

# 变异油麦菜组织培养及无性系建立的研究

高 嵩,付 欣,张 鑫,邹翠霞,姜长阳  
(辽宁师范大学生命科学学院,大连 116029)

**摘要:**以具有有利变异性状的油麦菜嫩茎的腋芽为材料,研究其组织培养及无性系建立。结果证明:诱导变异油麦菜腋芽生长的理想培养基是  $1/2MS+BA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+IAA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;变异油麦菜不定芽分化培养的理想培养基是  $MS+BA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+NAA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;变异油麦菜不定芽生根培养的理想培养基是  $1/3MS+IAA0.4\sim0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;采用生根继代方法每年可繁殖出  $3.5^{14.6}$  个后代,所建立的无性系优良变异性状保持不变。

**关键词:**油麦菜;无性系;快速繁殖

中图分类号:S 688.4;Q 943.1 文献标识码:A 文章编号:1002-2767(2007)06-0001-03

## Study of Tissue Culture and Establishment of Asexual System of *Lactuca sativa. L. var. romana*

GAO Song, FU Xin, ZHANG Xin, ZOU Cui-xia, JIANG Chang-yang  
(Life Science College, Liaoning Normal University, Dalian 116029)

**Abstract:** The study on the technique of tissue culture and establishment of asexual system of *Lactuca sativa. L. var. romana* was conducted. The results indicated that the ideal medium for induction and differentiation of buds from stem segments were  $1/2MS+BA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+IAA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $MS+BA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+NAA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively. The medium of  $1/3MS+IAA0.4\sim0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  was suitable for root growth. Taking the rooting successive transfer culture as the test method,  $3.5^{14.6}$  seedlings were regenerated every year. The successfully established clones were of the steady character.

**Key words:** *Lactuca sativa. L. var. romana*; clone; rapid propagation

油麦菜(*Lactuca sativa. L. var. romana*)属菊科莴苣属一年或二年生草本植物,是长叶莴苣的变种<sup>[1]</sup>,作为叶用蔬菜食用不仅营养丰富、口感好,而且还有清热解毒等疗效,现已成为人们非常喜食的高档蔬菜,农家还用油麦菜防治鸡瘟。因此,近些年来辽西南部地区的油麦菜种植面积迅速扩大。在大面积的露地和温室栽培中,偶尔可以出现生长非常旺盛、可食嫩叶产量高的优良变异植株,用这种植株的种子进行繁殖,后代由于性状分离等原因,有利性状难以保持。为此,我们采用组织培养的方法对油麦菜的优良植株进行了无性系建立的研究,以期

优良变异品系的保存和利用提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料及灭菌

将田间生长旺盛、具有有利变异的油麦菜采回来后,切去叶片,将嫩茎放到磨口广口瓶中,用自来水冲洗3~4次后,用0.05%安利洗涤剂振荡洗涤10 min,洗至没有泡沫时置于超净工作台上,用75%乙醇灭菌10 s后,迅速用无菌水洗涤2次,接着用0.1%HgCl<sub>2</sub>溶液振荡灭菌1 min,再加入等体积无菌水,继续振荡灭菌8 min。接着用无菌水振荡洗涤5次,即获得无菌材料。

收稿日期:2007-07-24

基金项目:辽宁师范大学教学改革项目(20050101123)

第一作者简介:高嵩(1985-),男,辽宁营口人,在读学士。

通讯作者:姜长阳(1954-),男,辽宁大连人,教授。Tel:0411-84258983;E-mail:changyangjiang@126.com

1 2 培养条件

培养基以 MS、1/2MS 和 1/3MS 为基本培养基, 附加不同浓度的细胞分裂素BA 和生长素 IAA、NAA、2,4-D。以 MS 为基本培养基时, 加蔗糖 30 g ° L<sup>-1</sup>; 以 1/2MS 为基本培养基时, 加蔗糖 15 g ° L<sup>-1</sup>; 以 1/3MS 为基本培养基时, 加蔗糖 10 g ° L<sup>-1</sup>。培养基胨力强度为 180 g ° cm<sup>-2</sup>, pH 5.8 ~ 6.0, 培养条件 18 ~ 26 °C, 光照 10 ~ 12 h ° d<sup>-1</sup>, 光照强度 2 000 ~ 4 000 lx。

2 结果与分析

2 1 腋芽的生长培养

将无菌嫩茎上的腋芽挖出, 接种到以 1/2MS 为基本培养基, 附加 BA 0.2 mg ° L<sup>-1</sup>, IAA 0.2、0.4、0.6 mg ° L<sup>-1</sup> 三种培养基上进行腋芽的生长培养, 30 d 时腋芽开始生长, 50 d 后观察统计表明, 3 种培养基上的腋芽都能长成高 0.5 ~ 1.5 cm 的芽。其中在 1/2MS+BA 0.2 mg ° L<sup>-1</sup>+IAA 0.4 mg ° L<sup>-1</sup> 这一培养基上, 不仅腋芽的生长率达到了 95%, 而且生长速度快、较旺盛。将在这一培养基上诱导生长的芽剪成具有顶芽或 1 ~ 2 个腋芽的茎段, 在相同培养基上进行继代培养, 30 d 左右又能生长成高 2 cm 左右的芽, 连续培养 8 代, 芽的长势不变。这说明 1/2MS+BA 0.2 mg ° L<sup>-1</sup>+IAA 0.4 mg ° L<sup>-1</sup> 是诱导变异油菜腋芽生长的理想培养基。

2 2 芽的分化培养

将上述培养的芽, 剪成具有顶芽或 1 ~ 2 个腋芽的茎段, 接种到以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 BA、IAA、NAA 的培养基上进行芽的分化培养, 培养到 20 d 左右时开始分化, 40 d 时观察统计。由表 1 可见, 在 BA 浓度为 0.4 mg ° L<sup>-1</sup>、NAA 浓度为 0.2 mg ° L<sup>-1</sup> 这一培养基上, 不仅分化率为 95%, 而且单芽分化的不定芽数达到 7.6, 分化不定芽高度为 1 ~ 3 cm、长势好; 把分化的不定芽剪成具有顶芽或 1 ~ 2 个腋芽的茎段, 接种到相同的培养基上进行继代培养, 连续培养 9 代, 其分化不定芽的分化率、单芽分化数和长势基本保持不变。这说明 MS+BA 0.4 mg ° L<sup>-1</sup>+NAA 0.2 mg ° L<sup>-1</sup> 是变异油菜不定芽分化培养的理想培养基。

2 3 生根培养

将上述分化培养高度在 1 cm 以上的不定芽从基部剪下, 接种到以 1/2MS 和 1/3MS 为基本培养基, 附加不同浓度 IAA、NAA 和 2,4-D 的生根培

表 1 不同培养基对分化的影响

BA /mg ° L <sup>-1</sup>	IAA /mg ° L <sup>-1</sup>	NAA /mg ° L <sup>-1</sup>	接种 数/个	分化 芽数/个	分化 率/%	不定 芽数/个	长势
0	0	0	40	0	0	0	
0	0.2	0	40	0	0	0	
0.4	0.2	0	40	24	60.0	3.3	+++
0.8	0.2	0	40	15	37.5	4.3	+++
1.2	0.2	0	40	8	20.0	4.1	++
1.6	0.2	0	40	7	17.5	3.6	+
0	0.6	0	40	0	0	0	
0.4	0.6	0	40	0	0	0	
0.8	0.6	0	40	0	0	0	
1.2	0.6	0	40	0	0	0	
1.6	0.6	0	40	0	0	0	
0	0	0.2	40	0	0	0	
0.4	0	0.2	40	38	95.0	7.6	+++
0.8	0	0.2	40	27	67.5	6.7	++
1.2	0	0.2	40	16	40.0	6.9	++
1.6	0	0.2	40	25	62.5	7.2	+
0	0	0.6	40	0	0	0	
0.4	0	0.6	40	0	0	0	
0.8	0	0.6	40	0	0	0	
1.2	0	0.6	40	0	0	0	
1.6	0	0.6	40	0	0	0	

注: +++ 为好; ++ 为较好; + 为一般, 下同。

培养基上进行生根培养。培养到 7 d 时有的培养基上可形成根原基, 培养 20 d 时观察统计。由表 3 可见, 在附加 NAA 或 2,4-D 的生根培养基中, 难以诱导生根; 在 IAA 浓度达到 1.2 mg ° L<sup>-1</sup> 时, 也难以诱导生根; 而在 IAA 浓度为 0.4 ~ 0.8 mg ° L<sup>-1</sup> 的生根培养基上, 不仅生根率达 95% 以上, 而且单株生根数也达到 5.8 条以上; 并且 1/3MS 培养基上的生根效果好于 1/2MS。观察还表明, 在上述 1/3 MS 生根培养基上, 不仅生根率高、根数多, 而且试管苗长势旺盛, 培养至 25 d 时, 可以长成株高为 5 cm 左右、具有 7 条以上根 的试管苗。将在这一培养基上生长的试管苗剪成具有 1 ~ 2 个生长点、长 1.5 cm 左右的茎段, 插于相同的生根培养基上进行生根继代培养, 25 d 时又可长成高 5 ~ 6 cm 的生根试管苗。连续 12 代生根继代培养, 试管苗的长势保持不变。采用这种方法增殖系数为 3.5 倍/25 d, 每年可繁殖出 3.5<sup>14</sup> 6 个后代, 并且繁殖的试管苗生长旺盛, 几乎没有无效苗。上述证明, 1/3MS+IAA 0.4 ~ 0.8 mg ° L<sup>-1</sup> 是变异油菜不定芽生根的理想培养基。

表 2 不同培养基对生根的影响

IAA /mg ° L <sup>-1</sup>	NAA /mg ° L <sup>-1</sup>	2,4-D /mg ° L <sup>-1</sup>	生根 数/个	生根 率/%	根数 /个	长势
0	0	0	0/0	0/0	0/0	
0.4	0	0	19/20	95/100	5.8/7.8	+++ /++++
0.8	0	0	19/19	95/95	6.0/7.2	+++ /++++
1.2	0	0	0/5	0/25	0/3.1	/+++
1.6	0	0	0/0	0/0	0/0	
0	0.4	0	3/6	15/30	2.0/3.5	+ /++
0	0.8	0	2/2	10/10	1.5/2.0	+ /++
0	1.2	0	0/0	0/0	0/0	
0	1.6	0	0/0	0/0	0/0	
0	0	0.4	0/0	0/0	0/0	
0	0	0.8	0/0	0/0	0/0	
0	0	1.2	0/0	0/0	0/0	
0	0	1.6	0/0	0/0	0/0	

注: (1)接种数量均为 20; (2)“/”前为 1/2MS, 后为 1/3MS.

2.4 移栽

将生根苗培养瓶瓶塞打开, 置于光强约 4 000lx、温度 20℃左右的条件下炼苗 3~4 d 后, 用镊子取出, 洗去基部培养基, 移栽到不同基质的花盆中或温室苗床上. 20 d 后观察统计. 由表 3 可见, 以河沙、炉灰渣和珍珠岩为移栽基质成活率较高, 且长势较好. 观察还表明, 以炉灰渣为移栽基质时, 不仅成活率最高, 而且成活苗长势也最好. 这说明炉灰渣是油麦菜试管苗移栽的理想基质. 田间和温室内的少量试验证明, 具有优良变异性的油麦菜试管苗长势旺盛而整齐, 优良的变异性状保持不变, 单位面积可食嫩叶产量比实生苗可提高 9%~14%.

表 3 不同移栽基质对成活的影响

基质	移栽数/个	成活数/个	成活率/%	长势
园土	40	0	0	
河沙	40	36	90	++
炉灰渣	40	40	100	+++
珍珠岩	40	36	90	++

3 讨论

迄今为止, 虽然已多有菊科莴苣属栽培植物组织培养的报道<sup>[2-7]</sup>, 但未见油麦菜组织培养及无性系建立的报道. 本研究利用油麦菜嫩茎的腋芽为外植体诱导形成的芽, 能以较高分化率分化出不定芽证明: 油麦菜嫩茎芽在离体条件下仍具有较强的生长分化力, 这说明, 通过组织培养的方法, 能使大批

栽培中偶尔发生的有利变异植株得到保存, 为优良变异品系保存和利用提供了可能.

对芽进行分化培养, 40 d 的分化率为 7.6, 按照这个增殖速度, 年增殖率为 7.6<sup>9</sup>. 用生根继代培养方法对油麦菜进行增殖培养, 按照 3.5 倍/25 d 的增殖速度计算, 年增殖率为 3.5<sup>14</sup>. 这说明, 不论采用哪种方法进行快速繁殖, 一年内可增殖出大量的油麦菜试管苗. 但是, 从试管苗的长势和有效苗比率的角度看, 以生根继代方法进行繁殖更有利于生产. 用这种方法繁殖的试管苗具有防止发生性状分离, 能保留优良性状不变和产量较高的优点. 田间小批量栽培的试管苗也完全证明这一点. 因此, 用这种方法繁殖油麦菜优良变异植株, 能够进行工厂化育苗, 满足生产上对优良油麦菜种苗的需求.

在生根培养时, 使用 IAA 效果较好, 这是因为 IAA 为植物天然生长素, 在光照条件下分解. 把待生根的不定苗插入到以 IAA 为生长素的生根培养基中, 1 周左右诱导形成根原基, 此时 IAA 因光照大部分分解, 使其含量降低到不至于抑制根的伸长生长的浓度.

在移栽过程中, 炉灰渣为较好的移栽基质, 这是因为炉灰渣为黑色物质, 具有很好吸光作用, 有利于增温, 为幼苗生长提供较高温度, 并且炉灰渣是经高温炼烧后所得, 所带杂菌少, 加之其来源较广, 四季皆可获得, 因此, 炉灰渣是变异油麦菜试管苗移栽的理想基质.

参考文献:

[1] 张宝海, 孙京涛, 韩向阳. 30 种新兴叶菜栽培[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 68-71.

[2] 李丹, 山红艳, 邵素清, 等. 美国叶用莴苣的组织培养与植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(2): 148.

[3] 朱路英, 刘玲, 孟祥栋, 等. 叶用莴苣离体培养和植株再生[J]. 园艺学报, 2002, 29(2): 181-182.

[4] 高昌勇, 尚宏芹. 叶用莴苣组织培养研究[J]. 菏泽学院学报, 2004, 26(4): 61-62.

[5] 李鹏飞. 结球莴苣顶芽及叶片组织培养[J]. 华南农学院学报, 1980, 1(3): 39-42.

[6] 钟仲贤. 结球生菜的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1988, 24(6): 37-38.

[7] 刘选明. 结球生菜叶片器官发生的研究[J]. 湖南农学院学报, 1990, 1(3): 233-240.