

甜魔芋芽鞘分化及植株再生条件的研究

吴金平^{1,2} 宋志红¹ 刁英² 向发云¹ 曾祥国¹ 顾玉成^{1*} 胡中立²

(1 湖北省农业科学院经济作物研究所, 湖北武汉 430064; 2 武汉大学生命科学学院, 湖北武汉 430072)

摘要:以甜魔芋芽鞘为外植体, 进行愈伤组织诱导、芽分化及植株再生的研究。结果表明: 芽鞘在培养基 MS + 6-BA 0.6 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 蔗糖 30g/L 上愈伤组织诱导率最高, 达 92.3%; 芽分化最适培养基是 MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L + 蔗糖 30g/L, 分化率达 93.8%; 切割后的芽在生根培养基 1/2MS + NAA 0.1mg/L + 蔗糖 30g/L 上, 能 100% 形成完整植株。

关键词:甜魔芋; 组织培养; 再生植株

中图分类号 S632.3 文献标识码 A 文章编号 1007-7731(2007)22-36-02

Study on Bud of Differentiation and Plant Regeneration from *Amorphophallus Dunnii*

Wu Jinping^{1,2} Song Zhihong¹ Diao Ying² Xiang Fayun¹ Zeng Xiangguo¹ Gu Yucheng^{1*} Hu Zhongli² (1 Industrial Crops Institute of Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China; 2 Wuhan University of College of Life Sciences, Wuhan 430072, China)

Abstract: The bud of *Amorphophallus dunnii* was used as explants for callus induction, bud differentiation and plant regeneration. It showed that the maximal frequency was 92.3% when cultured on MS + 6-BA 0.6mg/L + NAA 0.1 mg/L + sugar 30g/L. The callus was differentiated to bud on MS + 6-BA 1.5mg/L + NAA 0.5mg/L + sugar 30g/L with differential rate being 93.8%. All adventitious buds rooted and formed whole plants in the rooting medium 1/2MS + NAA 0.1mg/L + sugar 30g/L.

Key words: *amorphophallus dunnii*; tissue culture; regeneration plant

碳水化合物是魔芋球茎的主要成分, 约占干物质的 70% 以上, 其中葡甘聚糖和(或)淀粉又占绝大部分。葡甘聚糖和淀粉在生物合成时均以葡萄糖为“基础原料”, 向不同的途径合成, 因此二者在魔芋块茎中的含量表现相反关系。我国迄今已发现并命名的魔芋有 26 种, 其中食用和栽培的有花魔芋、白魔芋、田阳魔芋、西盟魔芋、甜魔芋和金平黄魔芋, 而甜魔芋是淀粉含量比较高的一种, 其淀粉含量高达 50% 以上。魔芋淀粉是高效粘合剂, 又是选矿、制油、印染、化工所用的澄清剂和农药乳化剂, 还能作为提取淀粉的原料。但关于甜魔芋的组培技术只有苏承刚以球茎为外植体的报道^[1]。本研究在现有课题组魔芋快繁体系工作的基础上, 以甜魔芋的芽鞘为外植体, 建立其快繁体系, 以期扩大数量, 加快对它的开发利用。

1 材料与方法

1.1 材料 甜魔芋球茎由武汉大学生命科学学院发育生物学教育部重点实验室提供。选取球茎上生长健壮的芽鞘为外植体。

1.2 方法

1.2.1 培养基和培养方法 愈伤组织诱导培养基: 为 MS 基本培养基附加 6-BA、NAA 及 KT, 以不同的激素浓度组合共设计采用了 5 种愈伤组织诱导培养基(表 1)。按每 L 加蔗糖 30g、琼脂 6.5 g, 并调节 pH5.8-6.0, 培养温度

25℃-28℃(下同)。自然散射光条件下进行愈伤组织诱导。芽分化培养基: 为 MS 基本培养基附加 6-BA、NAA, 以不同的激素浓度组合共设计采用了 4 种芽分化培养基(表 2)。每日光照 12 h, 光照强度为 30μmol·m⁻²·s⁻¹左右。生根培养基为 1/2 MS + NAA 0.1mg/L, 每日光照 12 h, 光照强度为 30μmol·m⁻²·s⁻¹左右。

1.2.2 外植体处理方法及愈伤组织诱导和分化培养 参照顾玉成等魔芋外植体消毒方法^[2]。将消毒好的材料切成长宽 0.5 cm 左右小块, 接种于愈伤组织诱导培养基上, 筛选出形成愈伤组织的最佳激素种类和浓度配比。将愈伤组织切割直径约 0.5cm 小块, 转入芽分化培养基中进行芽的分化培养, 再将形成的大芽带少量愈伤切割后转入生根培养基中, 促使生根。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织诱导 芽鞘培养 7d 左右, 外植体开始上翘或拱起, 明显长的厚硬, 切口端开始膨大且形成一层很薄的愈伤组织, 并不断增殖; 约 1 个月后形成愈伤组织。从表 1 可以看出, 不同激素种类和浓度组合的培养基对甜魔芋愈伤组织的诱导率是不一样的。6-BA 和 NAA 的组合对愈伤组织诱导发挥主要作用, 而 KT 不明显。根据愈伤组织的诱导率、颜色、质地和生长速度的分析比较, 筛选出适宜于甜魔芋芽鞘愈伤组织诱导的培养基为 MS + 6-

基金项目: 湖北省“十一五”重大科技攻关项目(2006AA205A04)。

作者简介: 吴金平(1978-), 女, 安徽合肥人, 在职博士研究生。* 通讯作者

收稿日期: 2007-11-10

BA 0.6mg/L + NAA 0.1 mg/L 的培养基,愈伤组织的诱导率达 92.3%,愈伤组织颜色淡绿,质地坚硬,生长速度快。

表 1 激素对外植体愈伤组织形成的影响

植物激素(mg·L ⁻¹)			愈伤组织诱导率(%)	颜色	质地	生长速度
6-BA	NAA	KT				
0.4	0.1	0	75.2	淡黄	坚硬	慢
0.4	0.1	0.2	86.8	淡绿	坚硬	一般
0.6	0.1	0	92.3	淡绿	坚硬	快
0.6	0.1	0.2	83.2	淡黄	外硬内软	快
0.8	0.1	0	78.9	灰白	疏松	很快

2.2 芽分化培养 将诱导形成的愈伤组织切割成 0.5cm 左右大小转入芽分化培养基中。观察不定芽形成过程,由于魔芋外植体诱导形成的是器官发生的愈伤组织,经过约 28d 的分化培养,愈伤组织膨大,同时均能分化出淡绿色的不定芽。但不同激素配比的培养基中能够分化形成芽点的愈伤组织分化率并不一致(表 2)。其中转接在含 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L 的培养基上愈伤组织分化率达 93.8%,且每块愈伤组织表面的芽点数目较多,平均达 6.89 个(如图 1)。

表 2 激素对芽分化的影响

植物激素(mg·L ⁻¹)		愈伤组织膨大倍数	平均芽点数目(个)	不定芽诱导率(%)
6-BA	NAA			
1.0	0.2	3-4	4.28	72.3
1.5	0.4	3-4	5.21	81.5
1.5	0.5	4-5	6.89	93.8
2.0	0.5	4-5	5.37	83.4

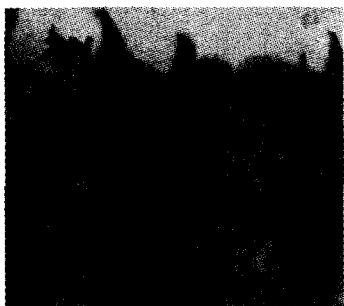


图 1 甜魔芋不定芽

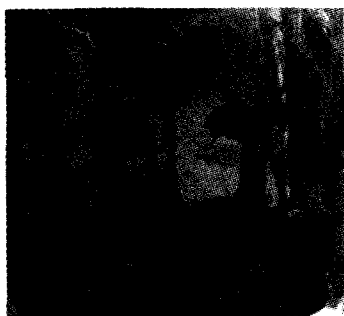


图 2 甜魔芋再生植株

2.3 壮苗及生根培养 由于魔芋芽是叶芽,且仅一片复叶,茎的生长点在叶柄基部内。因此,再生植株在长到出叶期时带少量愈伤组织切下来,转入 1/2MS + NAA 0.1mg/L + 蔗糖 30g/L 培养基中,7d 后可见不定根突起,大概 14d 后在叶柄基部的茎上有大量根发生,30 d 后长出

4-6 条白色带有根毛的不定根,形成完整根系,生根率达 100%(如图 2)。

2.4 试管苗的移栽 再生植株长出良好根系就可以移栽。移栽前将在培养室培养的再生植株移至室内自然条件 2d,然后打开瓶塞再炼苗 2d;清水洗净附着在根系上的培养基后,移栽到装有蛭石和珍珠岩(1:1)的育苗箱内,覆盖塑料薄膜,7d 后揭膜。在整个育苗期注意遮荫、保湿,成活率可达 95% 以上。

3 讨论

因甜魔芋是魔芋属中的一个种,所以在组织培养中,和白魔芋、花魔芋等的组织培养有着相同之处。其一是无菌材料的获得,前人针对这个问题展开了大量的研究^[3,4],取得了一定的效果,但操作程序复杂。甜魔芋所含的淀粉是生物大分子,与葡甘聚糖一样遇水膨胀,包裹病菌,使其难以彻底消毒,因此本研究在消毒前也晾晒外植体,使其失去部分水分,从而有利于酒精和升汞的渗透,达到彻底消毒的效果。其二是激素在愈伤组织的诱导、芽分化、增殖、生根中所起的作用。通过试验发现,KT 对愈伤组织的诱导效果不明显,这与前人研究的结果一致^[5-8]。培养基 MS + 6-BA 0.6 mg/L + NAA 0.01 mg/L 对甜魔芋的愈伤组织诱导较好,MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L 的培养基适合芽的分化培养,1/2MS + NAA 0.1 mg/L 既适合其它魔芋生根,也适合甜魔芋生根,生根率达 100%。

以球茎为外植体^[1]和本研究以芽鞘为外植体进行甜魔芋再生植株研究相比较,球茎为外植体诱导的愈伤组织在适宜芽分化培养基上只能分化出 1-2 个不定芽,分化率达 90% 以上;而本研究形成的不定芽数目平均达 6.89,分化率达 93.8%。因此用芽鞘诱导比用球茎诱导分化容易,且形成的芽点数多些。该研究为甜魔芋的组织培养提供了基础数据,从而能有效地增加和保护该魔芋资源,对魔芋产业的发展具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] 苏承刚, 张兴国. 甜魔芋愈伤组织诱导与植株再生研究[J]. 西南农业大学学报, 2004, 26(5): 601-602
- [2] 顾玉成, 吴金平, 万进, 等. 魔芋不同外植体诱导比较实验[J]. 中南民族大学学报, 2004, 23(3): 17-19
- [3] 彭昌操. 花魔芋愈伤组织诱导研究[J]. 湖北民族学院学报, 2000, 18(3): 1-3
- [4] 陈永波, 赵清华. 魔芋试管苗批量生产过程中外植体消毒灭菌技术研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2005, 27(3): 27-29
- [5] 柳俊, 谢从华, 余展深, 等. 魔芋离体繁殖研究[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(3): 283-285
- [6] 马林, 张玲, 李卫锋. 影响魔芋愈伤组织形成的几个因素[J]. 广西植物, 2003, 23
- [7] 李浚明. 植物组织培养教程(第4版)[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000, 36-42
- [8] 苏承刚, 张兴国, 张盛林. 桂平魔芋组织培养研究[J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(3): 228-229

(责编:曹阿翔)