

林丽飞, 李绍梅, 刘春国, 等. 重金属铬、银对短葶飞蓬愈伤组织诱导的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(9): 48–50.

重金属铬、银对短葶飞蓬愈伤组织诱导的影响

林丽飞¹, 李绍梅², 刘春国³, 张灿邦¹, 夏瑞娥⁴, 杨 丽¹

(1. 云南省农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室/红河学院, 云南蒙自 661100; 2. 云南省金平县农业局, 云南金平 661500

3. 云南省建水县临安镇农业综合服务中心, 云南建水 654300; 4. 西南大学, 重庆 400715)

摘要:以无菌短葶飞蓬试管苗为材料, 以 MS 为基本培养基, 在诱导培养基中加入不同浓度的 AgNO_3 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 研究 Ag^+ 和 Cr^{6+} 对短葶飞蓬愈伤组织诱导的影响。结果表明, 培养基中分别加入 AgNO_3 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 均能降低污染率; 低浓度的 AgNO_3 、 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 对短葶飞蓬愈伤组织的诱导影响较小, 高浓度对愈伤组织诱导具有一定的抑制作用。

关键词:铬; 银; 短葶飞蓬; 愈伤组织

中图分类号: Q943.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2014)09–0048–02

随着工农业的发展, 三废(废水、废气、废渣)的排放量急剧增加, 致使一些重金属元素在环境中的含量大增, 对生物造成严重毒害作用。铬作为工业的“五毒”之一, 是一种毒性较大的致畸、致突变剂^[1]。有关铬的研究, 主要集中在铬对小麦、大麦、水稻等作物的毒害^[2–4]。 AgNO_3 在大麦、水稻、二粒小麦、硬粒小麦、玉米等单子叶植物组织培养中均有促进愈伤组织分化的作用^[5–10]。短葶飞蓬[*Erigeron breviscapus* (Vaniot) Hand. – Mazz.], 属菊科(Compositae)飞蓬属(*Erigeron*)植物, 产于湖南、广西、贵州、四川、云南、西藏等省区, 常见于海拔 1 200~3 500 m 的中山和高山开阔山坡、草地、林缘^[11], 是一种民间常用药用植物^[12], 具有重要的药用价值^[13–16], 全草药, 已入《中华人民共和国药典》, 目前对于短葶飞蓬研究主要集中于病虫害防治研究方面^[17–22], 虽然关于短葶飞蓬组织培养方面的研究也有报道^[23–28], 但是关于组织培养过程中重金属对短葶飞蓬的影响鲜见报道, 本试验利用短葶飞蓬的组织培养来研究铬、银对植物生长发育的影响, 探讨重金属在植物体内的积累以及对植物的毒害作用, 从而为减轻和治理土壤铬、银污染提供依据, 预防其对动植物以及人类的毒害作用。

1 材料与方法

基本培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L, 在基本培养基中分别加入 10、20、40、50、60、80、100、150、200、250 $\mu\text{mol/L}$ AgNO_3 和 10、20、40、50、60、80、100、150、200 $\mu\text{mol/L}$ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ^[28]。

上述培养基均添加 2.5% 蔗糖、0.7% 琼脂, pH 值 5.8, 培养温度 25 $^{\circ}\text{C}$, 光照度 2 000 lx, 光照时间 16 h/d。

收稿日期: 2013–11–25

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 60748002); 云南省应用基础研究项目(编号: 2009ZC131M); 第一批红河学院中青年学术带头人后备人才项目(编号: 2010PY0104); 红河学院校级项目(编号: XJ1Y0801)。

作者简介: 林丽飞(1978—), 女, 云南建水人, 硕士, 副教授, 从事植物细胞工程的研究。E-mail: llf_biology2@126.com。

通信作者: 张灿邦, 硕士, 教授, 主要从事光学物理研究。E-mail: cbzhanguo@163.com。

选取相同条件下的短葶飞蓬试管苗叶片, 切成 1~2 cm^2 , 分别接种于不同处理的培养基中, 7 d 后观察出愈率。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的 AgNO_3 对短葶飞蓬愈伤组织诱导的影响

由表 1 可以看出, 培养基中加入不同浓度 AgNO_3 能够不同程度抑制愈伤组织的形成, 使愈伤组织形成相对较慢, 但与对照组相比, 外植体明显加厚和卷曲, 污染率低。 AgNO_3 浓度从 10 $\mu\text{mol/L}$ 增加至 250 $\mu\text{mol/L}$, 都能够诱导出愈伤组织, 但浓度越大, 愈伤组织形成越少, 其中以培养基中添加 10、20、100 $\mu\text{mol/L}$ AgNO_3 时愈伤组织生长最好; 当浓度增至 150~250 $\mu\text{mol/L}$ 时, 外植体能够不同程度膨胀, 也能形成愈伤组织, 但形成愈伤少而紧密。

2.2 不同浓度的 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 对短葶飞蓬愈伤组织诱导的影响

由表 2 可以看出, 培养基中 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 的加入使污染率降低, 但会不同程度抑制愈伤组织的形成, 使愈伤组织形成时间较对照相对较晚, 但较培养基中加入 AgNO_3 的早。 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度从 10 $\mu\text{mol/L}$ 升高到 200 $\mu\text{mol/L}$ 时, 就总体结果而言, 随着 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的不断增大, 愈伤组织形成受抑制越明显, 愈伤组织寿命缩短。 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度达到 200 $\mu\text{mol/L}$ 时, 出现死苗情况。

3 结论

3.1 不同浓度 AgNO_3 对短葶飞蓬愈伤组织诱导的影响

与对照相比, 培养基中添加 AgNO_3 能够抑制愈伤组织的形成, 使得形成愈伤组织的时间较对照晚, 愈伤组织也没有对照的疏松、透明。本试验中, 培养基中 AgNO_3 浓度增加至 250 $\mu\text{mol/L}$, 仍能够长出少量愈伤。

3.2 不同浓度的 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 对短葶飞蓬愈伤组织诱导的影响

与对照相比, 培养基中添加 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 能够抑制愈伤组织的形成, 使得形成愈伤组织的时间较对照晚, 愈伤组织也没有对照的疏松、透明。随着 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 浓度的不断增大, 对短葶飞蓬愈伤组织形成的抑制呈现规律性, 即浓度越大, 抑制越严重。当 Cr^{6+} 浓度增加至 200 $\mu\text{mol/L}$ 时, 部分愈伤组织呈现出不同程度的死亡和褐化现象, 部分外植体不膨胀也不长出愈伤组织, 只有少部分叶片和茎段能够长出少量愈伤组织。

表 1 不同浓度 AgNO₃ 对短葶飞蓬愈伤组织诱导的影响

AgNO ₃ (μmol/L)	接种数 (个)	愈伤组织数 (个)	出愈率 (%)	污染数 (个)	污染率 (%)	膨胀度	愈伤组织生长状况
0(对照)	73	70	95.9	0	0	+++	形成的愈伤组织较松散,形成时间早,后期形成无菌苗
10	85	76	89.4	27	31.8	+++	部分形成的愈伤组织紧密,且形成的愈伤组织不完全
20	27	23	85.0	1	5.0	+++	部分褐化死亡,形成的愈伤组织疏松,形成完全
40	25	20	80.0	1	2.5	++	形成的愈伤组织不完全
50	85	29	34.1	8	9.4	+++	愈伤组织形成不完全,外植体特别膨胀
60	28	23	82.0	1	1.7	+	形成的愈伤组织少,愈伤组织紧密
80	27	23	85.0	0	0	+	部分不形成愈伤组织,愈伤组织少
100	80	60	75.0	7	8.8	++	叶片膨胀,形成的愈伤组织不完全,愈伤组织松散透明
150	90	58	64.0	8	8.9	++	愈伤组织形成紧密,愈伤组织少
200	79	38	48.2	0	0	+++	叶片膨胀,茎段形成的愈伤组织完全、愈伤组织疏松
250	39	18	46.0	6	15.0	++	愈伤组织形成紧密(包括茎段),形成的愈伤组织较少。

注:+++表示膨胀度好,++表示膨胀度一般,+表示几乎不膨胀。

表 2 不同浓度 K₂Cr₂O₇ 对短葶飞蓬愈伤组织诱导的影响

K ₂ Cr ₂ O ₇ (μmol/L)	接种数 (个)	愈伤组织 数(个)	出愈率 (%)	污染数 (个)	污染率 (%)	膨胀度	愈伤组织生长状况
0(对照)	93	66	80.0	5	5.4	+++	形成愈伤组织较早,愈伤组织形成完全、松散、透明,后期长出大量的苗
10	32	32	100.0	9	28.0	+++	形成愈伤组织完全,愈伤组织疏松、透明
20	54	48	88.9	0	0	+++	愈伤组织形成完全、疏松、透明,部分出现叶片褐化
40	30	25	83.0	8	27.0	+	部分愈伤组织出现褐化,呈黑色水浸状,部分形成的愈伤组织较紧
50	42	35	83.3	0	0	++	愈伤组织不完全,且愈伤组织少
60	31	25	80.7	14	45.0	+	愈伤组织疏松,部分出现细菌污染,呈点状
80	74	57	77.0	0	0	+++	愈伤组织完全,尤其是茎段最好,愈伤组织松散、透明
100	77	57	74.0	4	5.2	++	部分愈伤组织中夹带死苗,茎段愈伤组织形成完全,呈船状
150	41	17	41.4	5	12.0	+	愈伤组织紧密,形成愈伤组织少
200	83	26	31.3	0	0	++	愈伤组织少,不膨大,出现黄苗现象

注:+++表示膨胀度好,++表示膨胀度一般,+表示几乎不膨胀。

参考文献:

[1]顾公望,张宏伟.微量元素与恶性肿瘤[M].上海:上海科学技术文献出版社,1993:199-205.

[2]蒋德富,杨晓华.Cr⁶⁺对冬小麦6246发芽及根尖细胞有丝分裂影响的初步研究[J].环境科学,1981,2(5):14-18.

[3]张义贤.三价铬和六价铬对大麦毒害效应的比较[J].中国环境科学,1997,17(6):86-89.

[4]徐勤松,施国新,杜开和.六价铬污染对水车前叶片生理生化及细胞超微结构的影响[J].广西植物,2002,22(1):92-96.

[5]Vain P,Yean H,Plam E P. Enhancement of production and regeneration of embryogenic type callus in *Zea mays* L. by AgNO₃[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1989, 18: 143-151.

[6]Evans J M, Vatt Y P. Ethylene precursors and antagonists increase embryogenesis of *Hordeum vulgare* L. anther culture[J]. Plant Cell Reports, 1994, 13: 676-678.

[7]Fernandez S, Michax - Ferriere N, Coumans M. The embryogenic response of immature embryo cultures of durum wheat (*Triticum durum* Desf.): histology and improvement by AgNO₃ [J]. Plant Growth Regulation, 1999, 28: 147-155.

[8]Chugh A, Khurana P. Regeneration via somatic embryogenesis from leaf basal segments and genetic transformation of bread and emmer wheat by particle bombardment [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2003, 74: 151-161.

[9]Adkins S W, Kunanuvat C R, Grays J, et al. Effect of ethylene and culture environment on rice callus proliferation [J]. J Exp Bot, 1993, 44(269): 1829-1835.

[10]Songst A D, Duncan D R, Wikholm J M. Effect of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, silver nitrate and norbornadiene on plant regeneration from maize callus cultures [J]. Plant Cell Reports, 1988, 7: 262-265.

[11]林 镕, 陈艺林. 中国植物志: 第七十四卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1985: 308-309.

[12]《滇南本草》整理组. 滇南本草: 第二卷 [M]. 昆明: 云南人民出版社, 1977: 300-302.

[13]云南第一人民医院. 治疗瘫痪的中草药——灯盏细辛 [J]. 中草药通讯, 1972, 3(2): 47-48.

[14]张卫东, 陈万生, 孔德云, 等. 灯盏细辛化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8): 10-12.

[15]黎光南. 云南中药志: I [M]. 昆明: 云南科学技术出版社, 1990: 275.

[16]张大伟. 杨生元. 杨永月等. 灯盏细辛的化学成分研究 [J]. 药学学报, 1981, 169(1): 68-69.

[17]林丽飞, 刘春国, 胡先奇, 等. 云南省灯盏花黄萎病病原初步研究 [J]. 植物保护, 2007, 33(4): 89-91.

[18]林丽飞, 胡先奇, 刘春国, 等. 灯盏花根际土壤 3 种垫刃线虫的鉴定 [J]. 植物病理学报, 2007, 37(5): 541-544.

李 雪,马媛春,程宗明. 抗盐玫瑰组培快繁体系的建立[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):50-53.

抗盐玫瑰组培快繁体系的建立

李 雪,马媛春,程宗明

(南京农业大学,江苏南京 210095)

摘要:以抗盐玫瑰当年生去叶的幼嫩单芽茎段为试验材料,建立体外无性快繁体系。结果表明,适宜玫瑰离体腋芽发芽的最佳培养基配方为 MS + 0.5 mg/L 6-BA 和 MS + 1.5 mg/L 6-BA;适宜丛生芽继代增殖的最佳培养基配方为 MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L IBA 和 3/4MS + 0.3 mg/L IBA;适宜组培苗生根的最佳培养基配方为 1/2MS + 0.3 mg/L NAA,其生根率可达 95%。生根苗木移栽成活率可达 87% 以上。该体系可以用于抗盐玫瑰的快速大量繁殖。

关键词:抗盐玫瑰;组培快繁体系;培养基;萌发;继代培养;生根诱导;移栽驯化

中图分类号: S685.120.4⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0050-04

玫瑰(*Rosa rugosa* L.)是蔷薇科蔷薇属植物,广泛分布在东亚、欧洲和北美洲地区。它花型秀美,色彩艳丽,气味芳香,形色俱佳。玫瑰花主要用于提炼香精玫瑰油,玫瑰油比等重量黄金价值还高,主要应用于化妆品、食品、精细化工等。玫瑰花瓣还可直接被腌制成食品,作调味剂使用,同时它的干燥花蕾也是一种重要的传统中药材^[1]。经测定,玫瑰的果实中含有大量的维生素 A、维生素 B、维生素 C,还含有 10 多种氨基酸、可溶性糖、生物碱和无机元素等^[2-4]。常食玫瑰果可以预防冠心病、肝病、急慢性传染病和阻止产生致癌物质等。玫瑰果实还常常被用来制作成浓缩维生素制剂。此外,玫瑰还具有较强的抗逆性^[5]。玫瑰种子发芽慢,扦插繁殖困难,采用组织培养的方法繁殖玫瑰,不但生产周期短,繁殖系数高,而且成本低,经济效益很高。江苏省东部沿海滩涂盐碱浓度高,极少园林和观赏植物能够在此生长。近几年来,笔者试种的一些抗盐玫瑰单株具有较强耐盐能力,利用这些耐盐单株建立玫瑰离体快繁体系,是实现良种快繁以及产业化发展的客观需求。

收稿日期:2014-04-05

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号: CX(14)2051]。

作者简介:李 雪(1987—),女,山东德州人,硕士研究生,主要从事园艺植物生物技术研究。E-mail: smilexueok@163.com。

通信作者:程宗明,博士,教授,主要从事果实系统生物学研究。E-mail: zmc@njau.edu.cn。

1 材料与方法

1.1 试验材料

该供试材料为当年生实生苗,种子来自美国海滨,经过 3 个月沙藏保存后于翌年 3 月初播种,其盛花期见图 1。



图1 抗盐玫瑰盛花期

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒处理 3 月中旬从优良健壮植株剪取当年生枝条中段带芽的幼嫩茎段,用毛刷蘸取洗衣粉水轻轻刷洗后,剪成 5.0 cm 左右茎条,再流水冲洗 2 h 左右。在超净工作台上,先将茎段用 70% 乙醇溶液消毒 30 s,用无菌水冲洗 2~3 次,然后置于 0.1% HgCl₂ 溶液中消毒 3~5 min,再用无菌水冲洗 3~5 次。用无菌滤纸吸干材料表面的水分,最后将幼嫩茎条剪切成 1.0 cm 左右的带芽茎段,接种^[6]。

蒙古林业科技,2001,6(1):116.

[24] 黄 平,王 荔,杨艳琼,等. 正交设计在灯盏花组织培养中的应用[J]. 云南农业大学学报,2006,21(2):160-163.

[25] 林 春,刘鸿高,苏友波,等. 灯盏花快速繁殖研究简报[J]. 云南农业大学学报,2003,18(3):323-326.

[26] 杨耀文,钱子刚,段 敏. 灯盏花组织培养初步研究[J]. 云南中医学院学报,2002,52(2):12-13.

[27] 林丽飞,陶发清,刘春国,等. 药用植物灯盏花组织培养体系的建立[J]. 西南大学学报:自然科学版,2009,31(12):82-86.

[28] 林丽飞,夏瑞娥,刘春国,等. 不同因素对短葶苈愈伤组织的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(2):52-54.

[19] 林丽飞,胡先奇,江 楠. 短葶苈锈病的初步研究[J]. 华中农业大学学报,2004,23(5):513-514.

[20] 林丽飞,刘春国,许 春,等. 云南省灯盏花根际土壤广东蛭蚓线虫的鉴定[J]. 西南大学学报:自然科学版,2008,30(6):88-90.

[21] 林丽飞,刘春国,李卫芬,等. 云南省灯盏花根腐线虫病的病原鉴定[J]. 西南农业大学学报:自然科学版,2006,28(5):851-853.

[22] 林丽飞,刘春国,李卫芬,等. 云南省灯盏花根际土壤螺旋线虫的鉴定[J]. 江苏农业科学,2007(1):62-63.

[23] 许彩霞,孙成林,薛 伟. 灯盏花组织培养离体快速繁殖[J]. 内