

紫色茎秆海芋组织培养不同培养基的 诱导增殖生根效果研究*

王玉英¹, 许邦丽¹, 褚素贞¹, 祁永琼¹, 李长科¹, 施碧强¹, 林德明²

(1. 云南农业职业技术学院, 云南 昆明 650031; 2. 云南农业大学花卉研究所, 云南 昆明 650201)

摘要: 以紫色茎秆海芋的顶芽和侧芽作外植体开展了相关的组织培养试验, 探索了不同培养基组合对紫色茎秆海芋的诱导培养、丛芽增殖、幼苗生根的影响。试验结果表明: MS + BA6.0 mg/L + NAA0.1 mg/L 培养基对紫色茎秆海芋顶芽、侧芽组培的诱导效果较好; MS + BA5.0 mg/L + NAA0.1 mg/L 培养基对其丛芽增殖效果最佳, 增殖系数达4倍多; 而1/2MS + NAA0.5 mg/L 培养基有利于其壮苗、生根, 且植株长势健壮。

关键词: 紫秆海芋; 组织培养; 培养基; 诱导增殖生根效果

中图分类号: S 665.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-8246 (2008) 04-0089-04

Effects of Induction, Propagation and Rooting of Different Media in Tissue Culture of *Alocasia macrorrhiza*

WANG Yu-ying¹, XU Bang-li¹, CHU SU-zhen¹, QI Yong-qiong¹, LI Chang-ke¹, SHI Bi-qiang¹, LIN De-ming²

(1. Yunnan Agricultural Vocational and Technical College, Kunming Yunnan 650031, P. R. China;

2. Research Institute of Ornamental Plants, Yunnan Agricultural University, Kunming Yunnan 650201, P. R. China)

Abstract: Taking the terminal buds and lateral buds of *Alocasia macrorrhiza* as experimental materials, experiments were conducted to study the effect of different media on bud induction, fascicular bud propagation and rooting of plantlet. The results of experiments showed that the optimum media for bud induction, fascicular bud propagation and rooting of plantlet were MS + BA6.0mg/L + NAA0.1mg/L, MS + BA5.0 mg/L + NAA0.1 mg/L and 1/2MS + NAA0.5 mg/L respectively.

Key words: *Alocasia macrorrhiza*; tissue culture; medium; effect of induction, propagation and rooting

海芋 (*Alocasia macrorrhiza*), 又称滴水观音或广东狼毒, 古称“观音莲”和“羞天草”, 为天南星科 (Araceae) 海芋属 (*Alocasia*) 多年生常绿大型草本耐阴植物。海芋的茎内多黏液, 叶多数, 草绿色, 箭状卵形, 叶柄为紫色, 佛焰苞淡绿色至乳白色, 不易结实。紫色茎秆海芋为海芋的栽培变种, 其茎秆为紫色, 有特殊的观赏性。海芋叶片姿态优美, 花形独特, 具有较高的观赏价值, 是南亚热带和热带地区的园林绿化植物。因其具耐荫特

性, 亦常作室内绿化之用。

由于海芋植株具单生性, 开花后不易结实。常采用分株、扦插进行繁殖, 但自然分株率低, 很难满足市场的需求, 因而通过组培手段快繁优质海芋已引起关注。目前, 部分海芋属的栽培品种已有了成功的组培技术, 如进口的彩色海芋、亚马孙海芋及黑鹅绒观音莲等, 而对紫色茎秆海芋组培技术的研究未见报道。本项研究以植物组织培养的技术为基础, 在紫色茎秆海芋组培的诱导、增殖和生根培

* 收稿日期: 2008-05-28

基金项目: 云南农业职业技术学院基金项目。

第一作者简介: 王玉英 (1980-), 女, 云南大理人, 助教, 硕士, 主要从事园艺植物生物技术方面的研究。

养过程中,进行了不同培养基配方的筛选,获得了较好的试验效果,为紫色茎秆海芋以及海芋属的其他品种组培的成功奠定了技术基础;也为其的工厂化育苗提供了技术依据。

1 试验材料与方法

紫秆海芋栽培品种的组培试验于2007年11月至2008年4月在云南农业职业技术学院农学院园艺系组培室内进行。

(1) 试验材料预处理 选择长势良好的紫色茎秆海芋植株,从其植株上切取刚长出真叶的顶芽和侧芽,剪去其叶片,经自来水冲洗后,放入含饱和漂白粉的水液中浸泡5 min,浸泡时不断用玻棒搅拌,流水冲洗干净,备用。

(2) 诱导培养试验 在超净工作台上,用灭过菌的虑纸吸干紫色茎秆海芋侧芽和顶芽的过多水分,放入75%的酒精中消毒30 s,无菌水冲洗2次,再用0.1%的升汞消毒7 min,无菌水冲洗3~5次,沥干,剥去芽基部的叶鞘,切除其切口基部褐化的部分后,根据芽体的大小进行切割分块,接种于以MS为基本培养基,NAA为0.1 mg/L,BA浓度分别为6.0 mg/L和BA为4.0 mg/L附加KT 2.0 mg/L的培养基上,作紫色茎秆海芋侧芽及顶芽外植体的诱导培养试验。20天后观察诱导情况。

(3) 增殖培养试验 将诱导成活的紫色茎秆海芋侧芽和顶芽接种于基本培养基为MS,NAA为0.1 mg/L,BA浓度分别为4.0 mg/L、4.5 mg/L、

5.0 mg/L、5.5 mg/L及6.0 mg/L的培养基上进行其的增殖培养试验。21天后进行记录观察。

(4) 生根培养试验 从增殖过的丛芽中,分离出高约2.0 cm的小苗,对其基部进行剪切,然后接种于1/2MS,NAA浓度分别为0 mg/L、0.3 mg/L、0.5 mg/L、0.7 mg/L、1.0 mg/L的培养基上进行其生根培养试验,15天后记录生根情况。

(5) 培养条件 在进行紫色茎秆海芋侧芽和顶芽的诱导培养、增殖培养及生根培养时,其培养基的温度为25±2℃,光照强度2 000 Lux,每天光照12 h,培养基pH值为6.0,室内相对湿度70%~80%。

2 结果与分析

2.1 添加不同激素组合培养基的诱导效果

由表1可以看出,以MS为基本培养基,NAA为0.1 mg/L,添加不同种类和浓度的细胞分裂素对紫色茎秆海芋顶芽和侧芽的诱导效果差异显著,两个配方的培养基都出现了轻微的褐化。在参试的1号和2号诱导培养基中,其所用的细胞分裂素的总浓度都为6.0 mg/L,而1号培养基仅用了BA,2号培养基则将2.0 mg/L的BA换成了KT,2号培养基紫色茎秆海芋顶芽和侧芽的诱导率与1号培养基相差9.9%,说明在紫色茎秆海芋顶芽和侧芽的组培诱导阶段,在其培养基中使用BA的诱导效果较KT好,且其培养基未出现较为严重的褐化现象。此结果为紫色茎秆海芋后期组培在培养基的细胞分裂素种类使用上奠定了基础。

表1 不同激素组合的培养基对紫色茎秆海芋顶芽和侧芽诱导的影响
Tab. 1 Effects of terminal and lateral bud induction of media with different hormones

组别	基本培养基	NAA /mg·L ⁻¹	BA /mg·L ⁻¹	KT /mg·L ⁻¹	接种 数/个	诱导成 活数/个	诱导成活 率/%	褐化 状况
1	MS	0.1	6	0	18	13	71.4	稍有褐化
2	MS	0.1	4	2	18	11	61.5	稍有褐化

2.2 添加不同浓度BA培养基的增殖效果

表2的试验结果表明:在紫色茎秆海芋组培的增殖期间,在MS基本培养基中,NAA浓度为0.1 mg/L时,添加不同浓度BA的紫色茎秆海芋丛芽增殖效果差异较为明显,5种配方(组别)的培养基均未出现褐化现象,3号配方即加入浓度为5.0 mg/LBA时,增殖率达到了404.1%。当培养基中4.0 mg/L<BA浓度<5.0 mg/L时,其丛芽的增殖

率呈现上升趋势;而当培养基中5.0 mg/L<BA浓度<6.0 mg/L时,其丛芽增殖率呈现递减趋势,说明5.0 mg/L是紫色茎秆海芋丛芽增殖期所用培养基添加BA的最佳浓度,BA浓度过低,其丛芽增殖效果不理想,BA浓度超过5.0 mg/L,会抑制其丛芽的增殖。此结果与相关研究报道的高浓度的细胞分裂素会抑制植物分生细胞产生的结果相一致。

表 2 添加不同浓度 BA 培养基对紫色茎秆海芋丛芽增殖的影响
Tab. 2 Effects of BA of different concentrations on fascicular bud propagation

组别	基本培养基	NAA /mg · L ⁻¹	BA /mg · L ⁻¹	接种数 /个	增殖率 /%	平均芽长/cm	培养基褐化状况
1	MS	0.1	4	30	229.4	0.56	无
2	MS	0.1	4.5	30	276.7	0.63	无
3	MS	0.1	5	30	404.1	1.18	无
4	MS	0.1	5.5	30	346.4	0.92	无
5	MS	0.1	6	30	309.1	0.68	无

2.3 添加不同浓度生长素培养基的生根效果

由表 3 的试验结果可以看出，在紫色茎秆海芋组培的生根培养期间，培养基中添加不同浓度的 NAA 其生根效果不相同。CK 和另 4 个处理组别紫色茎秆海芋接种苗的生根率都达到了 100 %。但随其 NAA 浓度的增加，接种苗的生根数先呈现上升趋势，而后又出现下降，说明在紫色茎秆海芋组培的生根培养期，其培养基所添加 NAA 的浓度并不是越高越好，过高浓度的 NAA 对其接种苗的生根会产生抑制的作用。其组培培养基未添加 NAA 的

对照中，紫色茎秆海芋接种苗的生根率也达到了 100 %，其苗根长最长，可达 9.25 cm，说明应用紫色茎秆海芋顶芽和侧芽作外植体较易生根。但其组培培养基未添加 NAA 的其苗平均根数过少，不利于后期苗体的驯化栽培；4 个处理组别中当其培养基所添加的 NAA 浓度为 0.5 mg/L 时，紫色茎秆海芋接种苗生根效果最好，其平均根数达到了 36.5 条，且平均根长和茎粗也达到了最佳状态，分别为 3.9 cm 和 1.15 cm，幼苗的生长状况良好，植株高大、叶色绿。

表 3 添加不同浓度的 NAA 培养基对紫色茎秆海芋生根的影响
Tab. 3 Effects of NAA of different concentrations on rooting of *Alocasia macrorrhiza*

组别	基本培养基	NAA /mg · L ⁻¹	接种苗数 /株	生根率 /%	平均根数/条	平均根长/cm	平均茎粗/cm	植株长势
CK	1/2MS	0	15	100	7.5	9.25	0.85	平均株高 6.2cm，叶色黄绿
1	1/2MS	0.3	15	100	23.0	2.65	1.20	平均株高 5cm，叶色淡绿
2	1/2MS	0.5	15	100	36.5	3.90	1.15	平均株高 5.9cm，叶色绿
3	1/2MS	0.7	15	100	31.0	2.25	1.20	平均株高 4.75cm，叶色绿
4	1/2MS	1.0	15	100	18.7	2.37	1.35	平均株高 4.03cm，叶色淡绿

3 结语

(1) 据报道海芋属植物组织培养所用的外植体有顶芽、球茎、腋芽、叶柄^[1]。由于本项组培试验所用的为紫色茎秆海芋品种，为了保持其紫色性状，采用侧芽和顶芽做外植体。在预实验中，其外植体选用了芽眼突出、真叶没长出的侧芽和顶芽、且带有从母株上切下的较大块芽眼基部已老化的组织。在对这些外植体作清洗处理时，操作人员手部出现过敏现象；同时，其经消毒处理后，褐化较为严重，外植体死亡率较高，诱导率较低。因此，紫色茎秆海芋的组织培养，其外植体的制备较为关键，本项研究采用了刚长出真叶、较为干净的紫色茎秆海芋顶芽和侧芽作为外植体，其基部分泌的有

毒物质较少；试验中发现在其诱导阶段，虽培养基出现了少量的褐化，而到了组培的增殖和生根阶段，所有参试配方的培养基均无褐化现象出现，说明随其组培转接次数的增加，其褐化现象明显降低，直至消失，这与有关文献报道的结论相一致^[2]。同时，本研究得出了 MS + BA6.0 mg/L + NAA0.1 mg/L 对紫色茎秆海芋诱导效果较好；MS + BA5.0 mg/L + NAA0.1 mg/L 对丛芽增殖效果最佳，增殖系数达 4 倍多；1/2MS + NAA0.5 mg/L 有利于紫色茎秆海芋的组培苗生根。

(2) 在植物的组培过程中植物激素是培养基中的关键物质，对植物的培养起有至关重要的作用。研究表明^[3]，植物组培过程中其培养基中所添加的各种激素在发挥作用时并不是孤立的，主要表现增效和颉颃。在本次的紫色茎秆海芋组培的增殖培

养试验过程中,其培养基中所用的 NAA 浓度都为 0.1 mg/L,此采用单一变量(细胞分裂素)的原则增加了本项试验的可控性,而在其 1、2 和 3 号组别培养基中,随着添加的 BA 浓度的增加,紫色茎秆海芋丛芽的增殖率呈现递增;而 3、4 和 5 号组别培养基,则呈现相反的趋势。说明当 BA 的浓度为 5.0 mg/L 且 BA/NAA 的比值为 50 时,其增殖率达到了 404.1%,此为本次紫色茎秆海芋组培中增殖培养基所用的最佳激素组合。文献^[4]报道亚马孙海芋的组培在其增殖培养中,培养基所用的 BA 浓度为 5.0 mg/L、NAA 浓度为 0.5 mg/L,其增殖率达到 338%,即 BA/NAA 的比值为 10 时,为亚马孙海芋组培增殖培养基所用激素的最佳组合;同时,当 BA 浓度为 3.0 mg/L, NAA 为 0.2 mg/L, BA/NAA 的比值为 15 时,其增殖率有所提高。另一文献^[5]报道,在海芋的增殖培养中,以 MS + BA3.0 mg/L + NAA0.1 mg/L + 椰乳 100 g/L 作培养基,其增殖系数可达到 5~6 倍,此配方中,BA/NAA 的比值为 30。又一文献^[1]报道在海芋根状茎的组织培养中,用 MS + BA4.0 mg/L + NAA0.1 mg/L 培养基有利于其根状茎愈伤组织的增殖,此培养基配方中 BA/NAA 比值为 40。从上述的参考文献和本项的研究结果中,可以看出,在紫色茎秆海芋的增殖培养中其培养基所添加的 BA 与 NAA 浓度的比值越大,对其芽的分化增效效果越强;此与高铤等报道的当 BA/NAA 的比值为 30,附加椰乳 100 g/L 时,其海芋的增殖系数达到 5~6 倍的结论不相一致,这可能与其附加了椰乳有关。据报道^[6],在试管苗培养过程中,培养基中加入一些天然物质如甘氨酸、水解酪蛋白、椰子汁等对试管苗的生根、长叶有很好的促进作用。至于对紫色茎秆海芋的组培苗是否有促进作用,有待做进一

步研究。在紫色茎秆海芋组培的生根培养过程,也使用了单一变量(NAA)的原则以增加试验的可控性,并且设置了对照试验。在紫色茎秆海芋组培的增殖培养中,其参试的培养基所用的 NAA 浓度为 0.1 mg/L 时,在其所有的配方中未发现芽基部有长根现象,而在紫色茎秆海芋组培的生根阶段,所用培养基设置的 NAA 分别为 0 mg/L、0.3 mg/L、0.5 mg/L、0.7 mg/L、1.0 mg/L 的浓度梯度,发现对照处理中其苗的长根现象明显,这可能是在紫色茎秆海芋组培的增殖期间。在时间相对较短的情况下当 BA/NAA 的比值大于一定的值时,对紫色茎秆海芋芽分化的增效作用较强,而未出现长根现象。此试验有待做进一步研究。

参考文献:

- [1]杨翠芹,刘运权,方颖,等.海芋根状茎的离体培养与植株再生[J].北方园艺,2007(5):212-213.
- [2]周俊辉.植物快速繁殖中存在的问题与对策[J].仲恺农业技术学院学报,1999(4):66-67.
- [3]王蒂.植物组织培养[M].北京:中国农业出版社,2004.
- [4]朱根发,张远能,邹春萍,等.亚马孙海芋组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2000,36(1):38.
- [5]高铤,陈继敏,杨镇明.海芋的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2006,42(5):9-10.
- [6]陈子华.木本植物组织培养及其应用[M].北京:高等教育出版社,1986.
- [7]陈贤,龚元圣,杨德,等.野生柱穗醉鱼草嫩芽的组培技术研究[J].西部林业科学,2007,36(4):75-78.
- [8]范贤熙,胡秀,王奇,等.木本切花植物极美泰洛泊的组织培养研究[J].西部林业科学,2006,35(2):86-89.