

苋菜愈伤组织诱导的研究

刘生财, 杨琼, 赖钟雄*

(福建农林大学园艺植物生物工程研究所, 福建福州 350002)

摘要: 以苋菜种子为试材诱导无菌苗, 取幼苗期下胚轴、子叶和壮苗期茎段、叶片作为外植体, 比较不同组织部位对愈伤组织诱导效果的影响, 并探讨不同质量浓度 NAA 对苋菜愈伤组织诱导的影响。结果表明, 以苋菜壮苗期叶片和茎段为外植体的愈伤组织诱导率比幼苗期下胚轴和子叶高, 表现为叶片 > 茎段 > 下胚轴 > 子叶; 苋菜壮苗期茎段、叶片在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 3.0 mg/L 培养基上诱导愈伤组织的效果最好, 诱导率分别为 98.7% 和 99.3%。

关键词: 苋菜; 愈伤组织; 诱导; 苗期

中图分类号: S636.4 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2013)01-0090-04

Study on Callus Induction from *Amaranthus tricolor* L.

LIU Sheng-cai, YANG Qiong, LAI Zhong-xiong*

(Institute of Horticultural Biotechnology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: In this experiment, seeds of *Amaranthus tricolor* L. were used to produce plantlets. The differences in callus induction were compared among hypocotyls, cotyledons of young seedling stage and stem segments, leaves of adult seedling stage. Meanwhile, the effects of the different concentrations of NAA on callus induction were analyzed. The results showed that calli occurred better at the adult seedling stage than at young seedling stage. The order of induction effects as explants was: leaves > stem segments > hypocotyls > cotyledons. The best medium for callus induction from stem segments and leaves of the adult seedling stage was MS medium supplemented with 0.5 mg/L 6-BA and 3.0 mg/L NAA, on which the induction rate was 98.7% and 99.3%, respectively.

Key words: *Amaranthus tricolor* L.; callus; induction; seedling period

苋菜 [*Amaranthus tricolor* L. (syn *A. mangostanus* L.)] 又称苋, 是苋科苋属中 1 年生草本植物, 富含多种营养成分, 是十分优良的菜、粮、药兼用作物^[1-2], 其价值和功能已逐渐受到人们重视, 并得到了开发利用^[2-4]。另外, 随着科学的发展, 合成色素对人体健康的危害越来越引人注目, 为了提高食品的安全性, 世界各国正大力开发和利用天然色素。而苋菜的茎、叶内富含红色素, 可作为食品添加剂,

其着色效果好, 发展潜力巨大^[5-8]。

植物愈伤组织的诱导受到很多因素影响, 如外植体的来源、生理年龄、大小以及生长调节剂等^[9]。植物不同外植体的愈伤组织诱导效果和同一外植体在不同激素浓度中的愈伤组织诱导效果均有一定差异^[10]。龚玉莲等^[11]研究发现, 不同组织部位和生长调节剂都是影响狗肝菜愈伤组织诱导的重要因素。有关苋科植物愈伤组织诱导也有一定研究。杨烁等^[12]研究表

收稿日期: 2012-07-13

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD07B03); 福建农林大学园艺学博士后基金项目; 福建农林大学青年教师基金项目(2011xjj04)

作者简介: 刘生财(1980-), 男, 黑龙江密山人, 讲师, 博士, 主要从事园艺植物生物技术与遗传资源研究。

E-mail: lshc800328@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 赖钟雄(1966-), 男, 福建德化人, 研究员, 博士生导师, 主要从事园艺植物生物技术与遗传资源研究。

E-mail: laizx01@163.com

明, 变异型野生反枝苋愈伤组织诱导的最适培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 1.5 mg/L。王红艳等^[13]利用马齿苋的叶片诱导出愈伤组织。刘南波等^[14]探讨了不同激素配比对尾穗苋无菌苗下胚轴和子叶愈伤组织诱导的影响。但是有关苋菜试管苗诱导愈伤组织的研究尚未见报道。鉴于此, 以苋菜种子为试材诱导无菌苗, 取幼苗期下胚轴、子叶和壮苗期茎段、叶片作为外植体, 比较它们之间愈伤组织诱导效果的差异, 并探讨不同质量浓度 NAA 对苋菜愈伤组织诱导的影响, 为今后利用其愈伤组织分化再生植株, 以及筛选苋菜优良细胞系提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

以福州产的特选圆红叶苋菜种子为试材, 接种于 MS 培养基上, 获得无菌苗。将无菌苗分成两部分。材料 1: 以培养 7 d, 长约 2~3 cm 的无菌小苗作为幼苗期材料。材料 2: 将部分幼苗期材料转接到不定芽诱导培养基 (MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L)^[14] 中进行培养, 将所获得的长势一致的不定芽作为壮苗期材料。

1.2 试验方法

1.2.1 苋菜无菌系的建立 选取饱满的苋菜种子, 在无菌条件下, 用体积分数为 75% 的乙醇浸泡并振荡 1 min, 再用 0.1% 的 HgCl₂ 表面消毒 8 min, 无菌水反复冲洗 5 次, 无菌滤纸吸干水分待用。在超净工作台上, 将已消毒的种子接种于附加 30 g/L 蔗糖、6 g/L 琼脂的 MS 培养基 (pH 值 5.8) 中, 每瓶接种 50 粒, 接种 70 瓶, 进行无菌萌发, 获得长势一致的幼苗。将材料 1 (幼苗期) 分别切取子叶和下胚轴, 材料 2 (壮苗期) 分别切取叶片和茎段, 待用。

1.2.2 不同质量浓度 NAA 对苋菜愈伤组织诱导的影响 将子叶和下胚轴、叶片和茎段分别接种于添

加 NAA 0、1.0、2.0、3.0、4.0 mg/L 的 MS 培养基中, 附加 6-BA 0.5 mg/L、蔗糖 30 g/L、琼脂 6 g/L, pH 值 5.8。比较不同质量浓度 NAA 对苋菜愈伤组织诱导的影响。

1.3 培养条件

将上述处理的材料置于培养室中培养, 光照强度 1500 lx, 光照时间 12 h/d, 培养温度 (25±1) °C。培养 20 d 后, 观察愈伤组织的诱导情况, 并统计诱导率。诱导率=诱导愈伤组织外植体数/接种外植体数×100%, 每种处理接种 50 个外植体, 重复 3 次, 即每种处理的接种数均为 150 个外植体。

1.4 数据处理

采用 Excel 和 DPS 等软件进行数据处理与分析。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度 NAA 对苋菜幼苗期愈伤组织诱导的影响

不同质量浓度 NAA 对苋菜幼苗期愈伤组织诱导的影响见表 1 和图 1。从表 1 可以看出, NAA 质量浓度在 0~2.0 mg/L 时, 以子叶和下胚轴为外植体时的愈伤组织诱导率都为 0。当 NAA 的质量浓度增加到 3.0 mg/L 时, 下胚轴有略透明的小块状愈伤组织出现, 但诱导率很低, 只有 2.0%; 子叶诱导出的愈伤组织非常少, 诱导率只有 0.5%。当 NAA 的质量浓度为 4.0 mg/L 时, 诱导率增加, 其中下胚轴诱导率为 8.7%, 下胚轴端有透明小块状, 数量很少 (图 1-E); 子叶诱导率为 4.7%, 有略透明小块状的愈伤组织出现, 数量很少 (图 1-F)。

综合以上结果分析, 苋菜幼苗期的子叶和下胚轴在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 4.0 mg/L 培养基上的愈伤组织诱导效果好于其他处理, 但 NAA 的最佳质量浓度还有待进一步研究。

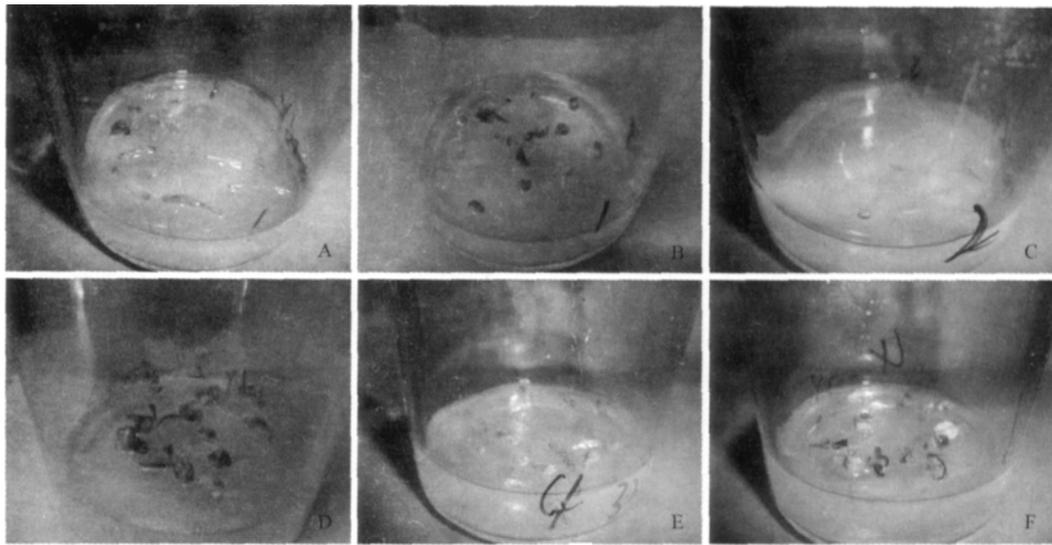
表 1 不同质量浓度 NAA 对幼苗期苋菜不同外植体愈伤组织诱导的影响

NAA 质量浓度/(mg/L)	诱导愈伤组织数/个		诱导率/%		愈伤组织诱导情况	
	下胚轴	子叶	下胚轴	子叶	下胚轴	子叶
0	0	0	0	0		
1.0	0	0	0	0		
2.0	0	0	0	0		
3.0	3	0	2.0	0.5	少量诱导愈伤组织, 略透明小块状	几乎没有诱导愈伤组织
4.0	13	7	8.7	4.7	有部分诱导愈伤组织, 呈透明小块状	略透明小块状, 诱导率低

2.2 不同质量浓度 NAA 对苋菜壮苗期愈伤组织诱导的影响

从表 2 可以看出, 在一定 NAA 质量浓度范围

内, 叶片和茎段的愈伤组织诱导率随着 NAA 质量浓度升高而增加, 当 NAA 质量浓度为 3.0 mg/L 时诱导率最高, 叶片的诱导率达到 99.3%, 愈伤组织



A、C、E 与 B、D、F 分别为下胚轴与子叶在 NAA 1.0、2.0、4.0 mg/L 培养基上诱导的愈伤组织

图 1 不同质量浓度 NAA 下幼苗期苋菜不同外植体诱导的愈伤组织

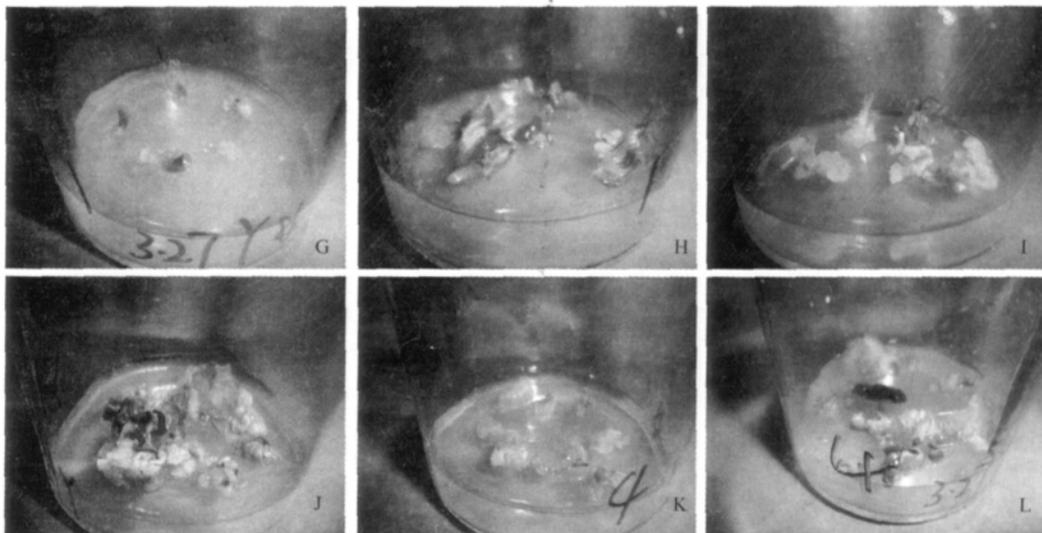
呈良好的松散的细颗粒状,诱导效果最好(图 2—J);茎段诱导率达到 98.7%,愈伤组织呈黄白色透明块状,块状体积最大(图 2—I)。当 NAA 质量浓度增加到 4.0 mg/L 时,叶片和茎段的诱导率都略有下降,其诱导效果也不如 NAA 3.0 mg/L 的处

理,诱导出的愈伤组织数量也较少(图 2—K、图 2—L)。

综合以上结果分析,苋菜壮苗期的叶片和茎段在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 3.0 mg/L 培养基上诱导愈伤组织效果最好,诱导率最高。

表 2 不同质量浓度 NAA 对壮苗期苋菜不同外植体愈伤组织诱导的影响

NAA 质量浓度/(mg/L)	诱导出愈伤组织数/个		诱导率/%		愈伤组织诱导情况	
	叶片	茎段	叶片	茎段	叶片	茎段
0	0	0	0	0		
1.0	135	132	90.0	88.0	叶边缘分化,分化量少	茎端有分化,略透明小块状
2.0	140	139	93.3	92.6	细颗粒状,分化量少	透明块状
3.0	149	148	99.3	98.7	呈黄白色细颗粒状,分化量最大	黄白色透明块状,块状体积最大
4.0	145	144	96.7	96.0	呈黄白色细颗粒状,分化量较大	呈黄白色透明块状,块状体积较大



G、I、K 和 H、J、L 分别为茎段和叶片在 NAA 1.0、3.0、4.0 mg/L 培养基上诱导的愈伤组织

图 2 不同质量浓度 NAA 下壮苗期苋菜不同外植体诱导的愈伤组织

以上分析表明, 苋菜试管苗诱导愈伤组织能力的顺序为叶片>茎段>下胚轴>子叶, MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 3.0 mg/L 培养基是苋菜壮苗期叶片和茎段诱导愈伤组织的最佳培养基。

3 讨论

3.1 壮苗期的外植体有利于苋菜愈伤组织的诱导

外植体的状况如来源、生理年龄、大小等, 是决定愈伤组织诱导情况的重要因素^[9]。本研究结果发现, 苋菜以壮苗期叶片和茎段为外植体诱导愈伤组织的效果要好于幼苗期下胚轴和子叶。肖燕等^[15]以苜蓿的无菌苗下胚轴、子叶及叶片为外植体进行试验, 确定下胚轴为诱导愈伤组织的最佳外植体。这与本研究结论相反, 可能是由于 2 个物种之间的外植体自身差异造成的。本研究结果与王蒂^[9]的观点相一致, 一般来说, 双子叶植物形态发生常用的外植体依次为叶片、茎段、胚轴、子叶, 也就是说, 有些双子叶植物最适宜的诱导材料是叶片、茎段, 其次才是胚轴、子叶。本研究以苋菜幼苗期材料为外植体时, 诱导愈伤组织的效果没有壮苗期材料效果好, 可能是因为外植体过于细小而导致其诱导率低, 也可能是因为壮苗期的苋菜在培养过程中, 其培养基添加有一定的生长激素^[16], 导致其体内有一些生长激素积累, 而幼苗期的小苗只在 MS 基本培养基中培养, 无生长激素的积累, 从而导致苋菜愈伤组织诱导率过低, 但具体原因还需要进一步研究。

3.2 一定质量浓度的 NAA 可以促进苋菜愈伤组织的诱导

不同外源激素 6-BA、2,4-D、KT 和 NAA 的合理组合能提高愈伤组织的诱导率^[17], 但激素浓度过高或过低均不利于愈伤组织的诱导和生长^[18]。植物激素对苋菜愈伤组织诱导影响显著。6-BA 作为细胞分裂素, 能促进细胞分裂、非分化组织分化和生物体内物质的积累等, 而 NAA 作为生长素能够诱导细胞分裂, 促进细胞伸长等, 这 2 种激素在合适的质量浓度组合下有利于愈伤组织的诱导^[9]。研究^[12,19-20]证实, 当 6-BA 的质量浓度一定时, 愈伤组织的诱导率会随着 NAA 质量浓度的增加而上升, 达到一定质量浓度后, 诱导率会呈下降趋势, 这与本试验结果一致。

参考文献:

[1] 任海云. 蔬菜和粮食作物——苋[J]. 生命世界, 1986,

18(2):8.

- [2] 玄永浩, 金银哲, 刘旭, 等. 苋菜药理作用研究进展[J]. 长江蔬菜, 2010(11):1-4.
- [3] 彼马. 清热解毒说苋菜[J]. 长寿, 2009(6):3.
- [4] 于淑玲. 药食保健野菜——苋菜的开发利用[J]. 资源开发与市场, 2010, 26(2):141-142.
- [5] 侯蕴华, 吴紫华, 张立实, 等. 食用天然苋菜红色素安全性毒理学研究[J]. 四川生理科学杂志, 1989(2):55.
- [6] 杨瑞因, 李曙轩. 苋菜的叶绿素和花青素含量变化[J]. 植物生理学, 1986(4):27-29.
- [7] 王怀宗, 金玲玲, 王武, 等. 微波萃取苋菜红色素及其稳定性的研究[J]. 食品研究与开发, 2008(9):45-47.
- [8] 张平. 几种常见彩叶植物的色素组成与叶色关系的研究[J]. 山东林业科技, 2008(3):14-16.
- [9] 王蒂. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004:46-47.
- [10] 高慧卿, 樊兰瑛, 王秀红, 等. 东方百合不同外植体愈伤组织诱导效果[J]. 山西农业科学, 2010, 38(9):11-13, 19.
- [11] 龚玉莲, 李瑜丹, 柯少娥, 等. 不同生长调节剂对狗肝菜愈伤组织诱导和离体快繁的影响[J]. 生物磁学, 2004, 4(4):4-7.
- [12] 杨烁, 韩丹女, 吴争, 等. 变异苋菜无性系建立的研究[J]. 农业与科技, 2007, 27(3):69-72.
- [13] 王红艳, 王鸿磊, 王洪芹. 根癌农杆菌介导马齿苋遗传转化体系的研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(4):139-143.
- [14] 刘南波, 郑穗平. 尾穗苋种子萌发及愈伤组织的诱导研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(1):15-18.
- [15] 肖燕, 张博, 范永刚, 等. 6-BA、NAA 对苜蓿不同外植体愈伤组织培养的影响[J]. 新疆农业科学, 2007, 44(5):658-662.
- [16] 刘生财, 杨文文, 赖钟雄. 苋菜高效离体再生体系的建立[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2011, 40(5):479-484.
- [17] 曾燕楠, 张宁宁, 衡燕邵, 等. 红掌愈伤组织高效再生体系建立研究[J]. 现代农业科技, 2012(3):243, 251.
- [18] 卫双玲, 张海洋, 郑永战, 等. 芝麻子叶及下胚轴愈伤组织诱导研究[J]. 河南农业科学, 2007(2):41-42, 45.
- [19] 辜夕容, 黄建国, 杨庆. 香樟离体培养体系的构建初探[J]. 中国农学通报, 2005, 21(2):97-100.
- [20] 张兆功, 邵登魁, 李莉. NAA、6-BA 对不同熟性甘蓝子叶期愈伤组织诱导的影响及其丛生芽发生[J]. 西北农学通报, 2011, 20(1):128-132.