

山 嵛 菜 离 体 培 养 与 快 速 繁 殖 研 究

杨正松, 和加卫*, 徐中志, 李 燕, 杨丽云, 毕海林

(云南省农业科学院 高山经济植物所, 云南 丽江 674100)

摘 要 山嵛菜是一种重要的经济植物, 用于医药、食品加工等领域。取山嵛菜带腋芽茎段作为外植体进行组织培养, 利用长出的新芽直接诱导生成丛生芽。结果表明: MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L 为最佳的丛生芽诱导和增殖培养基; 生根较适宜的培养基为 $1/2$ MS + NAA 0.05 mg/L。

关键词 山嵛菜; 组织培养; 带腋芽茎段

中图分类号: S567 文献标识码: A 文章编号: 1006 - 9690 (2008) 04 - 0065 - 03

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Eutrema wasabia* Maxim.

Yang Zhengsong, He Jiawei, Xu Zhongzhi, Li Yan, Yang Liyun, Bi Hailin

(Alpine Economic Plants Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Lijiang 674100, China)

Abstract *Eutrema wasabia* Maxim. is an important economical plant, used as medicine and food. The techniques of tissue culture and rapid propagation were studied by using stem with axillary bud as explants. The results showed that the induction and multiplication medium was MS + 6-BA 2.0 + NAA 0.05, and the rootage medium was $1/2$ MS + NAA 0.05.

Key words *Eutrema wasabia* Maxim.; tissue culture; stem with axillary bud

山嵛菜 (*Eutrema wasabia* Maxim.), 又名山葵, 为十字花科山嵛菜属多年生草本植物^[1], 原产日本, 是一种具有重要经济价值的植物。山嵛菜整个植株具有强烈辛辣味和特殊的芳香, 在日本、东南亚国家及港澳台地区, 其根状茎主要作为鲜食生鱼片等海鲜的高级调味品, 也可用于医药领域, 有免疫、镇痛、助消化、杀菌等功效。山嵛菜在一年内有两个生长旺盛期, 每年 3 月长出新芽后, 新芽进入茎叶生长期, 3~5 月份为花期, 此时根茎逐渐肥大, 7~8 月份生长缓慢。入秋以后, 气温下降, 但茎叶再次生长, 根茎肥大, 为第二生长旺季; 入冬以前, 老叶脱落, 生长停止。翌年开春, 开始采收, 一直到栽培后二年半内均可采收^[2]。近年来, 我国西南地区进行山嵛菜引种栽培, 其中云南丽江、大理、安宁、保山、昭通等利用高山地区的生态环境, 大面积种植山嵛

菜, 建立了国内最大的山嵛菜生产基地, 成为地方出口创汇的特色产业。目前国内种植和出口的主要品种是岛根 3 号、真妻和台农等品种^[3], 这些年以来公司和农民采用分株繁殖和种子育苗进行多代繁殖, 引进品种退化、病虫害增多和产量、质量下降, 造成了很大的经济损失, 影响了山嵛菜产业的可持续发展^[4]。1999 年我们从日本引进静岗 1 号品种, 在丽江进行了引种栽培, 发现静岗 1 号具有分株多、产量高、生长周期短等特性, 为此我们对其进行了组织培养, 结果如下。

1 材料与方法

1.1 材 料

山嵛菜静岗 1 号品种的带腋芽茎段。

1.2 方 法

1.2.1 建立无菌体系

外植体灭菌: 取生长健壮的植株的带腋芽茎段, 去掉叶片, 用加中性洗涤剂的自来水浸泡, 并不断摇动, 10 min 后用自来水冲洗干净。再于超净工作台

收稿日期: 2007 - 12 - 18

作者简介: 杨正松 (1977 -), 云南鹤庆人, 主要从事高山经济植物的开发利用研究。

* 通讯作者

上进行消毒处理,即用 70%乙醇处理 30 s和 0.1% HgCl(氯化汞,加数滴吐温-20)处理 8~10 min,无菌水冲洗 4~5次。最后于培养皿中切割成 1 cm大小带腋芽的茎段,接种到启动培养基上。

培养基植物生长调节剂配比的筛选:以 MS为基本培养基。启动培养基附加 6-BA (细胞激动素) 0.2 mg/L +NAA (萘乙酸) 0.01 mg/L。增殖培养基中分别附加 6-BA 0.5、1.0、2.0 mg/L, NAA 0.01、0.02、0.05 mg/L,进行最适植物生长调节剂配比的筛选,共计 9种处理,每个处理接 30个新芽,重复 3次。所有培养基皆以 6.5 g/L琼脂固化,pH值 5.8,蔗糖 30 g/L。培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照 10~12 h/d,光照强度 1500~2000 lx。

1.2.2 生根培养

在 MS和 1/2 MS培养基上分别附加不同浓度的 NAA,即 0.01、0.02、0.05 mg/L,蔗糖浓度为 20 g/L。选健壮幼嫩茎段接种,25 d后统计生根情况。

1.2.3 生根苗移栽

已生根的组培苗移栽时,先将培养瓶移出培养室,于室温下放置 2~3 d,再将封口膜去掉,然后小心取出苗,洗去根上附着的培养基,并于加多菌灵的溶液中浸泡 2 h左右,最后移栽到营养钵中,精心管理,30 d后统计移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 起始培养

将消毒后的茎段接种到起始培养基上,经 3~5 d,芽开始萌动,培养 3周后,新芽长至 2~3 cm,切基部生长旺盛部分进行继代转接。

2.2 增殖培养

将新芽接种到含有不同浓度 6-BA 和 NAA 组合的 MS培养基上。培养 4周左右,每个芽可形成 6~10个芽组成的丛生芽。不断把丛生芽分割成 2~3个为 1丛的芽丛,转接到增殖培养中进行继代培养,4周左右可继代增殖 1次。植物生长调节剂是诱导芽增殖的关键物质,适宜的植物生长调节剂组合可以使芽的增殖系数达到最高。6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L 的组合,其增殖系数最高,为 10,增殖的芽多呈丛生状,苗长势良好,且较健壮;6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.02 mg/L 组合的增殖系

数次之,为 6.1,长出的苗较矮小细弱;6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.01mg/L 组合的增殖系数最低,为 1.0,且苗生长缓慢。因此,山嵛菜工厂化育苗宜使用 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L。

表 1 NAA及 6-BA对山嵛菜继代增殖的影响

培养基配方	接种数/个	丛生芽数/个	增殖系数
MS + 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.01mg/L	30	30	1.0R
MS + 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.02mg/L	30	34	1.1
MS + 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.05mg/L	30	46	1.5
MS + 6-BA 1.0mg/L + NAA 0.01mg/L	30	92	3.1
MS + 6-BA 1.0mg/L + NAA 0.02mg/L	30	83	2.8
MS + 6-BA 1.0mg/L + NAA 0.05mg/L	30	107	3.6
MS + 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.01mg/L	30	138	4.6
MS + 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.02mg/L	30	184	6.1
MS + 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.05mg/L	30	301	10.0

2.3 生根培养

选取粗壮、生长旺盛的单个芽,转入生根培养基中诱导生根。结果表明:山嵛菜生根容易,在 MS + NNA培养基上 70%试管苗可以生根,而在 1/2 MS + NNA培养基上均能生根(见表 2)。说明低浓度的无机盐有利于试管苗生根。在 1/2 MS + NNA 0.05 mg/L 培养基上生根效果最好。转接入生根培养基 7~10 d后,试管苗切口处出现白色的根状突起,25 d后,根长 1~2 cm,每株生根 10条以上,且为皮部生根,易移栽成活。

表 2 不同培养基配方对山嵛菜生根诱导的情况

培养基配方	接种数/个	生根数/株	单株生根条数/条	平均生根率/%
MS	30	16	3.2	53.3%
MS + NAA 0.01mg/L	30	21	5.6	70%
MS + NAA 0.02mg/L	30	25	7.1	83.3%
MS + NAA 0.05mg/L	30	26	8.7	86.7%
1/2MS	30	28	8.3	100%
1/2MS + NAA 0.01mg/L	30	30	9.5	100%
1/2MS + NAA 0.02mg/L	30	30	12.4	100%
1/2MS + NAA 0.05mg/L	30	30	18.6	100%

2.4 炼苗与移栽

试管苗在生根培养基上生长 25 d左右,此时根长在 1~2 cm之间,即可进行炼苗,使其容易适应外界环境条件。首先将试管苗不揭封口膜在室温下锻炼,通过降低温度和光照使其环境接近外界环境,2~3 d后将封口膜揭掉,加少许自来水(防止培养基生霉)继续炼苗 1~2 d,然后,洗净根上的培养基,

将其移栽至经高压灭菌过的栽培土中。移栽后浇透水,初期加覆盖物,保温保湿。管理期间,土壤切忌太湿,并注意保持空气湿度,同时,要适时喷杀菌剂,以防杂菌滋生。30 d后,成活率达 95%。

3 结 论

利用山嵛菜的带腋芽茎段作为外植体,用组织培养的方法能再生完整植株,可以在较短的时间内培育出大量的优质种苗,加快其繁殖速度。本试验筛选出的最佳增殖培养基为 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L;最佳生根培养基为 1/2 MS + NAA 0.05 mg/L,生根率达 100%。生根试管苗

经炼苗后,移栽成活率达 95%。可以满足山嵛菜规模化生产的需要。本试验选择了细胞分裂素中效果较好和廉价的 6-BA,生长素选择了 NAA,大大节约了生产成本,适合大规模生产所需,为山嵛菜的工厂化生产奠定了基础。

参考文献:

- [1] 中国植物志编委会. 中国植物志,第 32 卷 [M]. 北京:科学出版社, 1985.
- [2] 裕载勋. 山葵的人工栽培 [J]. 中草药, 1992, 15(2): 9 - 10.
- [3] 郑家文,杨祚斌. 山葵栽培技术. 西南农业学报, 2004, 17 (增刊): 111 - 115.
- [4] 何万兴,吴志平,宁 红,等. 四川山葵病虫害调查 [J]. 西南农业学报, 2005, 18 (1): 63 - 66.

(下接第 64 页)

杂肥 22.5~30 t 或优质农肥 15 000~22 500 kg,普通过磷酸钙 600~750 kg 硫酸钾 150~300 kg,所追施的各种肥料,农肥与各种化肥应充分混合拌匀,结合中耕松土,在金雀花行间距金雀花植株根部两边 25~20 cm 处开沟施入,然后覆土盖严。

采用分株繁殖育苗或分株移栽的金雀花母株田(地)块,要在采挖分株后 30 天左右,根系伤口愈合时,每公顷用尿素 75~150 kg 兑清水浇施,或每株金雀花浇施人畜粪尿 500~800 g,以促进金雀花植株迅速恢复,进入正常的生长发育,恢复树势。

(4)修剪和整型:为保证金雀花产量和方便采摘,定植第二年春季开始,应即时进行修剪整型。一是要保持植株高度在 1.5~1.80 m,以方便摘花;二是修剪过密的枝条(主要是根部抽生的枝条)及部分春梢(春季发生枝),保留秋稍作第二年的花枝,三是通过整理枝条,保证枝梢(树冠)呈松散状态,增加金雀花树冠受光面,以促进通风透光,以获得高产。修剪和整型时间,一般在每年的冬季和初春季。

(5)金雀花树花的防治:金雀花树花是一种寄生于其树茎、枝条上的有害植物,一般多见于 3 年生以上的老熟树茎和枝条。严重影响金雀花生长,影响金雀花产量和质量。树花的防治,一是要于每年的冬春季,每公顷用石硫合剂溶液 750~1 125 kg 喷雾于生有树花的金雀花植株茎杆上;二是剪除寄生

有树花的树茎和枝条,搬运出金雀花园地烧毁。

(6)适时防治虫害:金雀花根系会受到细黄蚂蚁的危害,一般于开春用来福灵兑水浇根或用蚂蚁净诱杀。方法是:将蚂蚁净放置于锡纸上并置于细黄蚂蚁出没的地方(蚂蚁洞穴口),上面再加盖一小块能将锡纸盖住的塑料薄膜防雨露淋湿、回潮而散失药效。

于每年的春初,金雀花花蕾初现,田间调查金雀花有蚜株率 15%,100 株有蚜 400 头时,每公顷用 1 500~2 250 g 40% 氧化乐果兑水 1 125 kg 喷雾进行防治。或采用生物防治技术,繁殖食蚜蝇、食蚜瓢虫等,经田间调查,金雀花有蚜株率达 4%,100 株有蚜虫达 200 头时,在金雀花田地间放养食蚜蝇和食蚜瓢虫,以防治蚜虫。

2.4 适时采摘上市

当花蕾花瓣稍为张开,花瓣淡黄色时,应即时采摘,分级包装保鲜上市。

参考文献:

- [1] 谷兴杰,于跃东,刘玉良. 野生玉竹驯化栽培新技术的研究 [J]. 中国野生植物资源, 2005 (3): 66 - 68.
- [2] 刘汉珍,俞 浩,许 文,等. 贯众的繁殖方法及栽培技术 [J]. 中国野生植物资源, 2005 (3): 60 - 63.
- [3] 西南林学院,云南省林业厅. 云南树木图志 [M]. 昆明:云南科技出版社, 1990.