

山葵试管繁殖技术

王 俐 龙春林

摘 要 将山葵带腋芽的叶柄基部接种于不同激素浓度的 MS 培养基上,在不同温度、不同 pH 值下培养。结果表明:MS + 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ + NAA 0.03 mg·L⁻¹对芽的分化、增殖效果最好;最佳的生根培养基为 1/2 MS + NAA 1.0 mg·L⁻¹ + IBA 0.05 mg·L⁻¹ + AC 0.3 % ,最适的培养温度为 16 ℃ ,最佳的 pH 值为 6。

关键词 山葵 试管繁殖

山葵 (*Eutrema wasabia* Maxim.) 也称山嵛菜,是十字花科山嵛菜属多年生草本半阴性植物,原产中国和日本^[1]。主要用其新鲜根茎和叶柄磨碎作香料,具有强烈的辛辣味和特殊的芳香,兼具杀菌和助消化的功能。在日本及东南亚地区,主要作为鲜食生鱼片等海鲜的高级调味品。近年来我国也开始引种栽培,且需求量日益增加。山葵主要以分株和播种繁殖为主,但繁殖速度慢,且有性繁殖易产生退化,离体培养可以弥补这些不足。然而山葵的离体培养在国内少有报道,王广东等利用带侧芽的山葵根状茎作为外植体进行离体培养,繁殖系数在 4.0 ~ 5.0^[2]。为了寻求一种耗材少、繁殖速度高的离体培养方法,笔者从 1999 年开始利用山葵的叶柄作为外植体并调节培养条件,成功育出了新生植株,把繁殖系数提高到 7.0 ~ 8.0,使该项技术距实用化又前进了一步。

1 材料与方 法

1.1 材 料

岛根 3 号山葵叶柄。

1.2 方 法

将叶柄从山葵植株上分离下来,在 70 % 的酒精中浸泡 30 ~ 60 s (秒),再放入 0.5 % 的升汞溶液中消毒 6 ~ 8 min (分),最后用无菌水冲洗 4 ~ 5 次。将消毒好的带腋芽的山葵叶柄基部接种于附加 6-BA 和 NAA 的 MS 培养基 (表 1) 上进行芽的诱导和分化

(每瓶 2 块外植体)。培养基附加蔗糖 3.0 %、琼脂 0.5 % ,pH 5.8,培养温度为恒温 20 ℃ ,每天光照 11 h (小时),光照强度 1 500 lx。然后将诱导分化的芽体进行继代培养,在蔗糖、琼脂浓度不变的情况下进行以下处理。

1.2.1 培养基 pH 值处理 用于继代的单个芽体去掉 1/3 顶端并纵切,转入不同 pH 值的培养基中培养 (每瓶 1 个芽体),并选用在诱导分化中最佳的激素组合。pH 值梯度为 4、5、6、7、8,观察 pH 值对芽的分化和生长的影响。

1.2.2 温度处理 芽体处理及培养基的激素组合同 1.2.1 ,pH 值选用在 1.2.1 中最佳的值。温度梯度为 12、16、20、24 ℃ ,观察温度对芽的分化和生长的影响。

2 结果与分析

2.1 芽的诱导及分化

在 3 种激素组合的培养基上进行芽的诱导分化。观察得知,叶柄在 MS + 6-BA 2 mg·L⁻¹ + NAA 0.03 mg·L⁻¹ 培养基中经 5 d (天) 左右,叶柄基部的腋芽开始萌发,且基部变大;在 MS + 6-BA 1.0 mg·L⁻¹ + NAA 0.03 mg·L⁻¹ 培养基中,叶柄基部的腋芽萌发需 10 d (天) 左右;MS + 6-BA 0.5 mg·L⁻¹ + NAA

表 1 芽在不同培养基中的诱导分化效果

激素组合 mg·L ⁻¹	接种 瓶数	分化 瓶数	分化率 %	总芽数 个	每瓶 芽数 个	平均 芽高 cm
MS + 6-BA 2.0 + NAA 0.03	12	12	100	120	10	3.5
MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.03	12	10	83	84	7	2.8
MS + 6-BA 0.5 + NAA 0.03	12	9	75	60	5	1.5

王 俐 女,讲师,云南农业大学园林园艺学院,昆明 650201,电话: 0871-5227552

龙春林,中国科学院昆明植物研究所

收稿日期 2001-07-13,修回日期 2001-08-20

0.03 mg·L⁻¹培养基中,腋芽萌发更晚。

从接种后第 30 天的观察结果看(表 1):6-BA 2 mg·L⁻¹ + NAA 0.03 mg·L⁻¹ 组合诱导不定芽效果最好,每个外植体形成不定芽平均为 10 个,平均芽高 3.5 cm,且生长旺盛,随着 6-BA 和 NAA 的比值减小,不定芽的形成量减少。

2.2 培养基 pH 对芽的继代增殖影响

在不同 pH 的培养基上培养芽体 20 d(天)后观察结果(表 2):pH5~6 时较适于芽的分化及生长,且 pH=6 时芽的分化及生长最好。

表 2 pH 对山葵继代增殖的影响

pH	继代瓶数	平均芽数/个	平均芽长/cm
4	20	4.0	4.2
5	20	5.0	5.5
6	20	7.0	6.0
7	20	4.5	4.5
8	20	3.5	4.0

2.3 温度对芽的继代增殖影响

分别在不同的温度下培养芽体 20 d(天)后观察结果(表 3):温度在 16℃ 时最适于山葵芽的分化及生长,温度超过 20℃ 其营养生长受抑制。

表 3 温度对山葵继代增殖的影响

温度/℃	继代瓶数	平均芽数/个	平均芽长/cm
12	20	7.4	6.5
16	20	8.0	7.0
20	20	7.0	6.0
24	20	5.5	5.0

2.4 根的诱导

继代培育出的无根幼苗,苗高 5.0 cm 左右,将其转接于 3 种激素组合的培养基上进行诱导生根。转接后第 15 天的统计结果(表 4):在 3 种培养基中植株均能生根,单独采用 NAA 比单独使用 IBA 效果好,NAA 与 IBA 配合使用效果最佳。1/2 MS + NAA 0.1 mg·L⁻¹ + IBA 0.05 mg·L⁻¹ + AC 0.3% 培养基根诱导率达 97%,且根系生活力强,易栽培。

Tissue Culture and *In Vitro* Propagation of *Eutrema wasabia*

Wang Li¹, Long Chunlin² (College of Horticulture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201; ²Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences)

Abstract The leafstalks with buds from *Eutrema wasabia* were cultured in MS medium supplemented with different combinations and under different temperatures and pH values. The results show: 1. The optimal culture media are MS + 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ + NAA 0.03 mg·L⁻¹ for induction and differentiation of adventitious buds, and 1/2 MS + NAA 0.1 mg·L⁻¹ + IBA 0.05 mg·L⁻¹ + AC 0.3% for successful propagation and differentiation of roots. 2. The suitable temperature is 16℃ and the optimum pH value is 6 for *Eutrema wasabia* growth.

Key words *Eutrema wasabia*, Tissue culture, *In vitro* propagation

表 4 根的诱导结果

激素组合 mg·L ⁻¹	芽生长 情况	不定根的 诱导率	根生长情况
		%	
1/2 MS + IBA 0.1 + AC 0.3 %	生长正常	70	生活力弱,根粗
1/2 MS + NAA 0.1 + AC 0.3 %	生长正常	85	生活力强,有细根
1/2 MS + NAA 0.1 + IBA 0.05 + AC 0.3 %	生长正常	97	生活力强,有侧根

2.5 炼苗与移栽

将已生根的再生植株,先打开瓶盖炼苗 7 d(天)左右,洗去培养基,移栽于经过消毒的砂质土壤中,保持温度在 25℃ 以下,湿度在 85% 以上,并加盖遮阴网,成活率可达 94%。

3 讨论

3.1 细胞分裂素与培养过程中多酚类物质的污染

山葵植株中含有的多酚氧化酶,在培养过程中,培养基的细胞分裂素物质(如 KT, 6-BA)有增进多酚氧化酶活性的作用,从而在培养基内产生并积累了酚、醌类深褐色色素物质。这类物质常产生毒害,抑制组织生长,严重时组织完全褐化而死亡。褐化的程度随细胞分裂素浓度的提高而加深。在本试验中,笔者在培养基中加入 PVP + VC 抗氧化剂来克服或减轻褐化现象。

3.2 培养条件的确定

山葵适宜的气候条件是平均温度低于 15℃,夏季平均气温不高于 25℃,营养生长的适温为 13~16℃,在 pH 为 5~6 的砂质土壤中生长良好。所以在本试验中,根据其生长习性,来调节其培养条件,从而得出了最佳的培养温度 16℃ 和 pH 值 6。并且将繁殖系数提高到 7.0~8.0(表 2、表 3),这对山葵的种苗生产具有一定指导作用。

参考文献

- 1 吴征缜(主编).云南植物志(第 6 卷).北京:科学出版社,1995
- 2 王广东,李式军.山葵的离体培养和植株再生.植物生理学通讯,34(4):267