

马齿苋组培与耐盐筛选

唐文杰,王 玉,周泉澄,张边江

(南京晓庄学院 生物化工与环境工程学院,江苏 南京 211171)

摘要:为了扩大耐盐植物资源,促进沿海滩涂植物资源利用,以马齿苋(*Portulaca oleracea* L.)的嫩叶和茎段为试验材料,研究了不同浓度激素和 NaCl 对愈伤组织生长与分化的影响。结果表明:MS+0.10 mg·L⁻¹ NAA 时,马齿苋茎段生根率较高,生长健壮;MS+2.00 mg·L⁻¹ 6-BA 是不定芽诱导的最适培养基;MS+2.00 mg·L⁻¹ 6-BA+1.00 mg·L⁻¹ NAA 是分化的最适培养基;在最适分化培养基中添加 100 mmol·L⁻¹ NaCl,诱导产生的愈伤组织为 5%,大部分愈伤组织生长受抑制,同时也说明马齿苋具有一定的耐盐性。

关键词:马齿苋;组织培养;植株再生;耐盐

中图分类号:S567.21

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)03-0007-03

中国有 3 000 万 hm² 以上的盐渍地和 700 万 hm² 左右的次生盐渍化土地,其中沿海滩涂面积达 353 万 hm²^[1],是具有开发潜力的巨大的国土资源,充分利用沿海滩涂,对于盐碱地区的发展具有积极意义,也是我国沿海开发战略的重要内容之一。马齿苋对气候和土壤等环境条件的适应性极强,几乎可以在任何土壤上生长^[2],且具有一定的耐盐性^[3]。杨彩宏等^[4]发现马齿苋种子耐盐性较强,当 NaCl 浓度为 160 mmol·L⁻¹ 时,其种子萌发率仍高达 53.33%,王桂芹等^[5]研究发现盐生马齿苋具有适应盐渍环境的结构特征,因此马齿苋是盐碱滩涂上值得开发利用的一种药用植物资源。

通过不同浓度的盐处理,可筛选马齿苋耐盐突变体,通过生物技术改良马齿苋,使马齿苋更能适应盐渍土的环境,从而减缓土壤盐渍化对土壤的危害。现采用马齿苋的幼叶和幼茎建立了组织培养及再生体系,为马齿苋的开发利用、种质改良及利用细胞工程生产有效成分方面的研究提供技术参考,通过开展马齿苋组织培养、快繁与耐盐突变体筛选的生物技术育种,可扩大耐盐植物资源,促进沿海滩涂进行综合产品开发利用和地区经济发展。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为幼嫩的马齿苋(现采现用,采自南京方山)、马齿苋种子。

1.2 方法

1.2.1 无菌材料的获得 将处于旺盛生长中叶色浓绿、比较幼嫩的马齿苋茎和叶片、马齿苋种子用自来水冲洗干净,在超净工作台上用 70% 酒精进行表面预消毒 30 s;无菌蒸馏水冲洗 2 次;0.1% 升汞液消毒处理 10 min 后立即用无菌蒸馏水漂洗 4~5 次,以彻底冲洗掉消毒液,即可得到无菌的外植体。

1.2.2 茎段生根和愈伤组织的诱导 以 MS+30 g·L⁻¹ 蔗糖+8 g·L⁻¹ 琼脂为基本培养基,分别将茎段、叶片放入含基本培养基附加不同浓度的激素 NAA(0, 0.05, 0.10, 0.15 mg·L⁻¹)、6-BA(1.50, 2.00, 2.50 mg·L⁻¹) 的培养瓶中,放在温度为 25℃ 的培养室内进行培养。

1.2.3 分化与再生 将诱导出的马齿苋愈伤组织,切分后分别继代培养于附加不同浓度激素 NAA(0.50, 1.00, 1.50 mg·L⁻¹) 和 1.2.2 确定的最适浓度 6-BA 的培养基中培养分化再生苗,接种到 NAA 的培养基上诱导生根。

1.2.4 盐胁迫与耐盐植株的筛选 在最佳诱导愈伤培养基中分别加入 0, 100, 150, 200 和 250 mmol·L⁻¹ NaCl。将切成适当大小的无菌马齿苋叶片及马齿苋种子分别接种于 1.2.3 确定的最佳 NAA、6-BA 浓度的培养基中,每个浓度的培养基接种 8 瓶,放在温度为 25℃ 的培养室内进行培养。

收稿日期:2013-01-04

基金项目:江苏省大学生创新训练资助项目(2160081);江苏省教育厅高校自然科学基金资助项目(08 KJD180012)

第一作者简介:唐文杰(1989-),女,江苏省灌南县人,在读学士,从事作物生理研究。

通讯作者:张边江(1979-),男,江苏省东海县人,博士,副教授,从事作物生理研究。E-mail:zhangbjjiang@yahoo.cn。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 NAA 对马齿苋茎段生根的影响

由表 1 可以看出,不同浓度 NAA 对马齿苋

茎段生根的快慢、粗细和数量都有显著影响,最适生根的 NAA 浓度为 $0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 1 不同 NAA 浓度对马齿苋茎段生根的影响

Table 1 The effect of different NAA concentration on root of *Portulaca oleracea* L. stem

NAA/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	接种数/株 Inoculated number	生长情况 Growth situation
0	30	根很细,15 d 生根率 40%,30 d 根全部长出
0.05	30	根较细,15 d 生根率 70%,22 d 根全部长出
0.10	30	根较粗,15 d 时根全部长出,生根率高达 100%
0.15	30	根较细,15 d 时生根率为 80%,20 d 根全部长出

2.2 不同浓度 6-BA 对马齿苋愈伤组织的诱导

由表 2 和图 1 可以看出,在 MS 培养基中,附加不同浓度的 6-BA 对其诱导愈伤组织的质量、生长速度和诱导率均有显著的影响,以培养基 MS+ $2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 产生的愈伤组织速度最快,质量最好,诱导率达 89%,之后随着 6-BA 浓度的升高,诱导率降低,且愈伤组织的生长速度随之变慢。图 1 是在 6-BA 为 $2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的情况下的生长状况。



图 1 6-BA 在最佳状态下的愈伤情况

Fig. 1 Plantlet regeneration of callus of *Portulaca oleracea* L.

表 2 不同浓度 6-BA 对马齿苋愈伤组织的诱导
Table 2 The effects of different 6-BA concentration on callus induction of *Portulaca oleracea* L.

6-BA/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	接种数/个 Inoculated number	诱导率/% Inductivity
1.50	80	72
2.00	80	89
2.50	80	81

2.3 不同浓度 NAA 对诱导再生植株的影响

试验发现,在 MS+ $2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 中分别附加不同浓度的 NAA 可使马齿苋愈伤组织表面形成较大凸起,进而生芽,最后丛生芽密布整块愈伤组织。从表 3 可以看出,在 NAA 浓度低于 $1.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随浓度的升高,分化率增大,NAA 浓度为 $1.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,分化率最高,达 98%,高于此浓度时,分化率降低。

表 3 不同浓度 NAA 对马齿苋再生的影响
Table 3 The effects of different concentration NAA on plantlet regeneration of *Portulaca oleracea* L.

分化培养基 Differential medium	接种数/个 Inoculated number	分化率/% Differentiation rate
$2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA	30	62
$2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $1.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA	30	98
$2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $1.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA	30	81

2.4 不同浓度 NaCl 对马齿苋叶片诱导愈伤的影响

由表 4 可以看出,NaCl 会抑制马齿苋幼嫩叶片的生长,且随着 NaCl 浓度的增加,马齿苋幼嫩叶片生长形成愈伤组织受到的抑制越明显,当

NaCl 浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,叶片多数褐化,诱导率为 5%,当浓度为 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,诱导率只有 2%,高于此浓度时,叶片全部褐化,说明马齿苋具有一定的耐盐性。

表 4 不同浓度 NaCl 对马齿苋叶片诱导愈伤的影响

Table 4 The effects of different NaCl concentrations on callus induction of *Portulaca oleracea* L. leaf

NaCl/mmol·L ⁻¹	接种数/个 Inoculated number	诱导率/% Inductivity	生长状况 Growth situation
0	80	89	绿色芽点密布整块愈伤组织
100	80	5	多数褐化,绿色芽点愈伤致密
150	80	2	大多数褐化,绿色芽点愈伤致密
200	80	0	叶片全部褐化,未愈伤化
250	80	0	叶片全部褐化,未愈伤化

3 结论与讨论

试验结果表明,马齿苋的茎段生根对 NAA 较敏感,高浓度的 NAA 不但不能加速根的生长,反而使根的生长速度减慢,生根的 NAA 浓度不宜过高,浓度适宜的 NAA(0.10 mg·L⁻¹)能促进根的生成。马齿苋叶片通过切分成小块诱导愈伤组织,在一定浓度范围内,随着 6-BA 浓度的升高,诱导的愈伤组织愈多,当 6-BA 浓度超过 2.00 mg·L⁻¹时愈伤组织减少,诱导的愈伤再切成小块进行分化,只有在浓度适宜的 NAA 与 6-BA 配合时才能促进愈伤分化,当 NAA 浓度超过 1.00 mg·L⁻¹分化率变小,说明适宜的生长素与细胞分裂素配比有利于马齿苋芽的分化。

随着组织培养技术的日益成熟,近十几年来国内外学者利用组织培养技术结合化学(EMS、抗菌素等),物理(⁶⁰Co、 γ 射线等)的诱变方法筛选植物耐盐突变体,并取得一定的进展,已筛选出小麦^[6]、水稻^[7]、番茄^[8]、玉米^[9]和蒲公英^[10]等植物的耐盐细胞系并再生出植株。相关研究表明马齿苋具有一定的耐盐性,该研究中发现 NaCl 胁迫对马齿苋叶片发育长出愈伤组织有一定抑制作用,在对照培养基中,马齿苋叶片长出愈伤组织的频率是 89%,但在添加 100 mmol·L⁻¹ NaCl 的培养基中,诱导产生的愈伤组织只有 5%,大部分愈伤组织生长受抑制,同时也说明马齿苋具有一定的

耐盐性,但随着盐浓度的增加,马齿苋叶片的生长受到明显抑制。

马齿苋具有较强的耐盐性,可以成为发展盐土农业的先锋植物,对进一步加快我国农业经济的可持续发展、拓展农业发展空间具有重要的战略意义。在今后的研究中要加强马齿苋耐盐机理的研究及其耐盐品种的繁育,加强产品深加工研究。

参考文献:

[1] 赵可夫,范海. 盐生植物及其对盐渍生境的适应机理[M]. 北京:科学出版社,2005:43-44.

[2] 王光全,孟庆杰. 药食兼用佳蔬马齿苋栽培技术[J]. 北方园艺,2006(6):79.

[3] 邓蕾. 马齿苋的生长发育和高产培育的肥力运筹[D]. 江苏扬州:扬州大学,2009:7.

[4] 杨彩宏,冯莉,岳茂峰. 恶性杂草马齿苋种子萌发特性的研究[J]. 植物保护,2009,35(1):62-65.

[5] 王桂芹,陈略林,段亚军. 盐生马齿苋解剖学研究[J]. 植物研究,2005,25(4):406-409.

[6] 王鸣刚,王毓美,牛炳韬,等. 小麦耐盐系筛选及稳定性研究[J]. 兰州大学学报:自然科学版,1999(1):149-153.

[7] 陈火英,张建华,张晓宁. 栽培番茄耐盐突变体的离体筛选[J]. 上海交通大学学报:农业科学版,2002,20(1):1-6.

[8] 冯桂苓,谢兆印,杨文珍,等. 水稻成熟胚愈伤组织耐盐变异体的筛选[J]. 天津农业科学,1996(3):6-8.

[9] 张举仁,高树芳,于家驹,等. 玉米耐盐愈伤组织的筛选及植株再生[J]. 植物学报,1991,33(1):887-889.

[10] 陈华,李银心. 蒲公英研究进展和用生物技术培育耐盐蒲公英展望[J]. 植物学通报,2004,21(1):19-25.

Tissue Culture and Salt Resistance Selection of *Portulaca oleracea* L.

TANG Wen-jie, WANG Yu, ZHOU Quan-cheng, ZHANG Bian-jiang
(Biochemical and Environmental Engineering School of Nanjing Xiaozhuang College, Nan-jing, Jiangsu 211171)

Abstract: In order to expand salt-tolerant plants, promote the coastal beach plant resources utilization. With the stem and tender leaves of *Portulaca oleracea* L. as experimental material, the effects of different concentration of 6-BA and NAA and NaCl on growth and differentiation of callus were studied. The results showed that when MS+0.10 mg·L⁻¹ NAA, the rooting of stem cutting was relatively high. MS+2.00 mg·L⁻¹ 6-BA was the optimal medium for adventitious bud induction; MS+2.00 mg·L⁻¹ 6-BA+1.00 mg·L⁻¹ NAA was the optimal medium for differentiation. When stressed by 100 mmol·L⁻¹ NaCl on the optimal differentiation medium, the callus induce frequency was only 5% and the formation of callus was inhibited, it indicated that *Portulaca oleracea* L. had certain salt resistance.

Key words: *Portulaca oleracea* L.; tissue culture; plantlet regeneration; salt-tolerance