

药用植物玛咖离体快繁技术研究

朱 军, 李晓瑾, 孙 丽, 贾晓光, 阿依古丽

(新疆维吾尔自治区中药民族药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002)

摘 要:以玛咖无菌苗的幼根、胚轴、子叶、带芽茎段为外植体,以 MS 培养基为基本培养基,研究了不同浓度激素组合对愈伤组织诱导、芽簇诱导及生根的影响,以期筛选最佳激素组合及浓度配比。结果表明:NAA、2,4-D 与 6-BA 组合有利于玛咖幼根愈伤组织及带芽茎段芽簇的诱导,单独使用 NAA 和 IBA 可诱导玛咖再生植株生根。最佳愈伤组织、芽簇及生根诱导培养基分别为 MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L、MS+NAA 0.25 mg/L+6-BA 2.0 mg/L、MS+NAA 0.5 mg/L。

关键词:玛咖;组织培养;离体快繁技术

中图分类号:R 931.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)22-0101-03

玛咖(*Lepidium meyenii*)属十字花科独行菜属 1,2 a 生草本植物,原产于南美洲,生长在海拔 3 500~5 000 m 秘鲁安第斯山区,其肉质根可药食兼用,具有很高的营养价值和药用价值^[1-2]。研究发现,玛咖中富含大量人体必需的氨基酸、多种不饱和脂肪酸、维生素和矿物质,主要化学成分是玛卡烯、玛卡酰胺、硫配糖体等,具有增强人体免疫力,快速恢复体力,消除焦虑、疲劳等功效^[3]。目前,玛咖开发的各类保健品畅销国内外。我国在新

疆、云南等地已成功引种,受其生物学特性和繁衍材料的限制,玛咖种植难以实现产业化,不能满足市场需要,因此,应用离体快速繁殖技术提高玛咖繁育效率,是加快扩大玛咖种植规模的有效途径之一。目前,玛咖的研究多集中在成分分析和药理学作用^[3-4],对其离体快繁系统研究鲜有报道。该试验以玛咖无菌苗为培养材料,研究不同培养条件对玛咖各外植体生长的影响,旨在为玛咖人工规模化繁育体系的建立提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试玛咖种子于 2009 年 8 月采自新疆塔什库尔干县,由塔什库尔干县帕米尔玛咖生物科技开发有限责任公司提供,经李晓瑾研究员鉴定,种子真实。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌苗的制备 取饱满的玛咖种子,在自来水中

第一作者简介:朱军(1982-),男,硕士,助理研究员,研究方向为药用植物组织培养及栽培。E-mail:zhujun1hao@163.com.

责任作者:李晓瑾(1962-),女,硕士,研究员,硕士生导师,研究方向为药用植物资源及繁育。E-mail:xjlxj@126.com.

资助项目:新疆维吾尔自治区“十二五”重大专项资助项目(201130105-1)。

收稿日期:2013-06-19

Abstract: The hippophae plays an active role in developing water and soil conservation and ecological environment construction in sandstone areas, taking the 2~10 a hippophae forest as the test material, plant composition and diversity of hippophae forest were studied. The result showed that understory plant species showed increasing at first and then decreasing as the age of hippophae forest increased. The plant species presented that the 8 a (20 species) > 6 a (19 kinds) > 4 a (17 species) > 10 a (10 species) > 2 a (8 species). The understory plant species of 2 a hippophae forest were mainly annual plant and xerophytes, the dominant species was *Chamaerhodos erecta*, the important value reached 30.1827; the dominant species were *Salsola collina* and *Thymus serpyllum* of 4 a hippophae forest, and the important values reached 10.7481 and 10.4768; 8-year-old sea buckthorn understory plant the dominant species were *Heteropappus altaicus* and *Thymus serpyllum* of 8 a hippophae forest, the important values reached 10.3416 and 10.1714, the dominant species was *Thymus serpyllum* of 10 a hippophae forest, its important value was 26.1437 with obvious predominance. Margalef richness index, Pielous evenness index, Shannon-Weiner diversity index and the Simpson diversity index of hippophae forest showed a decline after the first growing trend.

Key words: Sandstone areas; hippophae; plant diversity; Jungar

冲洗干净,在超净工作台中经 75%酒精 1 min+0.1%的升汞消毒 10 min,再用无菌水冲洗 3~5 遍,沥干水,接种在 1/2MS 培养基中,22℃,12 h 光照/12h 黑暗培养。2 周后,苗高 2~3 cm 时,切下幼根、叶片、胚轴、带芽茎段作为外植体。

1.2.2 愈伤组织诱导 选择 MS 培养基,添加蔗糖 30 mg/L,琼脂 7 g/L,激素为 6-BA(6-苄基腺嘌呤)、NAA(萘乙酸)、2,4-D(2,4-二氯苯氧基乙酸),pH 6.2。将幼根、叶片、胚轴分别接种到新鲜的培养基中,每瓶接种 5 块,每个配方接种 5~10 瓶,置于 22℃培养,前 1 周为暗培养,其余均在 16 h 光照/8h 黑暗下培养,光照强度 2 000 lx。培养 15 d 左右,调查褐化数、愈伤组织诱导块数。

1.2.3 芽簇诱导 选择 MS 培养基,添加蔗糖 30 mg/L,琼脂 7 g/L,激素为 6-BA、NAA,pH 6.2。将带芽茎段接种到新鲜培养基中,每瓶接种外植体 5 个,每个配方接种 5~10 瓶。置于 22℃、16 h 光照/8h 黑暗、光照强度 2 000 lx 条件下培养;接种 20 d 左右,调查芽簇诱导块数、幼苗生长状况等。

1.2.4 生根培养 上述诱导出的再生植株长至 2 cm 左右,切成单株,转到 1/2MS 生根培养基中进行生根培养。诱导培养前 1 周为暗培养,其余培养均在 16 h 光照/8h 黑暗下培养,光照强度 2 000 lx,培养温度 22℃。接种 20 d 左右,调查生根率,幼苗长势等。

2 结果与分析

2.1 不同浓度激素组合对玛咖愈伤组织诱导的影响

从表 1 可以看出,NAA、2,4-D 与 6-BA 组合有利于玛咖愈伤组织的诱导,其中 MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L 幼根诱导效果最好,最高诱导率为 95.8%,子叶和胚轴诱导率较低,单独使用激素 NAA 和 2,4-D 不适于玛咖愈伤组织的诱导(图 1~3)。

表 1 不同浓度激素组合对玛咖愈伤组织诱导的影响

培养基配方	愈伤组织诱导率/%		
	幼根	胚轴	子叶
MS+NAA 0.5 mg/L	0	0	0
MS+2,4-D 0.5 mg/L	0	0	0
MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 0.5 mg/L	17.9	0	0
MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L	95.8	2.4	6.7
MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L	95.2	4.7	4.0
MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L	92.0	0	7.7

2.2 不同浓度激素组合对玛咖芽簇诱导的影响

由表 2 可知,培养基单独添加 NAA 不能诱导玛咖带芽茎段形成芽簇,NAA 与 6-BA 组合效果较佳。随着 6-BA 浓度的增加,玛咖芽簇诱导率呈现单峰变化趋势,其中 MS+NAA 0.25 mg/L+6-BA 2.0 mg/L 的诱导率和增殖芽数最高(图 4~5)。



图 1 培养 30 d 子叶开始白化



图 2 培养 20 d 幼根开始出愈伤组织

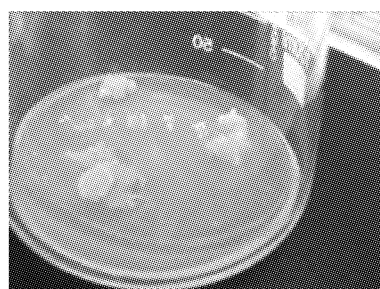


图 3 培养 30 d 幼根愈伤组织

表 2 不同浓度激素组合对玛咖芽簇诱导的影响

培养基配方	接种外植体数/个	芽簇诱导块数/个	诱导率/%	增殖芽数/个	增殖倍数/倍	生长情况
MS+NAA 0.5 mg/L	28	0	0	0	0	褐化,死亡
MS+NAA 1.0 mg/L	22	0	0	0	0	褐化,死亡
MS+NAA 0.25 mg/L+6-BA 1.0 mg/L	30	0	0	0	0	褐化,死亡
MS+NAA 0.25 mg/L+6-BA 2.0 mg/L	29	12	41.4	50	4.2	芽簇呈球形,芽粗壮,旺盛
MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L	27	11	40.7	29	2.6	芽较多,伴有生根,长势旺
MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2.0 mg/L	26	7	26.9	23	3.3	芽簇生长旺,但部分苗死亡
MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 4.0 mg/L	25	7	28.0	28	4	芽簇伴有生根,生长旺盛

2.3 不同浓度激素组合对玛咖幼苗生根的影响

表 3 表明,IBA 与 NAA 对玛咖幼苗生根均有诱导作用,其中 1/2MS 添加 IBA 1.0 mg/L 或 NAA 0.5 mg/L 诱导玛咖幼苗生根效果较好,前者诱导生根率最高达 100%,平均单株生根数达 2.8 个以上,后者诱导生根率达 92.5%,平均单株生根数达 3.5 个,二者根长均较长(图 6)。

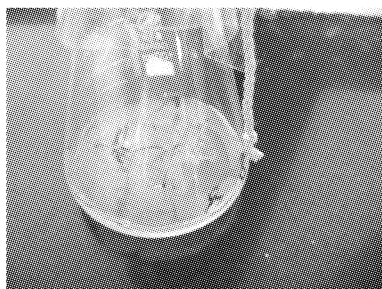


图4 培养10 d带芽茎段



图5 培养30 d带芽茎段

表3 不同浓度激素组合对玛咖幼苗生根的影响

培养基配方	接种苗数/个	生根苗数/个	生根率/%	平均单株生根数/个	根长/cm	根粗/mm
1/2MS+IBA 0.5 mg/L	25	12	48.00	2.3	1.5	0.08
1/2MS+IBA 1.0 mg/L	27	27	100.00	2.8	2.4	0.08
1/2MS+IBA 2.0 mg/L	27	14	51.85	1.9	2.5	0.08
1/2MS+NAA 0.5 mg/L	27	25	92.59	3.5	2.4	0.08
1/2MS+NAA 1.0 mg/L	25	18	72.00	3.1	1.7	0.08
1/2MS+NAA 2.0 mg/L	25	15	60.00	2.5	2.3	0.08



图6 诱导生根

Study on the Rapid Propagation of Medicinal Plants *Lepidium meyenii*

ZHU Jun, LI Xiao-jin, SUN Li, JIA Xiao-guang, Ayiguli

(Xinjiang Institute of Chinese Traditional Medicine, Urumqi, Xinjiang 830002)

Abstract: Taking the shoot tip, radical, cotyledons, stem with bud of *Lepidium meyenii* as explants, with MS as basic medium, the effect of different concentrations of hormone combinations on callus induction, proliferation, and seedling root were studied, in order to select an optimum hormone combination and concentration ratio. The results showed that the combination of NAA, 2,4-D and 6-BA were helpful to induce the callus and stem with buds regeneration of *Lepidium meyenii*. Just adding NAA or IBA was contribute to the induction of renewable rooting. The best formula for callus induction, bud clusters and rooting were MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, MS+NAA 0.25 mg/L+6-BA 2.0 mg/L, MS+NAA 0.5 mg/L.

Key words: *Lepidium meyenii*; tissue culture; *in vitro* rapid propagation technique

3 讨论

植物的根、幼嫩叶片、胚轴等一般都可作为组织培养的材料,但不同植物其各个组织(器官)诱导率差异较大。在玛咖愈伤组织诱导中,程华等^[5]以玛咖子叶为外植体,成功诱导出愈伤组织;而该试验发现,幼根较易诱导脱分化形成愈伤组织,胚轴和子叶诱导较为困难,这是否与外植体苗龄的选择有关,有待于进一步的研究。

带芽茎段作为培养材料具有变异率低、遗传稳定等特点,目前已广泛运用于优质花卉繁育、育种材料种质保存、濒危物种保护等研究领域^[6-7]。该试验以玛咖无菌苗带芽茎段为培养材料,结果发现玛咖带芽茎段易诱导,单株增殖倍数最高可达10倍以上,且幼苗生长旺盛,能够保持原来株系性状,因此,玛咖无菌苗带芽茎段可作为建立其快繁体系研究的理想材料。

玛咖芽簇继代增殖培养过程中,易出现白化苗现象,试验中采取降低激素浓度和温度等方法,效果不显著,课题组考虑可能与玛咖生长的环境(高海拔,强紫外线)有关,具体产生原因及改善措施有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 余龙江,金文闻,吴元喜,等. 玛咖的植物学及其药理作用研究概况[J]. 天然产物研究与开发,2002,14(5):71-74.
- [2] 余龙江,孙友平,程华,等. 玛咖引种气候适宜区域的选择[J]. 生命科学研究,2004,8(3):250-255.
- [3] 冯颖,何钊,徐珑峰,等. 云南栽培玛咖的营养成分分析与评价[J]. 林业科学研究,2009,22(5):696-700.
- [4] 邵敏,和献勤,和丽芬,等. 不同肥料对玛咖生长及产量的影响研究[J]. 云南农业科技,2009(4):20-21.
- [5] 程华,余龙江,孙友平,等. 玛咖的愈伤组织诱导及植株再生[J]. 植物生理学通讯,2004,40(6):709.
- [6] 刘忠荣,陈屏昭. 植物组织培养技术在观赏植物中的应用[J]. 昭通师范高等专科学校学报,2003,25(5):41-43.
- [7] 刘良宏,李斌,胡广益,等. 植物组织培养产业化生产技术要点[J]. 中国园艺文摘,2009(4):138-140.