

结球莴苣顶芽及叶片组织培养 (初报)

李鹏飞 郭碧霞

(园艺系)

提 要

本文简述结球莴苣顶芽及叶片组织培养初步结果。采用Doerschug及Miller二氏的培养基配方,再添加甘氨酸2毫克/升。在光、温及激动素与吲哚乙酸的剂量及比值相互组合均适当的情况下,获得良好结果。

在粤南地区,莴苣(生菜)(*Lactuca sativa* L.)留种播期与蔬用播期不一致,为莴苣的选种及提纯带来技术上的困难。留种播期在七月下旬(大暑后)至八月上旬(立秋前),过早过迟均不易采收到种子。蔬用播期在十月到十一月,春节前后上市。

结球莴苣在留种播期播种时,气温高,不结球,小株开花,植株良劣难分,无从选汰。在蔬用播期播种时,天气冷凉,植株生长正常,结球与不结球,抗病与不抗病,各种经济性状,一目了然,但留种适期已过,对优株无法采种传代。

作者等试图采取组织培养方法来探索解决这一矛盾的可能性。

本文只简述为此而进行的结球莴苣顶芽及叶片组织试管培养阶段的结果。

一、基本培养基: 采用M.R.Doerschug及C.O.Miller (1967)^[1]所采用的配方。在其基础上,作者等再添加甘氨酸(glycine)2毫克/升(2mg/l)。

激动素(Kinetin,以下简称K)与吲哚乙酸(以下简称IAA)或吲哚丁酸(以下简称IBA),以多种不同的剂量及比值相互组合。

酸碱度用1N HCl或1N NaOH调整至pH5.8(用精密试纸测定)。蒸气高压灭菌:15 lb/in², 20分钟。

二、培养条件: 光照强度分别采用约1千勒克司(1 klx)及3千勒克司(3 klx),温度25±3°C,光照时数每天9±2小时,采用普通荧光灯照明。

三、培养品种材料: 采用美国结球莴苣“New York 515”。该品种种子,多年前(1972)由广东省食品进出口公司从美国进口,及后由华南农学院蔬菜选种教研室自繁自殖保留下来。

作者着手组织培养研究工作之前,于1978年蒙上海市农科院园艺所能助功、钟仲贤、任云英、陈锦芬、吴盛喜、赵瑾及秦国扬等同志热情指教和帮助,谨致衷心谢意。

四、离体组织材料的切取及灭菌:

(一) 组织材料

1. 定植期苗株顶芽及嫩叶。
2. 蔬熟期叶球球茎顶芽及嫩叶。

(二) 组织材料的切取及灭菌 苗株则切取其主茎顶尖一小段(带嫩叶)。叶球则剥去球的外叶及内叶,仅留下叶球主茎顶尖一小段及其上的嫩叶。用清水漂洗多次。然后用镊子把已漂洗干净的主茎顶尖一小段上的嫩叶逐一剥下,到露出顶芽为止。随即把苗株嫩叶或叶球嫩叶,连同已剥去了嫩叶的主茎带顶芽的一小段,放入吐温80的稀释溶液中浸1分钟左右,取出,放入蒸馏水中漂洗1—2次,然后移入0.1%升汞水(Hg-Cl₂)中浸15—20分钟,最后用无菌水冲洗数次。组织材料经升汞灭菌后,用无菌解剖刀尖,在无菌接种箱内把茎尖上顶芽切下(长度以0.5cm左右为合适)。苗株嫩叶或球茎嫩叶则用无菌解剖刀割切为小块,每块0.25—0.5cm²左右。最后把顶芽及割切好的小块叶片,在无菌接种箱内,分别接种到试管内培养基表面上。割切伤口要紧贴培养基。

五、培养结果: 本文只简述若干比较成功的培养结果。(剂量单位:毫克/升,mg/l)

(一) 顶芽组织培养

1. 球茎顶芽→(初代) $K_{0.5}IAA_2 \xrightarrow{\text{约} \frac{48 \text{天}}{1 KIx}}$ 长出数个不定芽,无根→(继代₁) $K_{0.5}IAA_4 \xrightarrow{\text{约} \frac{8 \text{天}}{1 KIx}}$ 不定芽增殖成丛,无根。

2. 球茎顶芽→(初代) $K_1IAA_2 \xrightarrow{\text{约} \frac{26 \text{天}}{1 KIx}}$ (继代₁) $K_1IAA_2 \xrightarrow{\text{约} \frac{6 \text{天}}{1 KIx}}$ 开始长出不定芽,无根。

3. 球茎顶芽→(初代) $K_4IAA_{0.5} \xrightarrow{\text{约} \frac{26 \text{天}}{1 KIx}}$ 长出许多不定芽,无根。

4. 球茎顶芽→(初代) $K_4IAA_2 \xrightarrow{\text{约} \frac{26 \text{天}}{3 KIx}}$ (继代₁) $K_4IAA_2 \xrightarrow{\text{约} \frac{13 \text{天}}{3 KIx}}$ 长出许多不定芽,无根。

5. 定植期幼苗顶芽→(初代) $K_{0.5}IAA_4 \xrightarrow{\text{约} \frac{32 \text{天}}{1 KIx}}$ 长出不定芽,无根→(继代₁) $K_0IBA_3 \xrightarrow{\text{约} \frac{7 \text{天}}{1 KIx}}$ 长出许多不定芽,长出根(1—5mm)。(图版Ⅲ—1)

(二) 叶片组织培养

1. 球茎嫩叶→(初代) $K_{0.5}IAA_4 \xrightarrow{\text{约} \frac{23 \text{天}}{1 KIx}}$ 长出1个小绿芽点 $\xrightarrow{\text{约} \frac{又6 \text{天}}{1 KIx}}$ 增殖出多个小芽。

2. 球茎嫩叶(贴近顶芽处叶片)→(初代) $K_4IAA_{0.5} \xrightarrow{\text{约} \frac{32 \text{天}}{3 KIx}}$ 长出多个小绿芽(图版Ⅲ—2、3)

3. 定植期幼苗嫩叶→(初代) $K_1IAA_1 \xrightarrow{\text{约} \frac{50 \text{天}}{1 KIx}}$ (继代₁) $K_{0.5}IAA_4 \xrightarrow{\text{约} \frac{13 \text{天}}{1 KIx}}$

→长出 1 个小绿芽。

六、讨 论

芽是从愈伤组织分化出来的。没有愈伤组织一般就没有芽，但是有了愈伤组织并不保证一定都会分化出芽。

球茎嫩叶组织被培养后，如果反应过速，过于强烈，从而形成及增殖过量愈伤组织而原植入的嫩叶组织又经久保持深绿颜色的情况下，一般不易分化出芽。这些超量愈伤组织最后老化或充其量分化出几条根来（图版Ⅲ—4）。倒不如其中一些反应稍迟钝，愈伤组织不太多，增殖不太快，原植入叶片逐渐趋于黄枯的情况下分化出芽的希望较多。

离体球茎顶芽组织在其基部切口处形成愈伤组织，并从紧接切口处的愈伤组织中分化出不定芽，随后又从最初形成的不定芽的四周冒出更多的不定芽，终而形成一大堆不定芽（图版Ⅲ—5）。

没有萌动的球茎侧芽，对培养不起反应，最后死亡。可见培养的功效，有赖于内因外因的相互配合。

叶片愈伤组织是在叶片切割伤口紧接培养基处形成，但愈伤组织形成芽的确切部位则难于预见，只是在愈伤组织中的某一个部位先出现一个或数个绿点，随后绿点发展成为明显的小绿芽。第一个芽苗一经形成，紧接其四周就会陆续出现许多不定芽，终而成丛（图版Ⅲ—6）。

用球茎顶芽培养，一般比之用球茎嫩叶较为容易，较为有把握，一经得到不定芽及芽丛就可不断继代分植，乃获得众多的小苗株。但在另一种情况下，比如说，在田间入选的优良单株为数有限时，可供培养的顶芽就很少，因为每一个叶球只有一个顶芽。如果把球茎嫩叶也利用上去，则一个叶球可供培养的离体组织为数就较多，大大提高了繁殖倍数。

培养顶芽固然较为容易，但培养叶片则更为有趣。顶芽本身已是一个芽，把它培养长大，随后诱导分化出一个根系来，就是一棵完整的小苗株。叶片则并非如此。只是一块叶片的组织，其本身原是无芽无根。因此，首先得设法从叶片的愈伤组织中诱导出芽来，芽苗长大以后又诱导出根来。由叶而愈伤组织而芽而根，终而成株，其整个过程更足以论证植物细胞的“全能性”（totipotency）。

在相同的培养基的基础上，K与IAA的相对剂量及比值，对叶片离体组织来说，在诱导愈伤组织方面，分化成芽方面，均起到一定的相当重要的影响，但并不能说起到绝对的作用。根据作者等的试验结果，在具体的剂量、比值及培养条件下，对一些叶片的离体组织在诱导成芽方面，起到良好的作用，但对另一些则起不到相同的作用。毕竟除了外源因素（exogenous factors）之外，还要考虑到内源因素（endogenous factors）。因此，同一品种的不同植株，同一植株的不同叶片，同一叶片的不同部位，对相同的剂量、比值及培养条件会产生各不相同的反应。Kemp^[2]等的试验指出，莴苣的老外叶及球茎嫩叶所含的细胞分裂素（cytokinin）份量就各不一样，老叶最少，嫩叶最多。Koerary^[3]等根据他们的试验结果指出，从莴苣叶片边沿切取的离体组织与从叶片中部切取的，在培养反应上也有所差异，叶沿的在成芽兼成根方面的效应较好。

离体组织的外源因素在若干程度上还可以人为地加以适当控制,但对其内源因素则无能为力。在外源因素相对一致而内源因素有所差异的情况下,产生不一致的反应是可以理解成为理所当然的结果。

引用文献

[1] Doerschug, M. R. and C. O. Miller, 1967, Chemical control of adventitious organ formation in *Lactuca sativa* explants. *Amer. J. Bot.* **54**(4): 410-413.

[2] Kemp, T. R. and D. E. Knavel. 1979, Natural anti-senescence factors (cytokinins) from immature lettuce leaves. *Hort. Science*, **14**(2): 125.

[3] Koerary, K., L. Rappaport and L. L. Morris. 1978, Tissue culture propagation of head lettuce. *Hort. Science*, **13**(1): 39-41.

Tissue culture of apical buds and leaf sections of head lettuce(I)

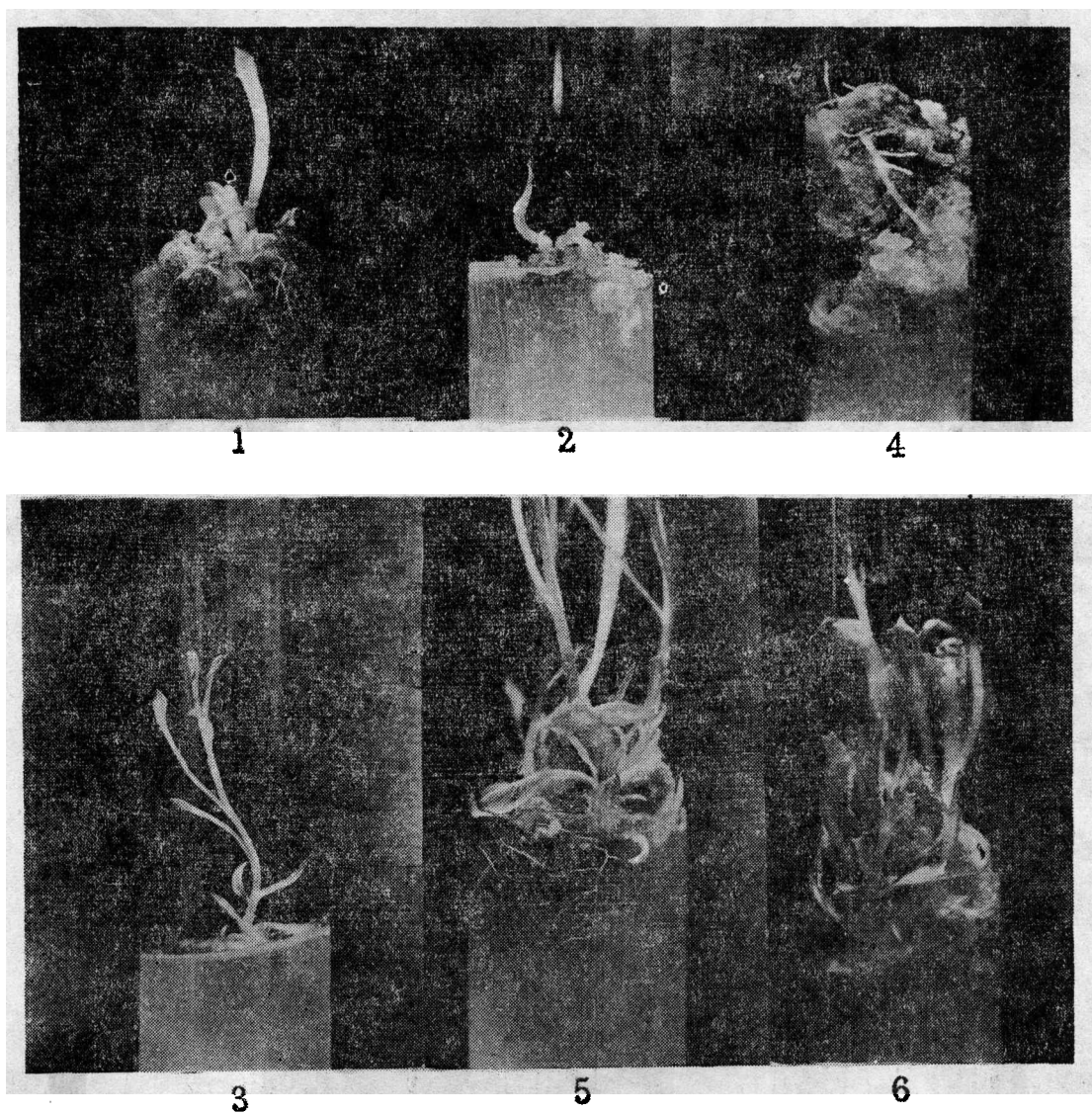
Li, Peng-fi and Kuo, Pi-hsia

(Dept. of Horticulture, South China Agricultural College)

ABSTRACT

Plantlets of head lettuce (*Lactuca sativa* cv. "New York 515") were regenerated *in vitro* using apical buds and young leaf sections on basal medium of Doerschug and Miller (1967) with the addition of glycine (2 mg/1), plus kinetin and indol-3yl-acetic acid (IAA) in various quantities, cultured at $25 \pm 3^\circ\text{C}$, 9 ± 2 hr. photoperiod with fluorescense light at about 1 klx and 3 klx respectively.

Shoot development occurred from apical buds as well as from leaf sections. Numerous adventitious shoots were produced by repeated subculture of individual plantlets.



- 图1 定植期幼苗顶芽组织培养。示苗芽生长及出根情况
 图2 球茎嫩叶组织培养。示从嫩叶愈伤组织分化出来的苗芽
 图3 示从苗芽（图2）成长起来的小苗株
 图4 球茎嫩叶组织培养。示愈伤组织增殖过旺及分化出根情况
 图5 球茎顶芽组织培养。示不定芽繁生及出根情况
 图6 球茎嫩叶组织培养。示不定芽繁生成丛情况