

野生马兰的组培快繁技术研究

徐秀芳 张海洋

(湖州师范学院生命科学学院, 浙江湖州, 313000)

摘要 以野生马兰茎段为外植体, 研究了影响芽与根诱导分化的激素浓度配比。结果表明, 在一定范围内, 当培养基中 BA 浓度相同时, NAA 的浓度为 0.05 mg/L 时, 适合芽的诱导及生长, 马兰的最佳诱芽及生长培养基为 MS+2 mg/L BA+0.05 mg/L NAA。去掉愈伤组织的丛生芽更容易生根, 最佳生根培养基为 MS 培养基。

关键词 野生马兰 组织培养 影响因素

马兰(*Kalimeris indica*)别名马兰头、红梗菜、鸡儿肠、田边菊、紫菊、螃蟹头草等, 属菊科马兰属多年生菜药兼用型草本植物, 与一般蔬菜相比, 其 Se、Zn、Mg、Ca 含量更丰富^[1,2], 还含有丰富的蛋白质、脂肪、糖、纤维素、有机酸类, 维生素 A、C 含量多, 维生素 C 的含量也比菠菜和柑桔类的水果都高^[3], 具有降低血压、抑制血管疾病、抗衰老、抗癌作用。还具有清热解毒、止血、散结消肿、化痰止咳之功效。可治疗乙型肝炎、急性咽喉炎、结膜炎、中耳炎、慢性支气管炎、风寒感冒、流感、消化不良、创伤出血、痈肿、痔疮等症。马兰全草入药, 单剂、复剂均可治病, 也可与其他食物一起食用, 进行食疗, 对数十种疾病都有预防和治疗作用。马兰的市场的的需求量大, 人工栽培可产生较大的经济效益。但目前马兰栽培面积不多、野生马兰的数量有限, 供不应求, 因而扩大马兰的人工栽培面积、加快优良品种的选育势在必行^[4]。

目前人们多数采用种子繁殖和分株繁殖来栽培马兰^[5-7], 此方法能大量繁殖马兰, 但易将病毒传给下一代, 引起品种退化、严重地影响了产品的商品价值。通过组织培养不仅能够快速繁殖种苗, 还可以生产脱毒苗, 周年试验或生产周期短, 不受季节的限制, 而且占地面积小, 繁殖速度快, 为马兰的规模化栽培和种苗繁育提供了技术保障。

1 材料与方

1.1 试验材料

试验材料采自湖州师范学院内植物园的野生马兰, 选择 0.3~0.5 cm 的茎段作为

外植体。

1.2 消毒方法

将外植体用清水冲洗, 再将茎段用 0.1% HgCl₂ 消毒 8 min, 用无菌水冲洗 4~5 次, 置于无菌皿中备用。

1.3 试验方法

①芽诱导培养基 以 MS 为基本培养基, 附加不同种类浓度的激素、3%的蔗糖和 0.8%琼脂配制成 Y1、Y2、Y3、Y4、Y5 五组培养基, 每组又分 3 种, 分别用 1、2、3 表示, 总计 15 种培养基, 具体配方见表 1。

②生根培养基 以 MS、1/2MS、1/2MS+0.1 mg/L NAA 为基本培养基, 再附加 3%的蔗糖和 0.7%琼脂配置成 G1、G2、G3 三种生根培养基。

③操作方法 将准备好的外植体分别接种在 15 种芽诱导培养基上诱导生芽, 培养温度 22~26℃, 光照 2 000 lx, 光照 14 h/d。接种 28 d 后, 将芽诱导培养基上的丛生新芽分成 D1、D2 二组, 其中 D1 去掉愈伤组织, D2 带有愈伤组织。然后转接至 G1、G2、G3 生根培养基诱导生根。

待根长成 1.5~2 cm, 将有根苗洗去培养基, 移植温室营养土中, 浇透水, 其上覆盖塑料膜, 7 d 后去掉塑料膜。注意适时浇水, 防菌, 防烂苗, 并观察其长势。

表 1 芽诱导培养基成分

代号	培养基	1	2	3
Y1	MS+2 mg/L BA	+0.05 mg/L NAA	+0.1 mg/L NAA	+0.2 mg/L NAA
Y2	MS+4 mg/L BA	+0.05 mg/L NAA	+0.1 mg/L NAA	+0.2 mg/L NAA
Y3	MS+6 mg/L BA	+0.05 mg/L NAA	+0.1 mg/L NAA	+0.2 mg/L NAA
Y4	MS+8 mg/L BA	+0.05 mg/L NAA	+0.1 mg/L NAA	+0.2 mg/L NAA
Y5	MS+10 mg/L BA	+0.05 mg/L NAA	+0.1 mg/L NAA	+0.2 mg/L NAA

徐秀芳(1963-), 女, 系主任, 教授, 主要从事遗传及育种学、植物同工酶方面的研究。

电话: 0572-2322003, 13867289658。E-mail: xuxiufang@hutczj.cn

收稿日期: 2008-03-12

2 结果与分析

2.1 不同培养基对芽诱导及生长的影响

接种后 5~8 d, Y1 培养基首先长出新芽, 芽长 0.2~0.5 cm, 再过 2~3 d, 其他培养基才陆续长出新芽, 同时茎段基部产生少量的愈伤组织。21 d 后 15 种培养基均长出丛生新芽, 芽增殖率 8~13, 芽诱导率 100%, 但丛生新芽生长情况不同, 见表 2。

从表 2 看出, 在 Y11、Y21、Y31 丛生新芽高、叶片大而绿; 说明 BA 在 2~6 mg/L 浓度范围内, 芽的生长与 NAA 的浓度有关, 当 NAA 的浓度为 0.05 mg/L 时, 较适合芽的诱导及生长。在 Y4 的 3 种培养基中, 当 NAA 的浓度为 0.1 mg/L 时, 在 Y5 的 3 种培养基中, 当 NAA 的浓度为 0.2 mg/L 时, 丛生芽生长较好。说明, 在 BA 浓度增大时, NAA 浓度也要相应增大, 比较适合芽的生长。

2.2 不同培养基对根的诱导及生长的影响

将 D1 和 D2 同时接种到 G1、G2、G3 生根培养基中, 5~7 d, G1 培养基首先生根, 根长 1.2~1.5 cm, 再过 5 d, G2 和 G3 培养基开始生根。培养到 25 d 时生根情况见表 3。

由表 3 可知, 去掉愈伤组织的丛生芽生根率 100%, 带有愈伤组织的丛生芽生根率较低; 而且 MS 培养基对去掉的愈伤组织马兰生根效果最好。

表 2 不同培养基对芽的诱导和生长的影响

培养基	株高/cm	叶片大小	叶色	生长速度
Y1	1	5.3	+++	+++
	2	4.1	++	++
	3	2.1	+	+
Y2	1	4.0	+++	+++
	2	1.6	+	+
	3	2.2	++	++
Y3	1	5.1	+++	+++
	2	3.7	++	++
	3	2.7	+	+
Y4	1	3.2	++	++
	2	3.9	+++	+++
	3	3.0	++	++
Y5	1	2.9	++	++
	2	3.6	++	++
	3	4.2	+++	+++

备注: “+”表示叶片小、叶色(绿)浅、生长速度慢, “+++”相反, “++”居中。

表 3 不同的培养基对丛生新芽生根的影响

培养基种类	D1(去掉愈伤组织)			D2(带有愈伤组织)		
	生根率	每株生根数	根长/cm	生根率	每株生根数	根长/cm
G1(MS)	100%	8.50	14.9	40%	3.01	2.2
G2(1/2MS)	100%	3.75	7.0	80%	1.50	7.0
G3(1/2MS+0.1 mg/L NAA)	100%	7.06	1.8	80%	3.50	2.0

2.3 组培苗的移栽

幼苗生根待根长成 1.5~2 cm, 将已生根的组培苗用自来水浸泡 3~5 h, 洗去培养基, 定植到栽培基质中。移栽后盖上塑料薄膜, 相对湿度保持在 90% 以上, 温度 20~25℃ 移栽一周后即可看到新叶的长出, 成活率可达 92% 以上。90 d 后, 平均每株根长 6.8 cm, 平均叶宽 1.94 cm, 平均每株的叶片数为 14.6 片。

3 结论

本试验结果表明, 在一定范围内 (BA 浓度 2~6 mg/L), 当培养基中 BA 浓度相同时, NAA 的浓度为 0.05 mg/L 时, 适合芽的诱导及生长, 马兰的最佳诱芽及生长培养基为 MS+2 mg/L BA+0.05 mg/L NAA。去掉愈伤组织的丛生芽更容易生根, 最佳生根培养基为 MS 培养基。

马兰的幼叶、茎尖、茎段均可作为外植体, 通过组织培养的方法产生再生植株, 快速繁殖优良种苗^[8-10]。为扩大马兰的栽培面积, 促进野生蔬菜资源的开发利用奠定了可靠的基础。

参考文献

- [1] 徐秀芳, 张海洋. 浙江省马兰资源及其开发利用[J]. 北方园艺, 2005(2): 36-37
- [2] 李成琼, 向询. 野菜——马兰[J]. 吉林蔬菜, 1998(5): 18
- [3] 王秀婷. 马兰头[J]. 食品与生活, 2000(2): 36
- [4] 张守涛. 野菜资源及其开发利用[J]. 西北园艺, 1999(5): 26-27
- [5] 刘跃钧, 叶征莺, 徐东斌. 马兰人工周年栽培技术[J]. 中国林副特产, 2007(1): 34-36
- [6] 柳新红, 刘跃钧, 潘心禾, 等. 马兰种子发芽试验初报[J]. 浙江林业科技, 2003(5): 25-27
- [7] 吴爱芳, 袁晶, 朱华丽, 等. 诸暨市马兰头周年生产栽培技术[J]. 长江蔬菜, 2007(8): 17
- [8] 李岩, 吴延军. 野生山马兰的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2002(6): 580
- [9] 石丽敏, 钱春桃. 野生蔬菜马兰的离体培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(1): 113
- [10] 文国琴, 何道文. 马兰的组织培养与植株再生[J]. 亚热带植物科学, 2005, 34(4): 64