 1~2 kg, 1 a 种 1~3 茬, 则每年每 667 m² 需种子 2~6 kg^[1]。并且芥菜种子体较小, 千粒重只有 (0.0892±0.0076)g, 一个果实内的种子数为 (17.00±4.15)枚, 单株产种量低^[5]。随着种植面积增大, 种子问题就成了芥菜大面积栽培的瓶颈。而组织培养即可解决这一难题, 但目前关于芥菜组培的研

究, 仅见到黑龙江八一农垦大学王丽艳等^[4]的研究报道, 为进一步探讨芥菜的组培技术, 该试验以芥菜种子为试材, 研究了种子消毒对接种污染率、冷处理对种子萌发率、初代和继代增殖培养基对丛生芽诱导以及生根培养基对丛生苗生根的影响等内容, 以期建立芥菜的快繁技术体系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以 2009 年 5 月上旬采于洛阳郊区的芥菜种子为试材。采集种子时, 已有部分种子从果荚中散落, 采后晾干备用。

1.2 材料处理

将种子用自来水浸泡 3~4 h, 弃去上层不饱满种子, 留饱满种子用无菌水再冲洗 2~3 次, 然后用无菌纸将种子吸干, 之后用 1% NaClO 进行消毒处理。消毒后无菌水冲洗, 最后用滴管接种在 MS 培养基上, 进行低温处理。出苗后 35 d, 将剪去下胚轴的幼苗依次接种到诱导培养基和继代培养基中诱导并培养丛生苗。丛生苗诱导出来后, 分解为单个幼芽, 转接到 MS 培养基上进行壮苗培养, 2 周后进行生根培养, 生根后进行移栽。移栽前先进行练苗 3~5 d, 然后洗去试管苗根部培养基, 移栽至已高压灭菌的营养土中, 移栽后浇透水, 初期覆盖遮阴, 保温保湿, 但湿度不宜过大, 以防烂根。

以上所有培养基中均加入 7.5 g/L 的琼脂, 30 g/L 的蔗糖, 高压灭菌前调 pH 6.0, 培养温度为 (23±2)℃, 光照为 1 500~2 000 lx, 光照时间为 14 h/d。

第一作者简介: 贾毛毛(1987-), 男, 河南信阳人, 本科在读, 现从事园艺方面的学习和研究工作。

通讯作者: 李学强(1969-), 男, 博士, 副教授, 现主要从事果树生理和果树栽培的教学与科研工作。E-mail: gnaiqexil@163.com。

基金项目: 河南科技大学大学生研究训练计划资助项目 (SRTP2009113)。

收稿日期: 2010-10-25

1.3 试验设计

1.3.1 消毒时间对接种污染率的影响 设置 3、6、9、12、15 min 消毒处理, 每个处理 5 瓶, 每瓶接种 50 粒左右, 3 次重复, 2 d 后开始调查污染率, 以后每天调查 1 次, 10 d 后结束调查。

1.3.2 冷处理对种子萌发的影响 将接种好的芥菜种子放在 4℃ 的冰箱中进行冷处理, 设 12、24、36、48、60、72、84、96、108 h 处理梯度, 每个处理 8 瓶, 观察种子萌发情况, 调查种子的萌芽率。

1.3.3 初代培养基对丛生芽诱导的影响 培养基配方见表 1, 每个处理 10 瓶, 每瓶接种 1 株, 3 次重复, 培养条件如上。4 d 后开始观察和调查苗的长势、芽分化情况。3 周后对苗高、畸形和玻璃化率以及增值系数进行统计。

表 1 初代培养不同激素配比组合

处理序号	激素配比/mg·L ⁻¹
1	MS+0.10 NAA+0.5 6-BA
2	MS+0.10 NAA+1.0 6-BA
3	MS+0.10 NAA+1.5 6-BA
4	MS+0.10 NAA+2.0 6-BA
5	MS+0.10 NAA+2.5 6-BA
6	MS+0.20 NAA+0.5 6-BA
7	MS+0.20 NAA+1.0 6-BA
8	MS+0.20 NAA+1.5 6-BA
9	MS+0.20 NAA+2.0 6-BA
10	MS+0.20 NAA+2.5 6-BA

1.3.4 继代培养基对丛生芽诱导的影响 培养基配方见表 2, 每个处理 10 瓶, 每瓶接种 1 株, 3 次重复, 培养条

表 4 冷处理对芥菜萌发的影响

冷处理时间/h	12	24	36	48	60	72	84	96	108
萌发率/%	17.45	23.38	31.20	28.92	32.03	33.91	33.41	36.97	31.82

2.3 初代培养基对丛生芽诱导的影响

从表 5 可知, 除处理 1 未能诱导出丛生芽外, 其它处理均有不同程度的丛生芽出现, 并且当 NAA 浓度一定时, 增值系数随着 6-BA 浓度的增加而增大。虽然处理 5 和处理 10 增值系数较大, 但均有不同程度的玻璃化和丛生芽畸形现象, 可能是 6-BA 浓度较大的原因。而对于处理 9, 畸形和玻璃化现象均不存在, 增值系数 3.20, 高于除处理 10 和处理 5 的所有处理; 平均苗高达 3.30 cm, 仅低于处理 5 的幼苗, 可以认为处理 9 的诱导效果最好。

2.4 继代培养基对丛生芽诱导的影响

从表 6 可看出, 处理 1、2、3 的增值系数、玻璃化苗率、畸形苗率逐渐减小, 虽然处理 3 增值系数低于其它处理, 但畸形率和玻璃化率均低于其它 2 个处理, 因畸形和玻璃化苗不能正常生长, 而处理 3 没有出现畸形苗, 玻璃化苗也较少, 是较好的诱导培养基。

件同上。4 d 后开始观察和调查苗的长势、芽分化情况。3 周后对畸形和玻璃化率以及增值系数进行统计。

表 2 继代培养不同激素配比组合

处理序号	激素配比/mg·L ⁻¹
1	MS+0.08 NAA+0.5 6-BA
2	MS+0.10 NAA+1.0 6-BA
3	MS+0.12 NAA+1.5 6-BA

1.3.5 生根培养基对生根效果的影响 1/2MS 培养基中分别附加 0.025、0.05、0.075 mg/L 的 NAA。每个处理 13 瓶, 每瓶接种 1 株, 3 次重复, 培养条件同上。4 d 后开始观察和调查苗的长势, 平均生根率、平均生根条数和根长度。

2 结果与分析

2.1 消毒时间对接种污染率的影响

由表 3 可知, 在 3 min 和 6 min 时污染率都较高, 但在消毒时间为 9 min 及以后时间污染率均为 0, 因此消毒时间为 9 min 时为最佳。

表 3 消毒时间对接种污染率的影响

消毒时间/min	3	6	9	12	15
污染率/%	16.67	33.33	0	0	0

2.2 冷处理对芥菜种子萌发的影响

由表 4 可知, 随着冷处理时间的增加, 萌发率呈上升趋势, 在 96 h 时萌发率最高, 达到 36.97%。并且在试验中还发现冷处理 24 h 的在 48 h 后最先萌发, 在第 12 天后停止萌发。

表 5 不同激素对比对芥菜丛生芽初代诱导的影响

处理序号	接种株数	增值系数	畸形/%	玻璃化/%	平均苗高/cm
1	30	1.00	0	0	2.00
2	30	1.78	0	0	2.60
3	30	2.89	0	0	2.60
4	30	2.70	10	10	2.80
5	30	3.89	22	44	3.40
6	30	1.67	0	22	2.90
7	30	2.40	0	10	3.10
8	30	2.90	0	0	2.90
9	30	3.20	0	0	3.30
10	30	4.10	20	20	3.20

注: 畸形即丛生芽在形态、生长点等方面异于正常芽, 玻璃化表现为芽呈水渍状

表 6 不同激素对比对芥菜丛生芽继代诱导的影响

序号	接种株数	增值系数	畸形/%	玻璃化/%
1	30	2.43	21.74	43.48
2	30	2.37	10.53	21.05
3	30	2.27	0	13.33

2.5 生根培养基对生根效果的影响

从表 7 可看出, 不同浓度的 NAA 诱导出根的类型不同, 一种为丝状根, 而且这些根相互交错(如图 1-A), 一种为正常根(如图 1-B)。处理 1 和 2 均有丝状根生

成,且随着 NAA 浓度的增加而递减,生根平均条数及平均根长都无法统计。而处理 3 生根条数平均达 4.75~5.87 条,生根率达 73.08%,植株生长健壮,节间较短,为最适培养基。

表 7 不同培养基对丛生芽生根的影响

序号	生根类型	丝状根	平均生	平均根长	生根率
		/总根数	根条数	/cm	/%
1	丝状根+正常根	36.36	—	—	42.31
2	丝状根+正常根	28.57	—	—	53.85
3	正常根	0	4.75~5.87	2.59	73.08

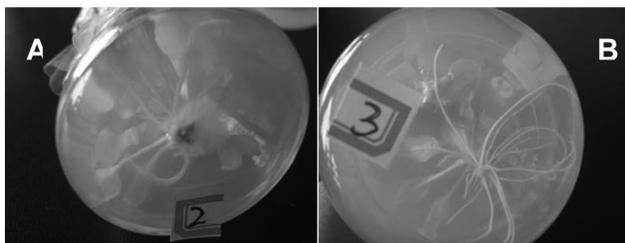


图 1 丛生苗的生根类型(A 丝状根 B 正常根)

3 结论与讨论

该试验表明,4℃低温条件下处理 96 h 能够有效的打破种子休眠,萌发率达 36.97%。吴叶青等^[6]研究表明,在(6±1)℃的低温条件下处理干种子、浸种处理的种子和直接置床处理的种子,其萌发率分别为 11.77%、19.84%、26.38%。而阿依买木·沙吾提等^[7]在 3~4℃条件下对新种子进行不同时间的冷处理,其萌发率最高为 16.16%。该试验结果明显高于吴叶青^[6]、阿依买木·沙吾提等^[7]的试验结果,说明该试验设定的条件更有利于荠菜种子的萌发。同时,该试验发现在 4℃条件下冷处理的最佳时间为 96 h,时间再延长会降低种子的萌发率,与阿依买木·沙吾提等^[7]的较长处理

时间(5、10、15 d)不同,这可能是由于阿依买木·沙吾提等^[7]用的基质是湿润滤纸,而该试验用的基质是 MS 培养基有关。

该试验发现 NAA 的浓度不同会产生不同类型的根,在低于 0.050 mg/L 时会同时出现丝状根和正常根,而且随着 NAA 浓度的增大丝状根比率降低。而王丽艳等^[4]在用 0.050 mg/L 的 NAA 诱导生根时没有出现丝状根,这可能是由于二者诱导出的丛生苗对 NAA 的敏感程度不同所致。当 NAA 浓度大于 0.050 mg/L 时只有正常根发生,所以在荠菜丛生苗生根的时候 NAA 浓度应大于 0.050 mg/L,以利于正常根的生成。该试验初步认为,荠菜适宜的快繁体系以新采集种子用 1% NaClO 消毒 9 min,然后接种于 MS 培养基上在 4℃的冰箱中冷处理 96 h,将培养出的无菌苗去掉下胚轴后接种在 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.20 mg/L 培养基上进行初代培养,在 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.12 mg/L 培养基上进行增殖培养,之后在 MS 培养基上进行壮苗培养,在 MS+0.075 mg/L NAA 培养基上进行生根培养,最后练苗移栽。

参考文献

- [1] 刘启云. 荠菜的栽培与利用[J]. 特种经济动植物, 2004(5): 38-39.
- [2] 田正明. 荠菜的推广前景与栽培技术[J]. 甘肃农业, 2006(11): 336.
- [3] 岳含云, 吴叶青. 不同药剂对解除荠菜种子休眠的作用[J]. 绵阳经济技术高等专科学校学报, 2003(3): 10.
- [4] 王丽艳, 荆瑞勇, 郭培磊. 荠菜无菌快速繁殖技术的研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2007, 19(3): 13-16.
- [5] 亚吉东, 李树珍, 申仕康, 等. 荠菜(*Capsella bursa-pastoris*(L.) Medic) 种子萌发特性[J]. 种子, 2009, 28(1): 37-39.
- [6] 吴叶青. 低温处理对荠菜种子休眠的影响[J]. 长江蔬菜, 2003(8): 46-47.
- [7] 阿依买木·沙吾提, 吐尔逊江·买提玉苏甫. 不同处理对荠菜种子休眠与萌发的影响[J]. 北方园艺, 2009(5): 84-85.

Preliminary Study on Rapid Propagation System of *Capsella bursa-pastoris*

JIA Mao-mao, LI Xue-qiang, LI Wen-jing

(Forestry College Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003)

Abstract: Using *Capsella bursa-pastoris* seed as test material, the effect of seed disinfection on the rate of pollution, low-temperature treatment on seed germination, different culture media on primary and proliferation, different medium for rooting were studied. The results showed that the best disinfectant and sterilizing time were 1% NaClO and 9 minutes in that solution; Being treated for 96 h at 4℃, the germination rate could reach to 36.97%; The optimal medium for primary culture was the ninth treatment, the propagation coefficient was 3.2 and the average seedling height was 3.3 cm, the optimal medium for proliferation was the third treatment, the propagation coefficient was 2.27, the optimal medium for rooting was the third treatment, the number of healthy root was 4~6 and the inducing ratio of root was 73.08%. So the best rapid propagation system of *Capsella bursa-pastoris* was that, seed was treated in 1% NaClO for 9 minutes, being treated for 96 h at 4℃, the optimal medium for primary culture was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, the optimal medium for proliferation was MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.12 mg/L, the optimal medium for rooting was MS+0.075 mg/L NAA. Then trained the seedlings and transplanted it finally.

Key words: *Capsella bursa-pastoris*; rapid propagation system; *in vitro*