

# 薇菜组织培养技术

张 敏

(湖北三峡职业技术学院 生物工程系组培中心, 湖北 宜昌 443000)

**摘 要:** 试验以薇菜穗状孢子段为接种材料, 重点研究了影响薇菜孢子萌发、原叶体增殖的各项因素, 以及原叶体孢子苗的分化状况和孢子体试管苗练苗成活技术。结果表明: 在温度 25℃, 光照 12 h/d, 光照强度 2 000 lx, 培养基中加蔗糖 30 g/L, 琼脂 6 g/L, pH 5.8 培养条件下, 孢子萌发最适宜的培养基为 1/4 MS, 原叶体增殖的最适合培养基是 1/2 MS+KT 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 200 mg/L+活性碳 0.5%; 孢子体苗分化最适合的原叶体具有质地疏松、片状体大、肉质厚等性状; 在温度 20~30℃, 湿度 90%以上, 散射光下, 选取椰茸作基质练苗, 成活率高达 94%。

**关键词:** 薇菜; 组织培养; 原叶体; 增殖; 孢子体苗; 练苗

**中图分类号:** S 647.03.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0206-03

薇菜<sup>[1]</sup>是用一种叫紫萁(*Osmunda japonic* Thumb.)的植物或其近缘种分株紫萁(*Osmunda cinnamomea*)的嫩叶加工而成的山野菜。其营养丰富, 含有多多种人体必需的氨基酸、维生素及微量元素, 同时其味道鲜美, 无公害, 无污染, 近年来深受国内外消费者的喜爱。目前国际市场上薇菜供不应求, 收购价逐年提高。我国目前的薇菜开发主要停留在野生资源的利用上。由于采收强度大, 致使品质逐年退化, 野生资源也逐步枯竭。因此, 培育优质种苗, 进行人工规模化生产具有重要的意义。

试验对薇菜的组织培养技术作了初步探讨, 旨在为当地的薇菜大规模栽培和开发提供新技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

薇菜绿色穗状孢子采自湖北省夷陵区殷家坪乡。

### 1.2 试验方法

试验于 2001 年 7 月~2006 年 12 月在湖北三峡职业技术学院组培中心进行。试验分 4 个阶段: ①诱导孢子萌发和原叶体形成: 将绿色穗状孢子剪下, 用 0.1%洗衣粉水浸泡 3 min, 自来水冲洗 10 min, HgCl<sub>2</sub> 消毒 8 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 吸水纸吸干水分, 将穗状孢子切成 0.5 cm 的小段, 接种于 1/4 MS、1/2 MS、MS 培养基中。每瓶接种 10 段, 9 次重复。培养条件: 温度 25℃光照 12 h/d, 光照强度 2 000 lx, 培养基中加蔗糖 30 g/L, 琼脂 6 g/L, pH 5.8 观察孢子萌发情况; ②原叶体的增殖效果试验: 将 D 0.5 cm 原叶体小球接种到不同无机盐浓度、

不同 KT 浓度、不同附加物的 3 组培养基进行培养, 培养条件同①, 观察培养物分化状况; 将 D 0.5 cm 原叶体小球接种到 1/2 MS+KT 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 200 mg/L+活性碳 0.5%培养基上, 放置于不同温度条件下进行培养, 其它培养条件同①。以上每处理接种 10 块, 9 次重复。观察培养物分化状况。③孢子体苗的分化与生长试验: 将 D 1.0 cm、不同生长状况的原叶体接种于 1/2 MS+KT 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 200 mg/L+活性碳 0.5%培养基上培养, 培养条件同①, 每处理接种 10 块, 9 次重复。观察孢子体苗分化情况。④孢子体试管苗的练苗: 当孢子体试管苗长至 2~4 片叶、3~4 条根, 株高 3~4 cm 时, 打开瓶盖, 在实验室内练苗 3 d 后, 用镊子轻轻夹出, 洗净根部的培养基, 移栽到消毒的椰茸基质上, 练苗基数 500 株。注意遮荫保湿, 温度保持 20~30℃, 湿度保持 90%以上, 每隔 2 d 喷 1 次 1/2 MS 大量元素营养液。试验在三峡职业技术学院园艺实习基地进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 诱导薇菜的孢子萌发及原叶体形成

薇菜孢子接种于 1/4 MS、1/2 MS、MS 的培养基<sup>[2,3]</sup>上, 1 周后显微镜下可观察到孢子大量萌发, 并在以后逐渐形成丝状体和片状体, 1 个月后可形成 D 0.2 cm 左右的原叶体。

表 1 不同无机盐浓度下孢子萌发情况

培养基	1 周后显微镜下观察萌发情况	2 周后肉眼观察萌发情况
1/4 MS	大量萌发	孢子段上绿色的绒状体较多
1/2 MS	少量萌发	可见一些绿色绒状体
MS	极少量萌发	没有绿色绒状体

由表 1 可知, 薇菜孢子萌发与无机盐浓度高低有

作者简介: 张敏(1966), 女, 本科, 讲师, 主要从事植物组织培养的教学和科研工作。E-mail: zhangmin@tc.edu.cn.

收稿日期: 2007-09-01

关, 浓度高时抑制孢子萌发, 而浓度低时促进孢子萌发, 说明低无机盐浓度的培养基有利于孢子的萌发。

2.2 原叶体的增殖效果试验

将原叶体分切成 D 0.5 cm 的原叶体小球接种到下列培养基中, 2 个月统计增殖情况。

2.2.1 不同浓度 KT 对原叶体的增殖效果 从表 2 可看出, 不同浓度的激素对原叶体的增殖及生长状况有较

大影响, 当 KT 浓度在 0.5~5.0 mg/L 范围内时, 随 KT 浓度的增高, 原叶体的生长速度加快, 片状体生长明显; 而当 KT 浓度在 5.0~8.0 mg/L 的范围时, 随 KT 浓度增高, 原叶体生长速度减慢。说明当 KT 为 5.0 mg/L 时最有利于原叶体的增殖培养。试验还表明, 当 KT 浓度低于 IBA 浓度时, 有利于丝状体的生长, 当 KT 浓度高于 IBA 浓度时, 有利于片状体的生长。

2.3 孢子体苗的分化

将 D 1.0 cm 不同分化状况的原叶体接种于 1/2 MS+KT 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>200 mg/L+活性碳 0.5% 的培养基上, 4 个月后统计的分化情况见表 6。从表 6 可以看出, 原叶体质地对孢子体苗分化有较大影响: 丝状体明显, 片状体极少的原叶体不利于孢子体苗的分化, 而质地疏松、片状体块大、肉质厚的原叶体分化出的孢子体数量和质量都较好。这可能是因为片状体多, 原叶体中产生的精卵器较多, 它们受精形成合子的机会越多, 因而分化的孢子体苗数越多; 同时片状体肥大的原叶体中贮藏的营养更丰富, 从而更有利于孢子体苗的生长。

将这些孢子体苗转入 1/2 MS+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 2% 的培养基上, 约经过 1 个月的培养, 当孢子体苗长大到 3 cm 左右, 3~4 片叶时, 根系变得较粗壮, 即可移到试验地进行练苗。

表 6 不同质地的原叶体分化孢子体苗的情况

原叶体质地分化	孢子体苗数 *	孢子体苗的长势
质地紧密, 丝状体明显, 片状体极少	2.5	色黄绿 叶片小, 茎细, 根系细小, 平均苗高 1.5 cm, 根长 1.0 cm
质地紧密, 丝状体极少, 片状体多而碎小	9.5	色绿, 叶片小, 茎细, 根系细小, 平均苗高 1.6 cm, 根长 1.1 cm
质地疏松, 片状体块大, 肉质厚	10	色浓绿 叶片大, 茎较粗壮, 平均苗高 1.6 cm, 根长 1.2 cm

注: \*指 D 1.0 cm 的原叶体上的平均数

2.4 孢子体试管苗的练苗

将生根后的试管苗在实验室内打开瓶盖练苗 3 d 后, 洗净根部的培养基, 移栽到消毒的椰茸基质上。注意遮荫保湿, 温度保持 20~30℃, 湿度保持 90% 以上, 散射光照, 每隔 2 d 喷 1 次 1/2 MS 大量元素营养液。20 d 后, 练苗成活率达 94%, 成活后即可移入大田种植。

3 结果与讨论

薇菜孢子萌发、原叶体形成与增殖、孢子体苗分化等各个环节对培养基成份和培养条件都有严格要求, 只

表 2 不同浓度 KT 下原叶体的生长情况

培养基	原叶体直径平均数/cm	原叶体生长状况
1/2 MS+KT 0.5 mg · L <sup>-1</sup> +IBA 1.0 mg · L <sup>-1</sup>	0.76	丝状体明显, 片状体极少, 原叶体质地紧密
1/2 MS+KT 2.0 mg · L <sup>-1</sup> +IBA 1.0 mg · L <sup>-1</sup>	1.09	片状体明显, 丝状体极少, 原叶体质地紧密
1/2 MS+KT 5.0 mg · L <sup>-1</sup> +IBA 1.0 mg · L <sup>-1</sup>	1.21	片状体大而明显, 质地疏松
1/2 MS+KT 8.0 mg · L <sup>-1</sup> +IBA 1.0 mg · L <sup>-1</sup>	1.12	片状体多而碎小, 原叶体质地紧密

2.2.2 不同无机盐浓度对原叶体的增殖效果 从表 3 看出, 不同无机盐浓度都适合于原叶体生长, 对原叶体的生长分化影响不大。

表 3 不同无机盐浓度下原叶体的生长情况

培养基	原叶体直径平均数/cm	原叶体生长状况
1/4 MS+KT 5.0 mg · L <sup>-1</sup> +IBA 1.0 mg · L <sup>-1</sup>	1.19	片状体大而明显, 质地疏松
1/2 MS+KT 5.0 mg · L <sup>-1</sup> +IBA 1.0 mg · L <sup>-1</sup>	1.21	片状体大而明显, 质地疏松
MS+KT 5.0 mg · L <sup>-1</sup> +IBA 1.0 mg · L <sup>-1</sup>	1.18	片状体大而明显, 质地疏松

2.2.3 不同培养温度对原叶体的增殖效果 原叶体接种于 1/2 MS+KT 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>200 mg/L+活性碳 0.5% 培养基上后, 放置于不同温度条件下进行培养, 生长状况见表 4。从表 4 可以看出, 不同温度对原叶体的生长有较大影响: 较低温度条件下, 不利于原叶体的增殖培养, 而且低温下丝状体生长旺盛, 片状体生长缓慢; 较高温度也不利于原叶体的增殖和生长。试验表明, 25℃ 的温度较适合原叶体的生长。

表 4 不同培养温度下原叶体的生长情况

培养温度/℃	原叶体直径平均数/cm	原叶体生长情况
18	0.94	丝状体明显, 颜色金黄, 质地紧密
25	1.21	片状体大则明显, 颜色浓绿, 质地疏松
28	1.06	片状体多则碎小, 颜色黄绿, 质地较紧密

表 5 不同附加物下原叶体的生长情况

附加物	原叶体直径平均数/cm	原叶体生长状况
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 200 mg · L <sup>-1</sup>	1.28	片状体生长特别旺盛, 质地疏松
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 200 mg · L <sup>-1</sup> +活性碳 0.5%	1.32	片状体生长特别旺盛, 质地疏松
CK	1.21	片状体生长旺盛, 质地疏松

2.2.4 不同附加物对原叶体的增殖效果 在 1/2 MS+KT 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L 的基本培养基上, 添加不同的附加物, 对原叶体的增殖和生长的效果见表 5。从表 5 中看出, 培养基中添加一定的附加物, 对原叶体的生长具有一定的促进作用, 其原因可能是原叶体生长过程中对 P、K 元素的需求量较大, 活性碳在试管内可以吸附原叶体生长过程中产生的一些有害物质, 从而更有利于原叶体的生长。

# 提高芦荟繁殖系数的四种方法

任如意<sup>1</sup>, 司徒琳莉<sup>1</sup>, 纪 萍<sup>2</sup>

(1. 牡丹江师范学院, 黑龙江 牡丹江 157012; 2. 中国林副特产, 黑龙江 牡丹江 157011)

中图分类号: S 682.33 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2008)02-0208-02

芦荟 (Aloe) 为百合科芦荟属多年生肉质常绿草本植物, 原产于非洲东南和阿拉伯半岛等热带地区<sup>[1]</sup>, 全世界约 450 种, 芦荟在医药和化妆品工业中倍受国内外欢迎, 芦荟产业发展很快, 其中又以种植业发展势头迅猛, 芦荟的自然繁殖周期长, 雌雄花开的时间不同, 形成的种子小而少。因此, 用种子育苗很困难。传统上多用分株法繁殖, 但是繁殖系数较低, 为了满足大规模生产育苗的需要, 以及加快优良品种的推广, 组织培养方法已经成为快速生产种苗的有力手段。在芦荟的组织培养中, 芦荟的繁殖率直接影响芦荟组培苗的产量, 因此, 在芦荟的组织培养中, 培养基的成分、培养基中琼脂的含量、光照和培养器皿的选择均影响芦荟苗的繁殖率, 研究将从四方面阐述。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

品种: 木立芦荟、中国芦荟、木锉芦荟。

材料类别: 植株的幼嫩叶片、叶鞘、带腋芽茎段。

### 1.2 方法

取木立芦荟、中国芦荟、木锉芦荟幼苗, 除去多余的叶和根, 浸泡于适当浓度的洗衣粉水中 15 min, 然后用水冲洗 1 h 以上, 在超净工作台上用 75% 酒精浸泡 30 s 左右, 再用 0.2% HgCl<sub>2</sub> 溶液消毒 15~20 min, 并用无菌水冲洗 5~6 次, 冲洗 5 次左右, 洗去植物表面的 HgCl<sub>2</sub>

残液。将消毒后材料的茎、叶鞘分别接种于不同的培养基中, 培养温度 25℃, 光照强度为 1 800~2 000 lx, 光照时间为 12 h/d。以 MS 培养基添加琼脂 蔗糖 30%, pH 5.6~5.8 为基本培养基, 附加各种不同浓度的生长调节物质, 高压灭菌。

### 1.3 培养条件

(1) 培养基的编号及激素组成和浓度: ①KT 3 mg/L (单位下同)+IBA 1; ②KT 2+IBA 2; ③ZT 0.1~0.7+IBA 1; (2) 培养基中琼脂的含量 0.7%~0.9%; (3) 光照条件 1 800~2 000 lx; (4) 三角瓶培养, 罐头瓶培养。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养基成分对 3 种芦荟组培苗繁殖系数的影响

木锉芦荟组培苗的诱导: 灭菌后的木锉芦荟的叶片、叶鞘, 接种在愈伤组织诱导与分化培养基上①、②, 植物组织在第 1 次分化时, 时间较长, 约经 2 个月的表面停滞期, 才开始出现淡黄色或透明的愈伤组织。用分化过的材料再进行诱导则快得多, 10~20 d 即开始出现愈伤组织。继代到新鲜的培养基后, 愈伤组织即开始长出绿色的芽点, 芽点继续长大, 形成众多的丛生小芽。形成丛生芽的数目与外植体的来源有关, 概因其遗传特性的差异造成的。②号培养基中的出芽率高于①号培养基<sup>[2]</sup>。

3 种芦荟腋芽的诱导: 中国芦荟、木立芦荟和木锉芦荟的茎段, 灭菌后接种在③号培养基上。15~20 d, 腋芽开始萌动。细胞分裂素的浓度在 0.4~0.7 mg/L 的范围内<sup>[3]</sup>。

随着细胞分裂素浓度的升高, 芽的繁殖率也不断升

有在各因子处于最佳状态时, 才有利于薇菜试管苗的快速分化和生长。试验结果表明: 孢子萌发较适宜的培养基为 1/4 MS; 原叶体增殖较适宜的培养基为 1/2 MS+KT 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 200 mg/L+活性碳 0.5%, 经过 2 个月的培养原叶体直径由 0.5 cm 增至 1.32 cm, 体积增大近 7 倍; 直径 1.0 cm 大小、质地疏松、片状体块大且肉质厚的原叶体上分化出孢子苗数平均可达 10 株; 壮苗培养较适宜的培养基为 1/2 MS+IBA

0.5 mg/L; 选取椰茸基质练苗, 散射光照, 空气湿度 90% 以上, 温度 20~30℃练苗成活率达 94%, 练苗成活的试管苗经约 1 个月生长即可移入苗床进行大苗培养, 约 1 a 后即可移入大田种植。

## 参考文献

- [1] 南京农学院, 华南农学院. 植物学[M]. 上海: 科学技术出版社, 1980: 211-232.
- [2] 苏建宁, 王俊. 蕨的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1996(5): 361.
- [3] 赵玉芬. 大叶凤尾蕨的离体培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2001(8): 308.