

白魔芋快繁体系研究

王丽¹, 魏琴², 周黎军^{2,3}, 傅体华¹

(¹ 四川农业大学, 雅安 625014; ² 宜宾学院, 宜宾 644000; ³ 宜宾职业技术学院, 宜宾 644000)

摘要:以优良白魔芋新品种——大青秆不同组织为外植体, 进行愈伤组织的诱导和植株再生, 试验结果表明: 以叶柄为外植体, 污染率低, 愈伤诱导率达 85.71%, 继代培养中以 MS+BA2mg/L+NAA 0.01 mg/L 作为芽分化增殖的最佳培养基, 将芽转接到 MS+NAA0.5mg/L 生根培养基上诱导生根, 生根率达 100%。

关键词:白魔芋; 植株再生; 污染率; 诱导率

中图分类号:S632.303.6 **文献标识码:**A

Research on Rapid Propagation System of *Amorphophallus albus*

Wang Li¹, Wei Qin², Zhou Lijun^{2,3}, Fu Tihua¹

(¹Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014; ²Yibin University, Yibin 644000;

³Yibin Vocational and Technical College, Yibin 644000)

Abstract: The calli were induced and plantlets were regenerated in vitro from different tissues of *Amorphophallus albus*. The results showed that the petiole had low contamination and the guidance rate amounted to 85.71%, MS+BA2mg/L+NAA0.01mg/L was the best medium for bud breeding in subculture, the adventitious shoots developed extensive rooting system when they were transferred into MS+NAA0.5mg/L, the rooting rate was amounted to 100%.

Key words: *Amorphophallus albus*, Plantlet regenerated, Pollution rate, Guidance rate

白魔芋(*Amorphophallus albus*)是天南星科魔芋属的多年生草本植物, 因块茎内含有大量葡甘露聚糖, 在食品、医药、化工中具有广泛应用, 具有较高开发利用价值^[1,2]。

四川省宜宾市屏山县属金沙江河谷干热性气候, 无霜期长, 日照强, 气温适宜, 降雨量充沛, 土壤以成土母质形成的紫色土为主, 含钾、含钙量较高, 这一特殊的肾形干热气候带, 孕育出这一地区白魔芋特有品种资源(大青秆、青麻秆、红麻秆), 其中以大青秆抗性好、产量高、品质优(精粉含葡甘露聚糖 78.5%), 是目前生产上推广的主要品种。但长期以来, 当地白魔芋耕作、栽培方式粗放, 种植水平低, 导致优良魔芋品种——大青秆品种退化严重, 白魔芋种植资源匮乏。采取组织培养技术进行品种复壮、种苗脱毒、种源扩

繁等魔芋生产中急待解决的困难, 扩繁种源不仅不受自然季节的限制, 而且可以解决因种源需求远距离调种造成的种芋腐烂及带病问题, 缓解种苗的紧张局面, 对提高种苗质量, 保持优良品种资源都具有重要意义。

1. 试验材料和方法

1.1 试验材料

2005 年 10 月于屏山县大青秆选取表面较为光滑、无伤口的种芋, 重 60g 左右, 块径 3cm 左右。试验于 2005 年 10 月开始, 在四川宜宾职业技术学院生物工程技术中心进行。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体处理方式

(1)块茎处理: 轻轻刮去表皮泥土, 放在干净的三

基金项目:四川省宜宾市科技局重点项目“魔芋工厂化育苗及其产业化研究”(200401004), 魔芋高产栽培技术体系研究(200601023)。

第一作者简介:王丽, 女, 1981 年出生, 四川农业大学在读硕士研究生。研究方向: 植物细胞工程。通信地址: 625014 雅安 四川农业大学。

通讯作者:傅体华, 男, 1964 年出生, 四川安岳县人, 四川农业大学教授, 博士生导师。研究方向: 细胞遗传学。通信地址: 625014 雅安四川农业大学。周黎军, 男, 1965 年出生, 重庆开县人, 宜宾职业技术学院(宜宾学院兼职)教授, 研究方向: 作物育种学。通信地址: 644003 宜宾 宜宾职业技术学院。E-mail: zljyby@163.com。

收稿日期:2007-01-24, **修回日期:**2007-03-26。

角瓶里,在瓶口蒙上一层纱布,然后放在水龙头下流水冲洗 60min,在 5℃冰箱中放置过夜。切成 2cm×1cm×1cm 的大方块在超净工作台上按表 1 所示消毒方式处理后,在垫有无菌滤纸的培养皿和 2%柠檬酸、

2%VC 溶液的培养皿中下切割成 0.5cm×0.5cm×0.2cm 大小的组织块接种在 MS+BA 0.5mg/L+NAA 0.5mg/L 的培养基上,比较消毒效果。

(2)叶片、叶柄处理:由魔芋根状茎萌发的叶柄

表 1 白魔芋块茎的不同消毒方式

序号	不同消毒方式
1	酒精 15s, 无菌水洗 2 次, 0.1%HgCl ₂ 12 min, 无菌水洗 4 次(每次 5min, 下同)
2	酒精 30s, 无菌水洗 2 次, 0.1%HgCl ₂ 12min, 无菌水洗 4 次
3	酒精 15s, 无菌水洗 2 次, 10%NaClO12min, 无菌水洗 4 次
4	酒精 15s, 无菌水洗 2 次, 10%NaClO6min, 无菌水洗 1 次, 0.1%HgCl ₂ 6min, 无菌水洗 4 次

(10cm 长),经自来水冲洗后,在超净工作台上经 75%乙醇处理 15s,0.1%HgCl₂ 处理 10min,将叶片在培养皿中切成 1cm² 大小,叶柄切成 1cm 长,接种于表 2 所示培养基中。

1.2.2 培养条件

愈伤培养:愈伤诱导在黑暗条件下,观察愈伤组织形成情况。

继代培养:由愈伤组织分化出的芽分别接种于 6-BA 和 NAA 不同配比培养基上,在 25±1℃条件下,黑暗培养 2 周后,转入光强 1500Lx 培养 25d,每天照明时间为 14h,计量芽分化系数。

生根培养:通过继代增殖产生的魔芋丛生苗接入 MS+NAA0.5mg/L 培养基中光照条件下诱导生根。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对魔芋污染率和愈伤诱导率影响

获得无菌苗是组织培养的第一步,因此选择适当的消毒方法是降低污染率的同时保证较高的诱导率的关键。对块茎采取(表 1)四种消毒方式,发现约 45d 后块茎开始膨大,从中间冒出白色突起或从旁边裂开,形成白色致密的愈伤组织,不膨大的材料随着培养时间的延长而不断褐变死亡。由图 1 知酒精浓度过高对外植体有一定抑制作用,HgCl₂ 的作用效果比 NaClO 好,块茎的处理以酒精 15s,0.1%HgCl₂12min 效果最好,而在 2%柠檬酸及 2%VC 溶液的培养皿中下切割的块茎全部褐化死亡,可能是葡甘露聚糖遇水膨胀,携带了更多菌体所致。

2.2 不同外植体愈伤诱导率

由于魔芋块茎愈伤组织诱导率低,而顶芽或皮上芽孢来源有限,因此通过比较叶片、叶柄、块茎诱导试验找出诱导率最高的接种材料。30d 后统计愈伤诱导率,不同类型外植体愈伤形成不同,叶片扩大呈波浪状,最后颜色由绿转黄,但无愈伤组织形成;叶柄末端会膨大产生绿豆大小瘤状物,并不断增殖,形成的愈伤组织结构致密;块茎皮层和皮下组织顶部形成突起

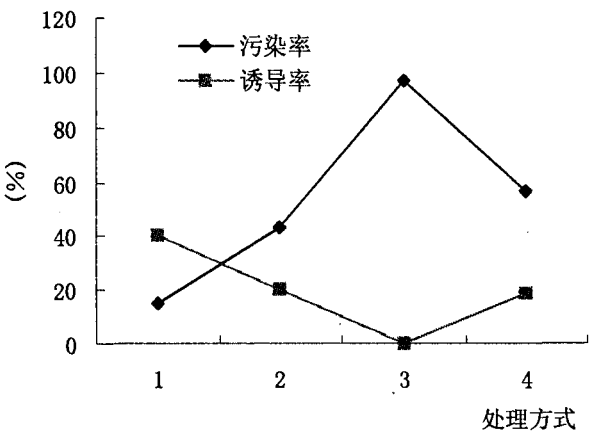


图 1 不同消毒方法对魔芋污染率和愈伤诱导率影响

表 2 不同外植体愈伤组织诱导率

培养基成分(mg/L)		叶片		叶柄		块茎皮层		块茎皮下组织	
BA	NAA	接种数	诱导率%	接种数	诱导率%	接种数	诱导率%	接种数	诱导率%
1	1	30	—	28	14.29	28	17.86	30	15.38
1.5	1.5	24	—	24	16.67	24	41.67	28	35.71
1	0.1	25	—	27	66.67	24	25	28	14.29
2	0.2	30	—	21	85.71	20	20	22	13.64
2	0.5	28	—	18	17.78	14	21.43	31	16.13

或从旁边开裂,以后体积增大形成的瘤状愈伤组织覆盖整个切块。不同类型外植体愈伤诱导率不同,如表 2 所示,叶柄平放置于在 MS+BA2mg/L+NAA0.2mg/L

培养基表面中诱导率最高,达 85.71%,块茎皮层的诱导效果高于块茎内层,还可以发现BA/NAA 高时利于叶柄的诱导,在 MS+BA1.5mg/L+NAA1.5mg/L 培养

农业生物技术科学

基即 BA/NAA 为 1 时,对块茎诱导效果较好,与黄远新(2003)^[1]找出的块茎最佳诱导培养基相同。

2.3 激素种类及对比对芽增殖系数影响

激素种类及配比不同对芽分化影响较大,研究发现 BA 与 NAA 配比下对芽的分化达到极显著^[4],将以诱导发芽的愈伤组织在不同浓度的 BA 与 NAA 配比

下的培养基中统计芽分化系数如表 3 所示,二者浓度不同其诱导频率有差异,以 BA/NAA 为 200 时增殖系数最高,说明 BA/NAA 浓度比高有利于芽的生长,但是 BA 浓度过大对芽生长有一定抑制作用,因此选择 MS+BA2mg/L+NAA0.01mg/L 作为芽分化的最佳培养基。

表 3 BA 和 NAA 对比对芽分化系数影响

培养基成分		接种数	分化数	分化系数
BA	NAA			
1	1	22	39	1.77
2	0.2	31	56	1.81
1	0.01	30	50	1.67
1.5	0.01	31	58	1.87
2	0.01	84	175	2.1
4	0.01	33	88	1.67

2.4 诱导生根

魔芋组培采用较多的途径是用外植体诱导愈伤组织,愈伤组织分化成不定芽,最后生根成苗,将丛生芽转接到 MS+NAA0.5mg/L 生根培养基上,生根率达 100%。基部一般长出 2~8 条根,芽从鳞片内伸出并展开叶,形成完整的植株,与谢庆华(2004)^[5]研究相一致。

3 讨论

魔芋组织培养中对外植体消毒方式很多,主要是对主芽和皮上芽孢等都找到了较好的消毒方法^[6],而块茎愈伤诱导率较低,主要是因为块茎体眠过长,一旦破坏组织,细胞内过氧化氢酶和多酚氧化酶活性增加,组织易出现褐化。尽管选取的球茎以表面较为光滑、无伤口、健康的球茎材料,但是从外皮到内部组织带病菌较多,通过不同的消毒方式目的在于找出魔芋块茎生长的最适处理方法,对块茎的处理以酒精 15s, 0.1%HgCl₂ 12min, 效果最好,同时也比较了在无菌滤纸上切割和 2%柠檬酸及 2%VC 溶液中切割效果,发现柠檬酸和 VC 对抑制褐化作用不大,甚至污染率更大,与刘贵周^[7]研究不一致,其原因可能是因为大青秆块茎内葡甘露聚糖含量高,葡甘露聚糖遇水膨胀,携带了更多菌体所致。

对于长期暴露于大田中的各种各样的污染源,致使所取材料严重被污染,用其做试验材料,外植体的灭菌的时间相对较长、难度相对较大,结果污染率较高,而通过在室内栽培由根状茎萌发的子叶是受污染较轻的试验材料。叶柄具愈伤组织诱导频率高,试验

重复性好,易消毒等优点,是魔芋起始培养较理想的材料,建议以魔芋原原种萌发的叶柄为最佳接种材料取材易、诱导率高,而且不影响下面微型芋的生长。激素浓度对比对魔芋继代增殖系数增大有明显的的作用^[8],BA 和 NAA 对魔芋组织培养继代增殖系数的影响,以 MS+BA2mg/L+NAA0.01mg/L 最佳,既可以使愈伤组织旺盛生长,又可以一次分化出较多的芽,便于扩繁和分次出苗的批量化生产。

参考文献

- [1] 张盛林,刘佩英,张兴国,等.中国魔芋资源和开发利用方案[J].西南农业大学学报,1999,21(3):215-219.
- [2] 唐寿贤,邓万华.魔芋的药用价值[J].中国野生植物资源,2000,17(2):26-27.
- [3] 黄远新.魔芋组织培养与快繁技术研究[J].西南农业大学学报,2003,8(4):309-311.
- [4] 陈永波,钟刚琼.外源激素对魔芋多叶、多球茎形成的影响[J].氨基酸和生物资源,2005,27(1):35-36.
- [5] 谢庆华,张云峰.花魔芋不同外植体分化及生根条件研究[J].云南农业大学学报,2005,6(3):352-355.
- [6] 谢庆华.白魔芋外植体组培分化条件的研究[J].云南师范大学学报,2001,5(3):65-68.
- [7] 刘贵周,赵庆云.优质魔芋组培快繁技术研究[J].云南农业大学学报,2005,12(6):795-799.
- [8] 严华兵,胡建斌.百魔芋高效再生体系的建立及其抗生素敏感性研究[J].湖北农业科学.2005,4(3):71-74.

(责任编辑:秦守亮)