

红掌组培快繁技术研究现状的综述

夏慧敏, 傅玉兰*, 杨海燕, 徐莉莉 (安徽农业大学林学与园林学院, 安徽合肥 230036)

摘要 概述红掌组织培养 10 年来的研究成果, 红掌再生体系的建立途径已明确: 以嫩叶为外植体时, 较好的灭菌途径为 0.01% 高锰酸钾 10 min → 0.05% 链霉素 20 min → 0.05% 制菌霉素 20 min → 0.05% 头孢唑啉钠 20 min → 75% 乙醇 30 s → 0.01% HgCl_2 2 min。以不同部位作外植体, 对愈伤组织的诱导率以茎段部位最高, 最佳培养基为: 改良 MS + 6-BA 1.0 mg/L 或 1/2MS + 6-BA 1.0 mg/L。诱导不定芽的最佳培养基配方为: 改良 MS + 6-BA 0.8 mg/L + NAA 0.05 mg/L, 不定芽继代增殖最佳培养基为: MS + 6-BA 1.0 mg/L + KT 1.0 mg/L, 使用 1/2 MS 培养基添加 0.5 mg/L 的 NAA 或 2,4-D 或 IBA 都能很好地诱导不定芽生根。出瓶移栽的最佳栽培基质为: 泥炭: 珍珠岩: 岩棉灰: 牛粪 = 2:2:2:1, pH 值为 5.5。

关键词 红掌; 组培快繁; 培养基

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)21-5516-02

红掌 (*Authurium undreanum*) 为天南星科花烛属多年生常绿草本植物, 原产于中南美洲哥伦比亚西南部, 是一种很好的盆花和切花植物。由于红掌用常规分株繁殖难以扩大生产, 而播种繁殖, 要经人工授粉才能获得种子, 耗费人力。组织培养是红掌快速繁殖的唯一途径。目前, 国外主要以组织培养法繁殖种苗, 国内的种苗也主要是来自国外。为了进一步提高红掌组培快繁技术, 尽早结束进口红掌试管苗的历史, 笔者认为有必要将国内外在红掌组培快繁方面积累的经验和技术进行总结分析, 以期国内规模化生产红掌优质种苗提供参考。

1 红掌组培快繁的研究历史

自 Pienk 于 1974 年对红掌进行组织培养取得成功以来, 国内外学者对其进行了大量的组织培养的研究报道, 但绝大多数的报道仅限于某一品种或单一器官 (茎尖报道最多)。1986 年 Keller 等研究用 MS. skoog 培养基作叶插 (加 KT 2 mg/L), 1~2 个月可形成愈伤组织。1990 年, Lightboam 等报道 0.5 mg/L 的 2,4-D 对愈伤组织的诱导效果最好, 增加 NH_4NO_3 浓度可使叶片愈伤组织增殖加快。1992 年, Kuehrle-A 等用 4 种杂交种幼苗的叶进行组培, 发现在暗培养 1 个月后有半透明的胚胎发生。2~3 个月, 用 MS + 6-BA 0.2 mg/L + 2% 蔗糖继代培养, 成苗后移入温室。1993 年, 复旦大学研究表明, 在幼苗微培养中, 昼长夜短可诱导愈伤组织生长; 3% 葡萄糖对愈伤组织形成是最有效的。

2 红掌组织培养的研究现状

我国从 1998 年开始研究, 现已成功掌握了植株再生体系的建立, 继代增殖培养, 壮苗和生根培养, 移栽和温室育苗等技术。研究人员通过采用不同的器官作为外植体, 及对不同培养基进行筛选比较, 总结出一套较为完整的操作流程。

2.1 再生体系的建立 在当年 11 月至翌年 4 月红掌的幼嫩叶 (卷曲)、叶片 (伸展)、茎段和叶柄均可作为外植体进行初代培养。在兰芹英等的研究中, 红掌幼嫩叶片表面灭菌的较佳方案为: 依次用 0.01% 高锰酸钾 10 min, 0.05% 链霉素, 0.05% 制菌霉素和 0.05% 头孢唑啉钠各灭菌 20 min, 然后用 75% 乙醇 30 s 和 0.01% HgCl_2 2 min, 污染率为零。

2.1.1 不同外植体诱导愈伤组织结果分析。 兰芹英等研究

指出采用红掌的叶子 (未展开的卷片和刚展开的绿色叶片)、叶柄和茎段作为外植体进行诱导培养, 虽然不同品种茎段、叶柄、叶片的愈伤组织诱导率和芽分化率有明显差异, 但是大多数品种愈伤组织诱导率是幼茎段 > 叶柄 > 叶片, 不同品种红掌的茎段诱导率高达 88% 以上, 江如蓝等认为以培养基为 1/2MS + 6-BA 1.0 mg/L 的诱导效果最好, 吕复兵针对叶柄切段、不带主脉叶切片和带主脉叶切片的出愈率进行研究, 发现带主脉的幼嫩叶切片的出愈率较其他两种材料高, 以培养基为 1/2MS + 2,4-D 1.0 mg/L + 6-BA 4.0 mg/L 的诱导效率最好, 刚展开绿色叶片诱导率为 47.86%, 但伸展开的绿叶片诱导产生的愈伤组织, 体积增大缓慢, 经 1 个月左右的培养才能产生状如绿豆的愈伤组织。在江如蓝以叶柄为外植体的实验中, 认为叶柄可能不适合用作外植体来进行初代诱导。而在黄萍萍等的研究中, 利用未展开叶片的叶柄诱导愈伤组织, 认为 6-BA、KT 合理组配 1/2MS + 6-BA 1.5 mg/L + KT 1.0 mg/L 的培养基能诱导较多愈伤组织, 继而产生大量丛生芽。朱饱卿等采用佛焰苞紧包着肉穗的幼嫩花序为外植体, 采用 MS + 6-BA 1.0 mg/L + 2,4-D 0.2 mg/L 的培养基, 成功诱导出愈伤组织, 且肉穗与花序柄交接处诱导成功率较高, 不定芽分化率也较高。以花序为外植体, 接种量大, 污染率低。采用不同的外植体诱导再生的途径不一样, 用茎尖或芽培养, 可直接诱导不定芽, 不断增殖。

2.1.2 影响诱导愈伤组织的因素。 不同无机盐浓度和碳源种类对愈伤组织的产生有明显的影 响, 研究发现 MS、1/2MS、改良 MS、WHITE、B₅ 基本培养基均可诱导愈伤组织, 大多数研究都以 1/2MS 培养基诱导效果最好。由 1/2MS 的培养基诱导的愈伤组织块, 颜色深绿, 表面光滑干燥, 体积大, 生长速度快, 芽点发生早。试验结果显示, 在培养基中分别加入相同浓度的葡萄糖和蔗糖 (30 g/L), 葡萄糖比蔗糖更易于促进愈伤组织的诱导和生长。

植物激素种类及配比也是影响愈伤组织诱导率和生长状况的关键因素之一。试验发现, 使用 6-BA (1.0 mg/L) 和 2,4-D (0.08~0.2 mg/L) 更有利于红掌愈伤组织的诱导和生长, 相同生长时期的外植体, 在相同的基本培养基和培养条件下, 不同的 2,4-D 浓度对愈伤组织的诱导率有较大影响。并且随着细胞分裂素与生长素比值的增大, 产生的愈伤组织的百分率增大, 当细胞分裂素和生长素比值为 10 时, 愈伤组织产生的百分率最大。

作者简介 夏慧敏 (1980-), 女, 安徽芜湖人, 硕士研究生, 研究方向: 观赏植物组培快繁技术。* 通讯作者。

收稿日期 2006-06-02

单一细胞分裂素即可诱导愈伤组织产生,这类培养基所诱导产生的愈伤组织有一个共同特点,即量少,质地坚硬。这类愈伤组织在以后的继代培养中不易进入再分化途径。6-BA 使用的浓度范围从 0.1 ~ 10 mg/L 都可以诱导产生愈伤组织,但随着 6-BA 使用浓度的增大,愈伤组织的质地有逐渐紧密的趋势。研究结果表明,无论是细胞分裂素还是生长素,用量不可过大,当分裂素与生长素的绝对用量等于或超过 5 mg/L 时,虽然可诱导产生一定比例的愈伤组织,但愈伤组织过于坚硬,无法进入再分化途径。

2.2 不定芽分化及增殖培养 所采用的外植体经过 40 ~ 50 d 的诱导愈伤组织培养后,可将愈伤组织转接到分化培养基上增殖,每 5 ~ 6 周继代 1 次,可不断增殖,经 2 次以上继代培养以后,部分愈伤组织上可见到不定芽分化,继续培养,不定芽可长成具有明显茎、叶结构的新梢。

2.2.1 不定芽的分化。不同的培养基不定芽分化的比率不同,在 1/2MS + 6-BA 1.0 mg/L + 2,4-D 0.2 mg/L 培养基上连续培养 2 个周期(每周期为 5 ~ 6 周),愈伤组织块上可见不定芽芽点的分化,但不定芽分化率较低,只有 10% 左右。在上述培养基中去掉 2,4-D 后,可明显促进芽体的分化,其分化率比以上的要高。据黄萍萍的实验结果表明,1/2MS + 6-BA 1.5 mg/L + KT 1.0 mg/L 是诱导红掌愈伤组织产生丛生芽的较佳培养基,诱导率达 96.7%。在江如蓝的实验中,愈伤组织诱导出来后,在初代诱导培养基上继续培养约 2 个月即可形成丛生的不定芽,然后可进行大量的增殖。

2.2.2 不定芽继代增殖培养。据丁爱萍等研究结果表明,红掌愈伤组织的增殖生根同步进行,其培养基为 1/2MS + NAA 0.2 + IBA 2.0 + 活性炭 0.2%。增殖生根同步化,突破了红掌组培繁殖中增殖与生根分两步进行的常规技术,即简化了操作程序,又提高繁殖速度,还可极大地节省人力物力和财力。BA 与 NAA 不同浓度组合处理,对红掌增殖的影响效果有显著差异,同一浓度的 BA,添加生长素 NAA 后,增殖倍数增加,且随 NAA 浓度增大而增大;同一浓度 BA,加入 KT 后,增殖倍数上升明显,BA 和 KT 组合的培养基配方的增殖系数均高于 BA 及 BA 和 NAA 组合的培养基配方,且差异显著。通过继代增殖培养直接形成完整植株,减少了生根培养过程,缩短了培养时间,减少人力物力消耗。

2.3 壮苗和生根培养 在不定芽继代增殖培养过程中,会不断长出芽苗,当增殖到一定量时,可降低植物激素含量,促进芽苗长大长壮,并长出气生根。吕复兵等直接通过继代增殖培养可形成完整植株。潘学峰等认为红掌试管苗生根较易,使用 1/2 MS 培养基添加 0.5 mg/L NAA 或 2,4-D 或 IBA 都能很好地诱导不定芽生根。此时期宜逐步增加光照使苗更为粗壮。

2.4 炼苗移栽 瓶苗经过生根培养后,平均长有 3 ~ 4 条根系,易移栽且易成活。出瓶移栽前,将培养瓶放置培养室外炼苗 7 ~ 10 d,或者打开瓶盖进行炼苗,取出小苗后,在 600 ~ 800 倍无菌清洗液中洗净根上附带的琼脂,再用 0.2% 甲基托布津浸泡 20 min 后,种植在经消毒过的基质(泥炭:珍珠岩:岩棉灰:牛粪 = 2:2:2:1)上,基质的酸碱度以 5.5 为宜。温室内要求空气湿度 80% ~ 100%,温度 (25 ± 1) °C,散射光照 12 h/d,每周需喷施 1/2MS 的营养液 1 次,20 d 后苗可达 4 ~ 5 cm,叶片增加 1 ~ 3 片,根系发达,成活率可达到 90% 以上。

参考文献

- [1] 胡军民. 安祖花[J]. 中国花卉园艺, 2002(5): 39.
- [2] PIERIK R L M. Anthurium andraeanum plantlets produced from callus tissue cultivated in vitro[J]. Physiol Plant, 1976, 37(1): 80 - 82.
- [3] 李枝林, 郑丽. 红掌研究综述[J]. 云南农业大学学报, 1997, 12(2): 72 - 75.
- [4] 兰芹英, 仇玉萍, 张远辉, 等. 不同红掌品种的叶片、叶柄和茎段愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 西北植物学报, 2003, 23(6): 1006 - 1008.
- [5] 江如蓝, 张施君, 郑迎冬, 等. 红掌的组织培养和快速繁殖[J]. 仲恺农业技术学报, 2002, 15(4): 49 - 53.
- [6] 肖三元, 梁国平. 红掌组织培养及快速繁殖[J]. 云南热作科技, 2000, 23(2): 12 - 13.
- [7] 吕复兵, 王碧青, 廖飞雄, 等. 红掌叶片离体培养与植株再生研究[J]. 广东农业科学, 2002(6): 25 - 26.
- [8] 黄萍萍. 红掌快速繁殖技术研究[J]. 黎明职业大学学报, 2004(1): 60 - 62.
- [9] 朱饱卿, 柴向华, 李军, 等. 红掌的花序培养及快速繁殖技术研究[J]. 中国农学通报, 2004, 20(4): 226 - 227.
- [10] 蔡为藩. 红掌组织培养与快速繁殖[J]. 亚热带植物科学, 2002, 31(3): 66 - 68.
- [11] 丁爱萍, 张艳春. 红掌组织培养研究[J]. 中国花卉园艺, 2003(5): 26 - 28.
- [12] 刘晓红. 红掌的组织培养技术[J]. 丹东师专学报, 2003, 25(3): 158.
- [13] 潘学峰, 潘海, 洪世军. 红掌叶片愈伤组织的诱导与植株再生[J]. 海南大学学报, 2000, 18(2): 144 - 149.
- [14] 张桂和, 徐碧玉, 彭存智. 安祖花茎段培养与离体繁殖[J]. 上海农业学报, 2001, 17(3): 13 - 16.
- [15] LAWS N, CALINSKYB. Anthurium world market survey[J]. Floraculture International, 1996, 6(6): 21 - 23.

(上接第 5466 页)

理化试验操作人员的一般检测单位采用此法;高效液相色谱法的回收率和精密度在 4 种方法中最高,适合对微量过氧化苯甲酰的检测,但试验所需仪器设备昂贵,试验成本高,建议有能力购买该设备的检测单位采用此法;分光光度法的准确度和精密度较高,适合一般检测的需要,但是对陈面粉的检测效果不好;碘量法的操作简单,回收率大于 90%,适合一些小型面粉加工厂进行快速检测,其滴定属非水滴定,由于溶液中有大量丙酮,影响淀粉显色,经模拟试验样品含量在国标限量内,不产生蓝色,所以应以黄色消失来判断终点。

另外,试验发现碘量法可改为试纸测定,即把试验测定所需的各种试剂加工成试纸的形式,测定时通过试纸颜色

变化的范围,确定面粉中过氧化苯甲酰的含量是否超标。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. GB2760-1996 食品添加剂使用卫生标准[S]. 北京:中国标准出版社, 1996.
- [2] 周海梅, 马锦琦, 李朴, 等. 气相色谱法测定面粉增白剂过氧化苯甲酰[J]. 河南科技大学学报:农学版, 2003, 23(1): 42 - 45.
- [3] 姜健. 高效液相色谱法测定面粉中增白剂加入量[J]. 福建分析测试, 2004(13): 2013 - 2015.
- [4] 邓六爱, 王朋. 高效液相色谱法测定小麦粉中增白剂过氧化苯甲酰[J]. 化学工程师, 2005, 121(10): 27 - 29.
- [5] 方苗利, 江阳, 王晓燕, 等. 杭州市上城区食品中增白剂含量检测[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(6): 764.
- [6] 梁高洲, 张硕. 增白剂中过氧化苯甲酰测定方法探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(4): 497.
- [7] 苟锡斌. 气相色谱法测定面粉中过氧化苯甲酰[J]. 光谱实验室, 2003, 20(3): 424 - 426.
- [8] 郭万春, 陆守政. 市售面粉中过氧化苯甲酰添加量的检测与分析[J]. 中国公共卫生, 1999(6): 519 - 520.