

蕨菜种苗快繁技术研究

杨洪双¹ 王秀云² 郭彦¹

(¹聊城大学生命科学学院,山东聊城 252059; ²聊城二中)

摘要 通过孢子繁殖,将延边地区野生蕨菜引种并在聊城进行推广种植。结果表明:在聊城引种蕨菜是可行的,以“腐殖土+草炭土+蛭石”作为培养基质的配方出现配子体的天数最短,且形成的孢子苗数量最多;培养温度25℃最为适宜;种苗扩繁过程中以3号培养基愈伤组织生长最好。继代培养基以10号最好,形成的丛生苗丰富,颜色深绿。

关键词 蕨菜;种苗;快繁

中图分类号 S647.403 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2008)02-0005-02

蕨菜(*Pteridium aquilinum* L. Kuhn)是凤尾蕨科(*Pteridaceae*)的多年生草本植物,别名蕨、如意菜、龙头菜、蕨羹^[1]。蕨菜以未展开的幼叶和幼嫩的叶柄供食,营养丰富,清香适口,是广大群众喜食的一种山野菜。聊城市地处山东西部,地势平坦,林木较少,严重缺乏野生资源,尤其是生长在山坡、林地的野生蕨菜更是少见,市场上只有保鲜、盐渍的蕨菜。新鲜的蕨菜已经成为聊城市人们想象的珍贵佳肴。本试验的目的在于将位于长白山腹地的延边地区野生的优质蕨菜资源引进聊城市,在实验室内通过孢子繁殖技术培育成蕨菜种苗,探究适宜蕨菜孢子萌发、生长的基本条件,选出最适培养基配方;通过组织培养的方式进行快速扩繁,为下一步进行大棚栽培提供充足的种苗;同时也可以为当地农民提供一条致富道路,并进行蕨菜深加工,实现蕨菜的经济价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料是位于长白山腹地的延边地区8~9月份采摘的野生蕨菜孢子。

1.2 蕨菜孢子繁殖技术的研究

1.2.1 孢子萌发的培养基质配方:(A)旱田表土:细河沙=2:1;(B)腐殖土:细河沙=2:1;(C)旱田表土:草炭土:蛭石=2:1:1;(D)腐殖土:草炭土:蛭石=2:1:1。将上述基质分别去杂、过筛,按上述比例配制成孢子萌发的培养基质,分别装入底部带有小孔的培养容器中,培养容器中先放进1/3厚的碎石、粗河沙。为了防止滋生病菌、苔藓和杂草,放入高压灭菌锅中灭菌30min,之后再蒙上塑料薄膜待用。

1.2.2 播种及试验方法。孢子播种,播种前1d把准备好的混合土培养容器放在浅水中充分湿润,将孢子均匀地撒播在培养基质上。为了防止播种时密度过大,先将孢子与过细目筛的细沙(需要提前灭菌)以1:2混合均匀,将混合好的孢子放到平纸板上,用细毛刷均匀地撒播在培养基上,每个培养基中播种2g。再盖好盖子,浸放在浅水中,第2天取出。覆紧塑料薄膜以保持培养基湿度,然后进行培养。孢子培养,将播种好的容器移到温床或光照培养箱中培养,在10~30℃

分5个温度梯度进行培养处理,湿度保持在80%以上,光照每天4h以上。

1.2.3 苗期管理。孢子在播种后4~5d开始萌发,并出现原丝体,且逐渐发育成心形的原叶体。前期的原叶体不需要过多的水分。萌发后1个月左右,当原叶体成熟时,其上的精子器和卵器也基本成熟,开始进入受精过程,此时要适时适量浇水。第1片孢子体叶展开后,随着叶位的提高,展叶速度加快,孢子体叶出齐后,停止浇水,土壤水分控制在60%左右,以后逐渐生长出羽状叶片。当幼苗长到4~5cm时,应当结合间苗进行分苗,将幼苗从铁盒移入分苗床中继续培育,株行距均为8cm。移栽时要保持土壤湿润,并适当遮荫。分苗床的土壤条件要和原培养基相同。为满足幼苗生长的需要,可喷施0.1%~0.2%尿素液和0.1%磷酸二氢钾液。待叶片长到10cm以上,叶柄基本纤维化后,即可将育成的幼苗定植到整好的棚中。

1.3 组织培养技术的研究

以前期培养成功的孢子苗为供体,取带有顶芽、不带顶芽的根茎和叶尖为试验材料进行离体组织培养。

1.3.1 培养基配方。为了选取最佳培养基配方,愈伤组织培养基和继代增殖培养基各配6种,分别编号为:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12(见表1),生根培养基为1/2MS。

表1 培养基配方

编号	基础培养基	Vc mg/L	6-BA mg/L	KT mg/L	IBA mg/L	2,4-D mg/L	IAA mg/L	ZT mg/L	NAA mg/L
1	1/2MS	-	-	5.0	1.0	-	-	-	-
2	1/2MS	-	0.8	-	1.0	-	-	-	1.0
3	MS	1.8	1.0	0.1	-	1.0	-	-	-
4	MS	2.0	-	0.1	-	1.5	-	-	-
5	MS	-	-	0.2	-	2.0	-	-	-
6	MS	-	-	-	1.0	-	0.1	-	-
7	1/2MS	-	2.0	-	-	-	-	-	-
8	1/2MS	-	-	-	-	-	-	-	0.5
9	1/2MS	-	-	2.0	-	-	-	-	0.2
10	MS	1.2	0.5	-	-	-	-	1.0	2.0
11	MS	-	1.5	-	1.0	-	-	-	-
12	MS	-	-	-	-	-	0.25	-	-

注:以上培养基中再加蔗糖3%,磷酸二氢钠200mg/L,活性炭1.5g/L,琼脂0.8%;调整酸度至pH值5.8,然后常规灭菌。

1.3.2 试验方法。将外植体材料在流水下冲洗5~6次,用2%的升汞水溶液消毒6~7min,用无菌水冲洗4~5次,用2% Vc 无菌水溶液浸泡4~5min,再用无菌水冲洗3~4次,取出

基金项目 聊城大学学校课题(XD51022)。

作者简介 杨洪双(1974-),男,助教,从事作物遗传育种及食用菌研究。

收稿日期 2007-11-29

沥干水分。在超净工作台上,将叶尖及带顶芽和不带顶芽的柔嫩根状茎切取0.8~1.0cm的小块,平放于三角瓶中的培养基上,每瓶3块。接种后,为防止褐化,在恒温箱中暗培养24h后再移入培养室中。培养温度为25℃,光照强度为1500Lx,每天照射12h。接种20d左右,部分培养基上的外植体开始形成愈伤组织,初始为直径约1mm、黄绿色颗粒状(即GGB),随后逐渐长成鲜绿色较大GGB。当GGB长到直径1cm时,在无菌条件下分割,转接到继代培养基上。20d左右,GGB分化形成大量的绿色丛生芽;40d后丛生芽长到2cm以上时,开始有小叶产生,继续培养可分化出不定根。再将丛生芽分割转至生根培养基上,在3~4周内小叶迅速长高,基部可产生多条不定根,初为白色,逐渐变为黑褐色;40d后丛生芽基部已形成根状茎,其上可形成大量的不定根。移栽前,先打开瓶口,在室温下炼苗3~5d,然后洗去培养基,移至盛有沙土的小花盆中,温度保持在25℃左右,相对湿度85%以上,经过一段时间,待小苗完全成活,15d后移入大田,成活率95%以上。

2 结果与分析

2.1 孢子繁殖

2.1.1 不同温度处理对孢子萌发的影响。温度在10~30℃范围内,蕨菜的孢子都可以萌发,并随温度升高而萌发时间缩短。当温度低于15℃时,影响孢子的进一步发育,萌发的孢子逐渐死亡。当温度超过30℃时,也影响孢子的进一步发育。适合孢子叶发育的温度为高于15℃和低于30℃之间,并且在此范围之内随着温度升高出现孢子叶天数呈现缩短的趋势,如20℃时出现孢子叶天数为66d,25℃时则降到56d,缩短了10d(见表2)。

表2 不同温度处理对孢子萌发的影响

不同温度处理/℃	少量萌发 天数//d	大量萌发 天数//d	出现配子体 天数//d	出现孢子叶 天数//d
10	15	18	69	-
15	8	11	64	-
20	5	6	51	66
25	2	3	48	56
30	1	1	44	-

2.1.2 不同基质处理对孢子萌发的影响。通过观察,播种10d后,不同配方的培养基上的蕨菜孢子均能萌发,但出现配子体的天数和孢子苗数量有差异。以“腐殖土+草炭土+蛭石”作为培养基质的配方出现配子体的天数最短(48d),且形成的孢子苗数数量最多(138株);以“旱田表土+细河沙”作为培养基质的配方出现配子体的天数最长(64d),且形成的孢子苗数数量最少(21株),其他2种配方的培养基质位于中间(见表3)。

表3 不同基质处理对孢子萌发的影响

不同基质	出现配子体天数//d	孢子苗数//株
旱田表土+细河沙	64	21
腐殖土+细河沙	52	94
旱田表土+草炭土+蛭石	62	47
腐殖土+草炭土+蛭石	48	138

2.2 组织培养

通过观察,外植体接种10d后,愈伤组织开始形成并逐渐膨大,20d后愈伤组织大量形成,30d左右在外植体的切口处均产生不规则的绿色球状体(即GGB)。其中以3号培养基(MS基础培养基+1.8mg/L Vc+1.0mg/L 6-BA+0.1mg/L KT+1.0mg/L 2,4-D)愈伤组织生长势最好。将愈伤组织转接到继代培养基上,进行继代培养。20d后形成大量的丛生芽,其中以10号培养基(MS基础培养基+1.8mg/L Vc+1.0mg/L 6-BA+1.0mg/L ZT+2.0mg/L NAA)数量最多,长势最旺。再过20d后,将长到2cm的丛生芽分割转至生根培养基中,40d后,丛生芽基部形成根状茎,其上形成大量的不定根。

3 讨论与结论

3.1 孢子繁殖

不同温度对蕨菜孢子萌发生长状况产生一系列影响,在温度较低条件下,配子体颜色发黄,假根明显,说明低温下假根生长旺盛,心形的片状体生长缓慢,不利于配子体的培养;同样在较高温度条件下,也不利于配子体的生长。25℃时,最适合配子体生长,所以孢子的成苗数也较多。

孢子萌发、配子体的形成与增殖、孢子苗分化对温度、光照、水分、培养基质的要求都极为严格,只有在各种因子处于最佳状态时,蕨菜的有性繁殖才能顺利并很好地完成,否则生长速度极慢并表现出生长不适。在聊城当地“腐殖土+草炭土+蛭石”的培养基质从各方面都很好满足了孢子萌发的生长要求。

3.2 种苗快繁

外植体的选取是组织培养能否成功的重要环节。性状优良的外植体,有利于提高成功几率,增加实用价值。生长健壮无病虫害的植株,其器官或组织代谢旺盛,再生能力强,比较容易培养成功。在植株生长的最适时期取材不仅成活率高,而且生长速度快,增殖率高。植物的茎尖、茎段、根、叶、花、胚等器官都可以达到快繁,其中茎尖是活跃的生长区,容易培养成功。

根据试验统计,GGB繁殖30d为1个周期,增殖系数可达8~10;丛生苗20~30d为1个周期,增殖系数可达5~6。1年有效生产时间以10个月计算,通过以上2种途径,1个外植体1年后可以繁殖100万株以上的种苗,为蕨菜人工栽培及推广生产,提供了大量需求种苗的保障。

4 参考文献

- [1] 王正华,赵梅,杨华,等.野生蕨菜的驯化栽培及加工[J].加工与贮藏,2006(2):40-41.
- [2] 毕淑峰.蕨菜的价值与加工[J].特种经济植物,2004(8):32.
- [3] 郭有泉,孙义春,王建生.蕨菜栽培技术[J].北方园艺,2004(2):57.
- [4] 刘义刚.蕨菜的营养价值和加工方法[J].四川食品工业科技,1993(1):27-30.
- [5] 郝丽珍,赵富宝.蕨菜植物学特征及孢子繁殖技术[J].内蒙古农业科技,1994(5):27-28.
- [6] 徐真.蕨菜的特性及人工繁殖栽培方法[J].甘肃农业科技,2002(5):34.