

白凤菜组培快繁技术研究

穆红梅¹, 杜秀菊², 曹 兴¹, 武 彦¹, 孙 凯¹

(1. 聊城大学 农学院, 山东 聊城 252059; 2. 聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252059)

摘 要:以白凤菜为试材, 采用组织培养方法, 研究了氯化汞浸泡时间及不同激素配比对白凤菜茎段灭菌及诱导的影响。结果表明: 外植体最适宜的灭菌条件为 0.1% 的氯化汞溶液浸泡 11 min, 此时污染率最低为 41%, 外植体成活率为 68%, 为较适宜的灭菌时间。MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L 为比较适宜的白凤菜茎段诱导培养基, 诱导率达 98%, 每块外植体分化的不定芽数目达到 8.0 个; 白凤菜的生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.20 mg/L。

关键词:白凤菜; 组织培养; 茎段; 增殖

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2015)21-0096-03

白凤菜(*Gynura formosana* Kitam)属菊科三七属多年生药食两用植物, 又名肝炎草、白子菜、白担当、台湾土三七, 分布台湾至华南。其营养丰富、含有蛋白质、多种维生素, 以及钾、钙、磷、锌等微量元素, 是新兴的蔬菜品种; 味道鲜美, 嫩茎叶为食用部位, 为保健药膳珍稀蔬菜。近年来, 成为中国各大城市蔬菜、保健、医疗市场上的新秀, 受到消费者欢迎^[1]。

白凤菜全草或茎叶可入药, 清热排毒舒筋, 有消炎、解热、解毒、利尿、降血压等功效^[2]。许多城市, 相继引入试种, 栽培面积逐渐扩大。近年来随着国内外对白凤菜需求量的增加, 供需矛盾日益突出, 繁殖以扦插为主, 幼苗数量远远不能满足大规模生产的需要, 因此亟需发展组培快繁技术, 以满足生产的需要。现以白凤菜的茎段为试材, 采用组织快繁方法, 研究了氯化汞灭菌时间及不同激素配比对白凤菜组织培养的影响, 以期将来白凤菜的育种、转基因遗传体系建立提供参考依据^[3]。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以白凤菜的茎段为外植体, 于 2014 年 8—12 月取自聊城大学生态园, 随用随取。取白凤菜的茎段, 切除叶片, 每个茎段切成 0.5~1.0 cm, 保留 1 个茎节, 接种于培养基中。

第一作者简介:穆红梅(1974-), 女, 博士, 高级实验师, 现主要从事园林和资源植物的生物技术等研究工作。E-mail: muhongmei74@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31301802); 山东省教育厅自然科学基金资助项目(ZR2011CL010); 国家级大学生科技创新资助项目(201410447016)。

收稿日期:2015-05-21

1.2 试验方法

1.2.1 灭菌时间对白凤菜污染率及出芽率的影响 外植体用 1% 洗洁精浸泡, 在摇床上振荡 20 min 后用流水冲洗 20~30 min。然后用 70% 酒精浸泡 30~60 s, 立即用 0.1% 的氯化汞溶液浸泡 8~14 min, 期间用玻璃棒搅动数次。用无菌水冲洗 6~8 次, 以去除氯化汞残留对植物外植体生长分化的影响, 最后接种于培养基中。

1.2.2 不同的激素配比对白凤菜出芽率的影响 白凤菜的不定芽诱导培养基配方见表 1, 把外植体接种到诱导培养基中, 接种 7 d 后统计污染率, 15 d 后统计出芽率, 45 d 以后统计分化的不定芽数目。基本培养基为 MS, 每升培养基中添加琼脂 6.5 g, 蔗糖 30 g, 培养基 pH 5.80~5.95。接种后放置于温度为 22~25℃ 人工气候室进行培养, 光照强度 800~1 200 lx, 每天光照时间 12 h, 黑暗时间 12 h。

表 1 不定芽诱导培养基配方 mg/L

类别	编号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6-BA	2.0	2.0	2.0	2.5	2.5	2.5	3.0	3.0	3.0
NAA	0.02	0.10	0.20	0.02	0.10	0.20	0.02	0.10	0.20

1.2.3 生根培养 在 1/2MS 基本培养基中添加 0、0.20、0.40、0.60、1.00 mg/L 的 NAA, 将生长健壮的白凤菜无菌系嫩苗接种于含有不同 NAA 浓度的培养基上诱导生根, 每个 NAA 激素浓度的培养基接种 10 瓶, 每瓶 2~4 个外植体, 30 d 后观察统计生根率, 3 次重复。

1.2.4 移栽 挑选生长健壮生根质量好的白凤菜组培苗在人工气候室内练苗, 打开瓶盖, 3~5 d 后准备移栽。期间向瓶内注入少量自来水, 以防止培养基干裂。草炭、珍珠岩、蛭石按 2:2:1 比例混合, 在高压灭菌锅中

120℃灭菌 15 min 后,冷却备用。将白凤菜组培幼苗开穴植入高温灭菌后的基质中,在操作过程中注意使白凤菜组培苗根系舒展,尽量避免出现折根、断根现象。栽后浇透自来水,并上部罩上塑料膜,以保证较高的湿度。10 d 后逐步打开塑料膜。

1.3 数据分析

采用 SPSS 19 软件统计组织污染率(%)、成活率(%)、平均分化不定芽数(个)。组织污染率(%)=(污染的接种组织的块数/接种总外植体数)×100;成活率(%)=

(成活的外植体数/接种总外植体数)×100。

2 结果与分析

2.1 不同的灭菌时间对白凤菜外植体生长的影响

从表 2 可以看出,外植体用 0.1%的氯化汞溶液灭菌 13~14 min,污染率下降为 32%~36%,但由于灭菌时间较长,外植体的活力也下降,成活率仅为 30%~40%。0.1%的氯化汞灭菌 11 min 时,尽管污染率比 14 min 时高,但是外植体的成活率为 68%,因此 11 min 为较适宜的灭菌时间。

表 2 不同灭菌时间对白凤菜茎段外植体成活率及污染率的影响

时间/min	8	9	10	11	12	13	14
污染率/%	96±0.02aA	84±0.03bB	71±0.03cC	41±0.02dD	40±0.01eE	36±0.03fF	32±0.02gG
成活率/%	40±0.02cC	46±0.05bcBC	57±0.04bB	68±0.01bcBC	52±0.02bB	40±0.06aA	30±0.02bBC

注:以上数值为 3 次数值平均值±标准差,小写字母代表 5%差异水平,大写字母代表 1%差异水平。下同。

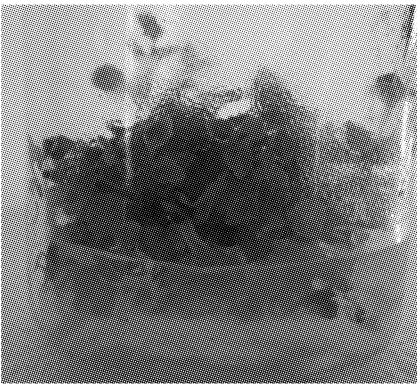
2.2 不同的激素对白凤菜诱导率的影响

将带有茎段轴的茎段接种于表 1 中 1~9 号培养基中,10 d 后各茎节变大。15 d 后,在茎段节间处,有不定

芽长出来(图 1),随着培养时间的增加,白凤菜不定芽数量不断增加,不同培养基对比对白凤菜茎段的诱导率和分化的不定芽数目见表 3。



A 培养15 d



B 培养45 d

图 1 白凤菜组培(MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L)

表 3 白凤菜茎段不同激素组合的培养基试验结果

编号	6-BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	诱导率/%	分化出不定芽数/个
1	2.0	0.02	3±0.01fE	1.3±0.50eC
2	2.0	0.10	2±0.02fE	2.0±0.82deBC
3	2.0	0.20	6±0.08fE	2.6±0.47deBC
4	2.5	0.02	56±0.01bA	3.3±0.47abcAB
5	2.5	0.10	68±0.02cdBC	3.0±0.82abAB
6	2.5	0.20	76±0.06cB	4.0±0.82bcdABC
7	3.0	0.02	98±0.02aA	8.0±0.81aA
8	3.0	0.10	46±0.03cD	7.7±1.20cdeBC
9	3.0	0.20	39±0.13eD	6.0±0.82cdABC

注:以上结果为外植体培养 45 d 统计。

从表 3 可以看出,6-BA 和 NAA 对白凤菜的诱导率均有显著影响。对白凤菜组培诱导率的多重比较表明,对诱导率起作用的 6-BA 最适浓度是 3.0 mg/L,其次是 2.5 mg/L 和 2.0 mg/L。在 6-BA 浓度为 3.0 mg/L 时,对诱导率起作用的 NAA 的最适浓度是 0.02 mg/L,其

次是 0.10 mg/L 和 0.20 mg/L。6-BA 和 NAA 各个组合间统计分析结果表明,7 号处理与其它处理均差异显著。MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L 为比较适宜的白凤菜茎段诱导培养基。

2.3 生根培养

从图 2 和表 4 可以看出,幼苗接在 5 种不同的生根培养基上均能生根,随着 NAA 浓度的增大,生根率也发生变化,结果表明一定浓度的生长素对生根有一定的促进作用,但浓度加大反而影响生根,培养基 2 号生根率高,生根条数多,苗长得最好。方差分析结果表明,NAA 各浓度间差异极显著,与不添加 NAA 激素的对照相比,NAA 对生根率的影响比较大,各浓度均对生根有促进作用。NAA 浓度为 0.20 mg/L 适合白凤菜生根,生根率达到 100%。综上,白凤菜的生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.20 mg/L。移栽 40 d 后统计成活率。白凤菜移栽成活率高达 95%。

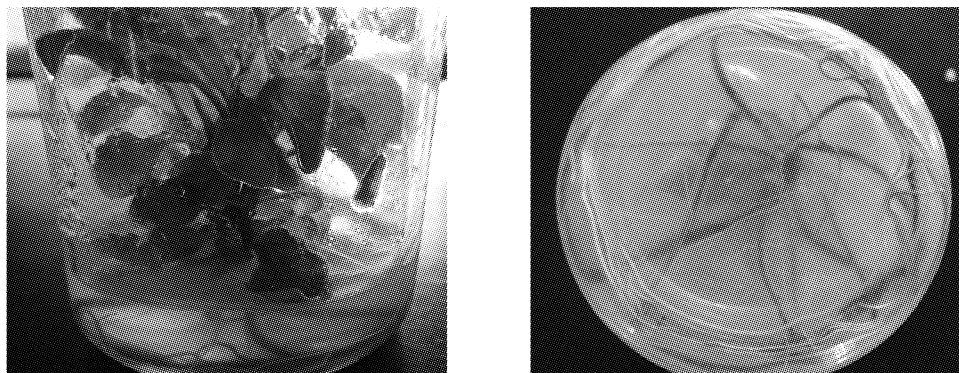


图2 白凤菜生根培养(1/2 MS+NAA 0.20 mg/L,培养时间为30 d)

表4 NAA对白凤菜生根的影响

编号 No.	NAA /(mg·L ⁻¹)	无菌苗数 /个	生根率 /%
1	0	50	32.60±0.01gF
2	0.20	50	100.00±0.01aA
3	0.40	50	65.50±0.01dC
4	0.60	50	85.67±0.02bA
5	1.00	50	87.47±0.01abA

3 讨论与结论

该研究首次以新奇特蔬菜品种白凤菜的茎段为外植体建立了组培快繁体系。对于新奇特蔬菜的大规模繁殖、新品种培育、无菌苗生产具有重要意义。

试验结果表明,白凤菜茎段外植体由于生长在室外,茎段密被绒毛,较难灭菌。外植体用0.1%的氯化汞溶液灭菌13~14 min,污染率下降为32%~36%,但由于灭菌时间较长,外植体的活力也下降,成活率仅为30%~40%。0.1%的氯化汞灭菌11 min时,尽管污染

率比14 min时高,但是外植体的成活率为68%,因此11 min为较适宜的灭菌时间。

研究发现白凤菜茎段分化的不定芽数目最多为8.0个,具有很强的分生能力。白凤菜在不定芽生长的同时有愈伤组织生长。激素配比试验表明,白凤菜适宜茎段诱导培养基为MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L,诱导率达98%。白凤菜适宜生根培养基为1/2 MS+NAA 0.20 mg/L。

参考文献

- [1] 汪泓江,梁呈元,卓敏,等. *Gynura* 属3个野生蔬菜营养成分的比较及评价[J]. 中国野生植物资源,2004(5):48-49.
- [2] 胡勇,李维林,林厚文,等. 白背三七地上部分降血糖作用研究[J]. 西南林学院学报,2007,27(1):55-58.
- [3] 汪泓江,李维林,任冰如,等. 白凤菜扦插繁殖技术研究[J]. 中国野生植物资源,2010,29(3):62-65.
- [4] 穆红梅. 中国石蒜(*Lycoris chinensis*)体内加兰他敏等生物碱积累影响因素的研究[D]. 南京:南京农业大学,2009.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Gynura formosana* Kitam

MU Hongmei¹, DU Xiuju², CAO Xing¹, WU Yan¹, SUN Kai¹

(1. College of Agriculture, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059; 2. College of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059)

Abstract: The stem of *Gynura formosana* Kitam was used as explants, tissue culture method was used, and the effect of mercuric chloride soaking time and different hormone combinations on the induction of stem segment of *Gynura formosana* Kitam were studied. The results showed that, when the explants' sterilization time was 11 minutes with 0.1% mercuric chloride solution, the contamination rate of explants was minimum (41%), the survival rate was 68%. The stem suitable induction culture medium was MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L, at this time the induction rate reached 98%, the number of buds per explants reached 8.0. The suitable induction culture of rooting medium was 1/2 MS+NAA 0.20 mg/L.

Keywords: *Gynura formosana* Kitam; tissue culture; stem; propagation