

马兰茎尖培养及快速繁殖的研究

牟 笛,陈希男,贾宝林,徐 娜,姜长阳

(辽宁师范大学 生命科学学院,辽宁 大连 116029)

摘要:以马兰的茎尖为试验材料,进行了茎尖的萌发与分化、试管苗的生根、移栽与移植的快繁技术研究。结果表明:MS+BA 0.2 mg·L⁻¹+IAA 0.5 mg·L⁻¹+GA₃ 0.5 mg·L⁻¹是生长点萌发生长的理想培养基;MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹+BA 1.0 mg·L⁻¹是萌发生长芽分化培养的理想培养基;1/2MS+IAA 0.6 mg·L⁻¹是不定芽生根培养和生根继代培养的理想培养基;在温室中河沙是试管苗移栽的理想基质;移植到山坡上的试管苗长势旺盛。

关键词:马兰;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S647

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)10-0001-03

马兰(*Kalimeris indica*)又称北鸡肠、山鸡肠、马兰头、路边菊、十里香和红管药等,属于菊科马兰属多年生草本植物,生长于山阳坡、半湿草地、湿草甸子、林边、沟边、林内草地、荒地等处,在我国的黑龙江、吉林、辽宁、河北、山西、内蒙古、陕西、河南、江苏等地有分布^[1-2]。马兰的全草可作药用,具有凉血清热、利湿解毒等功效,能治多种出血、疟疾、黄疸、水肿、咽喉疼痛、痔疮、痢疾、丹毒等疾病^[3-4]。同时,马兰也可作野菜食用。马兰的幼苗、嫩茎既可炒食、凉拌,又可煲汤^[5]。由于马兰既是野菜,又具有多种药用价值,所以,近年来每年春夏季人们都要大量地采收食用,秋天又广泛地采收药用,从而导致这种野生资源迅速减少。为了满足人们药用和食用的需求,准备对其进行种植。但是,由于野生马兰能形成的种子很少,加之春天食用对嫩苗、嫩茎进行采收的植株根本不能形成种子,人工的种植只能采用挖取野生植株的方法得到种苗,这使本来就很有有限的野生资源又遭到严重破坏。为了保护这种野生资源,并满足人们批量栽培对种苗的需求,特对马兰进行组织培养及快速繁殖的研究。虽然现在已有马兰属植物^[6]和马兰^[7]组织培养研究的报道,但迄今未见马兰茎尖培养及快速繁殖研究的报道。

1 材料与方法

1.1 材料

2007年6月中旬把在大连旅顺菜大岭山坡上生长非常旺盛、未开花的马兰顶端剪掉(促进叶腋生长点的发育)7~10 d后,将地上茎采回实验室,剪去叶片,再切成长4~5 cm的有芽茎段备用。

材料灭菌参见郑媛媛等山麦冬的研究^[8]。培养条件参见高耸等变异油麦菜的研究^[9]。

1.2 方法

1.2.1 萌发芽的培养 将无菌茎段用解剖刀切成长0.2~0.3 cm具有生长点的茎段后,分别接种到以MS为基本培养基,附加不同浓度激素配比的4种培养基上,在恒温28℃无光的条件下进行无菌苗的获得培养试验。无菌苗的获得培养试验重复3次,每种处理接种100个材料,试验时间为2007年6~12月。

1.2.2 不同细胞分裂素对萌发生长芽分化的影响 将以上培养的萌发生长芽切成长1.0 cm左右,至少具有2个生长点的茎段后,接种到以MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹为基本培养基,附加不同浓度细胞分裂素的培养基上,在光照条件下进行萌发生长芽分化试验。萌发生长芽分化试验重复3次,每种处理接种100个材料,试验时间为2008年1~7月。

1.2.3 不同浓度生长素对不定芽生根的影响 将上述分化培养的不定芽切下后,接种到以1/2MS为基本培养基,附加不同浓度IBA、NAA和IAA的生根培养基上,进行不定芽的生根培

收稿日期:2010-09-13

基金项目:辽宁省高等教育教学改革资助项目(3-4);辽宁师范大学教学改革资助项目(LSJG:20090108)

第一作者简介:牟笛(1989-),女,辽宁省朝阳市人,学士,从事植物组织培养研究。

通讯作者:姜长阳(1953-),男,辽宁省大连市人,教授,从事植物技术研究。E-mail: changyangjiang@126.com。

养。生根培养试验重复 3 次,每种处理接种 100 个不定芽,试验时间为 2008 年 8 月~2009 年 7 月。

1.2.4 试管苗的生根继代培养 将以上生根培养的试管苗从根部剪下,再剪成长 1.0~1.5 cm、至少具有 2 个叶片的茎段,接种到生根培养基上,进行试管苗的生根继代培养。生根继代培养试验重复 3 次,每次继代培养 6 代,培养 200 个材料,试验时间为 2009 年 1~5 月。

1.2.5 试管苗的移栽 将生根继代培养的试管苗从培养瓶中取出后,移栽到上层为干净河沙、下层为园土的温室营养钵中。移栽后要保持湿度 90%以上、温度 23℃左右、无直射光的环境条件。试管苗的移栽试验重复 4 次,每次移栽 200 株试管苗,试验时间为 2009 年 6 月。

2 结果与分析

2.1 萌发芽的培养

接种培养 15 d 左右可见生长点萌发并开始生长。培养到 50 d 时统计,结果见表 1。由表 1 看出,在附加激素 BA0.2 mg·L⁻¹ + IAA 0.5 mg·L⁻¹ + GA₃0.5 mg·L⁻¹ 的培养基上,不仅培养芽萌发率高,而且萌发芽长势好。表明,在这种激素配比的培养基上,生长点一旦开始萌发,就会迅速生长。培养到 50 d 时,萌发芽就会生长为具有 5~7 个侧芽、茎粗 0.12~0.16 cm、长 3 cm 左右的黄色萌发芽。说明,MS+BA 0.2 mg·L⁻¹ + IAA 0.5 mg·L⁻¹ + GA₃0.5 mg·L⁻¹ 培养基是马兰生长点萌发生长的理想培养基。

表 1 不同激素配比对生长点萌发的影响

激 素	萌发率/%	萌发芽长势
BA0.2 mg·L ⁻¹ + IAA0.5 mg·L ⁻¹ + GA ₃ 0.5 mg·L ⁻¹	0	-
BA0.2 mg·L ⁻¹ + IAA0.5 mg·L ⁻¹ + GA ₃ 0.5 mg·L ⁻¹	86	++
BA0.2 mg·L ⁻¹ + NAA0.5 mg·L ⁻¹ + GA ₃ 0.5 mg·L ⁻¹	61	+
BA0.2 mg·L ⁻¹ + 2,4-D0.5 mg·L ⁻¹ + GA ₃ 0.5 mg·L ⁻¹	0	-

注: - 为不生长; + 长势一般; ++ 长势较好。下同。

2.2 不同细胞分裂素对萌发生长芽分化的影响

培养到 60 d 时统计结果见表 2。由表 2 可知,在不加细胞分裂素和加不同浓度的 KT 的培养基中,接种材料不能分化;在加不同浓度细胞分裂素 ZT 和 BA 的培养基中,接种培养的材料均能不同程度的分化。其中附加浓度为 1.0 mg·L⁻¹ 的 BA 培养基中,分化率为 94%,平均每个培养材料的分化数为 4.8 个,并且培养的不定芽高为 0.9~2.3 cm,长势较好。在这一培养基上培养到 10 d 时可见分化出不定芽,随后,在先分化的不

定芽基部又会分化出多个不定芽,使之出现丛生状不定芽。由此得出,MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹ + BA 1.0 mg·L⁻¹ 培养基是马兰萌发生长芽分化培养的理想培养基。

表 2 不同细胞分裂素对萌发生长芽分化的影响

激素/mg·L ⁻¹	分化率/%	平均分化芽数/个	萌发芽长势
0	0	0	-
ZT0.5	68	3.1	+
ZT1.0	89	3.0	+
ZT1.5	45	4.3	+
BA0.5	58	2.7	++
BA1.0	94	4.8	++
BA1.5	55	5.1	+
KT0.5	0	0	-
KT1.0	0	0	-
KT1.5	0	0	-

2.3 不同浓度生长素对不定芽生根的影响

接种后 25 d 观察统计结果见表 3。由表 3 可看出,在生根培养基中不加生长素和加入不同浓度 IBA 的条件下,培养材料不能生根;而在生根培养基中加入不同浓度的 NAA 和 IAA 时,接种培养的不定芽都能生根。其中在浓度为 0.6 mg·L⁻¹ 的 IAA 培养基上生根效果理想,不仅生根率为 94%,平均每株生根数为 5.5 条,而且培养生长的试管苗长势好。观察也表明,在这种生根培养基上,培养到 5 d 时形成可见根原基,随后根系不断地生长、根数也相继增加。培养到 25 d 时,1 个不定芽可长成 1 株高 4 cm 左右、具有 5~8 个叶片、茎粗 0.15 cm 左右、根系呈白色的旺盛试管苗。由此得出: 1/2MS + IAA 0.6 mg·L⁻¹ 这种培养基是马兰不定芽生根培养的理想培养基。

表 3 不同浓度生长素对不定芽生根的影响

IBA/mg·L ⁻¹	NAA/mg·L ⁻¹	IAA/mg·L ⁻¹	生根率/%	平均生根数/株
0	0	0	0	0
0.3	0	0	0	0
0.6	0	0	0	0
0.9	0	0	0	0
1.2	0	0	0	0
0	0.3	0	94	3.7
0	0.6	0	85	4.9
0	0.9	0	13	2.3
0	1.2	0	16	1.8
0	0	0.3	73	5.4
0	0	0.6	94	5.5
0	0	0.9	66	3.3
0	0	1.2	21	2.4

2.4 试管苗的生根继代培养

继代培养的结果证明:经过 23 d(一个培养周期)的培养,1 个培养的茎段,就可以培养生长为 1 株与生根培养生长相同的试管苗,每个培养周期的繁殖系数为 3.1。说明 $1/2MS + IAA 0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基也是马兰试管苗生根继代培养的理想培养基。

2.5 试管苗的移栽与移植

4 次移栽试管苗的平均成活率为 96.5%,并且移栽成活的试管苗生长较旺盛。说明在温室中,河沙是马兰试管苗移栽的适宜基质。

把 4 次移栽试验移栽成活的试管苗于 6 月上旬全部移植到菜大岭的山坡上,移植成活率为 99%。移植成活的试管苗前 30 d 左右生长较为缓慢,40 d 后开始快速生长,后期生长非常旺盛,9 月中旬开花,10 月上旬结果。

3 讨论

在该研究中,通过生根继代的培养方法进行繁殖,23 d 为一个培养繁殖周期,每个培养繁殖周期的繁殖系数为 3.1。按照这个速度每年能繁殖出 $3.1^{15.9}$ 个(约为 78 万个)后代,完全能达到保护这种野生资源的目的,并满足人们批量栽培对种苗的需求,而且采用这种方法进行繁殖,试管苗生长旺盛,几乎没有无效苗,从而也为试管苗的移栽奠定了基础。

在生根培养中,虽然在浓度为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NAA 培养基上的生根率也达到了 94%,但试管苗的长势却一般。其原因是 NAA 对愈伤组织的诱导作用强,使其在没有形成根原基时首先在待

生根的基部形成了愈伤组织,随后形成的根多数是在愈伤组织上形成的。因愈伤组织中没有输导组织,根吸收的大部分营养不能通过输导组织供给试管苗,从而影响了试管苗的正常生长。

移植的试管苗后期生长旺盛,是由于在试管苗的培养中使用较高浓度的生长素,使移植后的试管苗体内仍存在着一定浓度的生长素,这些生长素的后效作用促进了移植后试管苗根系的生长,能保证吸收更多的营养,从而促进了生长;另外,该研究所采用的是生长非常旺盛的野生植株为试验材料。这种试验材料本身就具有生长旺盛的遗传性。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第四册)[M]. 北京:科学出版社,1980:419.
- [2] 李书心. 辽宁植物志(下册)[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1991:448-449.
- [3] 韩全忠,王正兴. 大连地区植物志(下册)[M]. 大连:大连理工大学出版社,1993:730-731.
- [4] 南京中医药大学. 中药大辞典(下册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:384-385.
- [5] 徐践,马萱,岳瑾王. 野菜栽培技术问答[M]. 北京:中国农业大学出版社,2007:44-48.
- [6] 李岩,吴延军. 野生山马兰组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2006,38(6):580.
- [7] 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.
- [8] 郑媛媛,慈颖,曲杨乐,等. 山麦冬组织培养及无性系建立的研究[J]. 黑龙江农业科学,2009(5):14-16.
- [9] 高嵩,付欣,张鑫,等. 变异油菜组织培养及无性系建立的研究[J]. 黑龙江农业科学,2007(6):1-3.

Research on Rapid Propagation of *Kalimeris indica*

MU Di, CHEN Xi-nan, JIA Bao-lin, XU Na, JIANG Chang-yang

(Life Science College of Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029)

Abstract: The growth points of stem point were used as materials to establish the rapid propagation of *Kalimeris indica* by the studies on the development of growing point, differentiation of adventitious buds, rooting, cutting and transplantation of tube seedling. The results showed that the ideal medium for the growth and differentiation of growth point was $MS + BA 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + GA_3 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $MS + NAA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + BA 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively, the ideal medium for root induction culture and successive transfer culture was $1/2MS + IAA 0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Sand was best medium for transplanting to the greenhouse. They grew well when transferred to the hillside.

Key words: *Kalimeris indica*; tissue culture; rapid propagation