

穴丝荠的组织培养与植株再生

彭慧超¹, 赵淑慧^{2,*}, 谢贺², 张玉², 周党卫^{1,**}

¹中国科学院西北高原生物研究所高原生物适应与进化重点实验室, 西宁810001; ²中国科学院遗传与发育生物学研究所发育生物学中心, 北京100080; ³中国科学院研究生院, 北京100093

Plant Tissue Culture and Regeneration of *Coelonema draboides* Maxim.

PENG Hui-Chao¹, ZHAO Shu-Hui^{2,*}, XIE He², ZHANG Yu², ZHOU Dang-Wei^{1,**}

¹Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xi'ning 810001, China; ²Key Laboratory of Molecular and Developmental Biology, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; ³Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

1 植物名称 穴丝荠(*Coelonema draboides* Maxim.), 别名穴丝草。

2 材料类别 叶片。

3 培养条件 无菌苗培养基(1): 1/2MS (Murashige 和 Skoog 1962); 愈伤诱导培养基(2): B₅ (Gamborg 等1968)+2,4-D 1.0 mg·L⁻¹ (单位下同)+KT 0.5; 再分化培养基(3): MS+6-BA 0.05+NAA 0.5; 生根培养基(4): 1/2MS。所有培养基均附加0.8%琼脂粉和2%蔗糖, pH 6.2, 培养温度为(25±1)℃, 光照强度约为50 μmol·m⁻²·s⁻¹, 16 h·d⁻¹光照条件下, 进行培养。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 将9月份初采集于青海门源县大坂山的海拔3900 m野生穴丝荠种子(标本经本实验室陈世龙先生鉴定), 4℃下放置1周后, 种子经过10% (V/V)次氯酸钠消毒15 min和75%酒精浸泡2 min后, 无菌水冲洗3次, 用无菌滤纸吸干表面的水分, 将种子放在培养基(1)上进行萌发。7 d左右, 子叶张开; 40 d左右, 种子长至8叶期。

4.2 愈伤组织的诱导 在幼苗生长至8叶期后, 切取0.7 cm×0.2 cm成熟叶片接种于培养基(2)中, 进行愈伤组织诱导。在光照培养箱中, 培养2周后, 形成愈伤组织, 诱导率为94% (图1)。

4.3 愈伤组织的分化培养 将生长4周的愈伤组织从叶片上剥离下来, 选择直径2~3 mm的生长迅速的松脆愈伤组织, 转移到培养基(3)上。接种3周后, 在愈伤组织变绿的部分即产生不定芽丛(图2), 诱导率可达到60%。

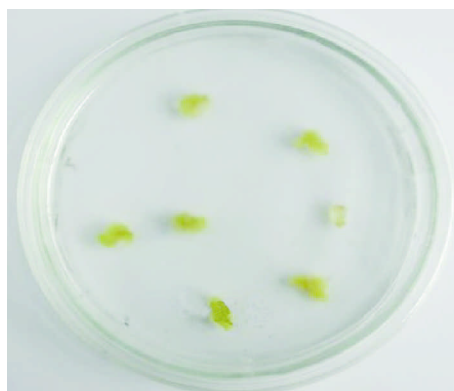


图1 叶片诱导的愈伤组织

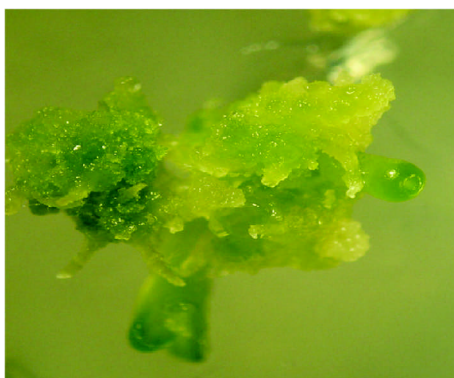


图2 愈伤组织分化不定芽

收稿 2009-12-24 修定 2010-02-28
资助 中科院知识创新项目(KSCX2-SW-106)和中科院西北高原生物研究所知识创新前沿项目(0954051211和0954061211)。

* 共同作者。

** 通讯作者(E-mail: dangweizhou@sina.com; Tel: 0971-6108632)。

4.4 植株生根 将产生不定芽的愈伤组织继代培养2次, 在芽长至1~2 cm, 用无菌镊子将芽健壮的小苗转移到培养基(4)上。10 d后开始生根, 1月后根可以达到5 cm (图3和4), 生根率达到90%。



图3 穴丝芥的生根培养



图4 生根培养苗

4.5 炼苗与移栽 将生根苗放在室温下培养3 d后, 揭开培养瓶的封口塑料膜, 在室温下培养3 d, 用镊子拔出幼苗, 蒸馏水洗净根部的培养基残渣, 移栽到含有蛭石和腐殖土(1:2)的基质中; 湿度保持在85%以上, 1周后开始有新叶长出(图5)。成活率达90%以上。

5 意义与进展 穴丝芥属十字花科穴丝芥(草)属, 只有这一种, 是生长于我国青藏高原东部的高山冰缘地带特有的濒危十字花科植物(中国科学院中国植物志编辑委员会和周太焱1987; 陈桂琛等1994; 黄荣福等1996; Chen等2005)。其植株和叶、花、果的形态与葶苈属(*Draba*)中的裸茎葶苈组(*Chysodraba*)较为相近, 但它的短角果不开裂或迟开裂(黄荣福等



图5 穴丝芥的移栽

1996)。花丝中空, 植株具有明显铺散的匍匐茎等特化性状, 致使其成为高山冰缘砾石地的特有属。一般分布在海拔3 400~4 000 m的高寒草甸或高山山脊附近流石滩(中国科学院中国植物志编辑委员会和周太焱1987)具有较强的抗逆性。穴丝芥主要靠种子繁殖或匍匐茎进行无性生殖, 但种子结实率低。近年来, 由于人为干扰和过度放牧等原因, 穴丝芥生存环境的恶化加剧(王静和冯兆忠2000; Chen等2005)。目前此物种分布区域极窄, 已经被列入物种保护红皮书(汪松和谢炎2004)。采用组织培养技术, 可以在短期内获得大量整齐一致的幼苗, 有可能为此种植物的保育和利用提供基础资料和开辟新的繁殖途径。关于高山濒危植物穴丝芥的组织培养和植株再生尚未见报道。

参考文献

- 陈桂琛, 彭敏, 黄荣福, 卢学峰(1994). 祁连山地区植被特征及其分布规律. 植物学报, 36 (1): 63-72
- 黄荣福, 沈颂东, 卢学峰(1996). 青藏高原东北部植物染色体数目与多倍性研究. 西北植物学报, 16 (3): 310-318
- 王静, 冯兆忠(2000). 甘肃省动、植物资源现状及持续发展对策. 生物多样性, 8 (2): 227-232
- 汪松, 谢炎(2004). 中国珍稀濒危物种红皮书. 北京: 高等教育出版社, 56
- 中国科学院中国植物志编辑委员会, 周太焱编辑(1987). 中国植物志(第33卷). 北京: 科学出版社, 33, 131
- Chen S, Xia T, Chen S, Zhou Y (2005). RAPD profiling in detecting genetic variation in endemic *Coelonema* (Brassicaceae) of Qinghai-Tibet Plateau of China. *Biochem Genet*, 43 (3-4): 189-201
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res*, 50: 151-158
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15 (3): 473-497