

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°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°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%的安利洗涤液振荡洗涤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 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)。

组织的不定芽, 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。

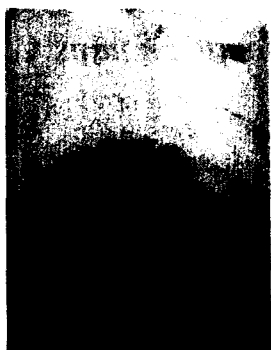


图2 浮毛茛愈伤组织的分化培养

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 °C 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。

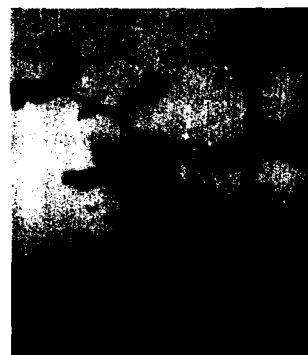


图4 浮毛茛生根苗移栽成活

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