

绿叶朱蕉组培快繁技术研究

徐洁兰, 徐秋霞 (广州城市职业学院, 广东广州 510405)

摘要 以绿叶朱蕉的茎段为外植体, 进行快繁技术研究, 筛选出最佳的材料部位、消毒方法以及培养基。结果表明, 采用带顶芽茎段, 0.05% 升汞处理 8 min, 消毒效果最理想; 诱导培养基: MS + 5.0 mg/LBA + 3.0 g/L 花宝 1 号; 增殖培养基: MS + 2.0 mg/LBA + NAA 0.1 mg/L; 生根培养基: MS + NAA 1.0 mg/L。
关键词 绿叶朱蕉; 消毒; 培养基; 组织培养
中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)10-02907-01

绿叶朱蕉又称细叶铁树, 为龙舌兰科朱蕉属的单子叶木本植物, 它茎直立, 叶剑形且革质光亮聚生于枝端。在园林布置及室内装饰中有着广泛的用途, 是现代流行的观赏花卉之一。常规繁殖方法为扦插或压条, 但年增值率仅数倍, 难以满足市场需求, 且直接影响母体植株的观赏性。采用组织培养的方法, 在短期内可获得大量整齐一致植株, 并可保持优良的品质, 用以满足商品化生产, 这无疑是一个十分有效的手段。自 Kunsaki(1975)首次报道朱蕉的试管再生, 至今该方面的研究报道并不多^[1-2]。笔者利用朱蕉的嫩茎切段为外植体进行相关的研究, 试图为绿叶朱蕉的规模化商品生产提供参考依据。

1 材料与方法

以绿叶朱蕉 1 年生枝条为外植体。将绿叶朱蕉的叶片仔细剥去, 把枝条切成带顶芽茎段、中上部茎段和较木质化茎段 3 类, 用肥皂水和软毛刷将枝条表面清洗干净, 然后用自来水反复冲洗 10 min, 用浓度 75% 的乙醇消毒 20 s, 无菌水冲洗 3 次, 用浓度 0.05% 升汞溶液 + 适量吐温 - 80 分别消毒 8~12 min, 最后用无菌水冲洗 8 次。将消毒过的各类枝条切成合适长度, 接种于添加了不同种类和浓度激素的 MS 培养基中进行培养。以 MS 培养基为基本培养基, 蔗糖 3%, 卡拉胶 6%, 培养基 pH 值 5.8, 光照强度 1 500~3 000 lx, 光照时间 14 h/d, 培养温度 21~23 ℃。

2 结果与讨论

2.1 不同部位及不同处理时间的消毒效果 如果消毒不彻底, 一般在接种后 2 d 即开始出现污染, 在接种后 10 d 左右污染趋于稳定; 同时还有一些茎段虽然没有污染, 但渐渐失绿变白, 呈水渍状而最终死亡。调查发生污染的培养基瓶数以及茎段坏死数, 如表 1 所示。

表 1 升汞浓度 0.05% 的消毒效果			
材料部位	消毒时间//min	污染率//%	成活率//%
带顶芽茎段	8	9.52	66.67
	10	4.76	38.10
	12	0	14.30
中上部茎段	8	76.19	19.05
	10	28.95	61.90
	12	14.29	23.81
较木质化茎段	8	95.24	4.76
	10	71.43	28.57
	12	56.25	43.75

作者简介 徐洁兰(1965-), 女, 广东广州人, 农艺师, 从事植物组织培养、观赏植物生产栽培方面的研究。
收稿日期 2006-12-29

表 1 表明, 不同部位的茎段对升汞的敏感性以及消毒处理的效果不同。其中, 带顶芽茎段由于是新抽嫩茎, 且有叶片的严密包护, 易于消毒, 污染率较低, 但却易受升汞的伤害; 木质化茎段虽然较耐受升汞的长时间消毒, 但由于材料本身带菌相对较多, 污染率则明显上升。因此, 绿叶朱蕉无菌材料的获得, 采用带顶芽茎段, 用 0.05% 升汞处理 8 min, 无菌水彻底清洗 8 次最为理想; 成活率达到 66.67%, 其次是采用中上部茎段, 0.05% 升汞处理 10 min、无菌水彻底清洗 8 次, 成活率为 61.9%。

2.2 不同激素种类及对比对诱导芽萌动的影响 为保持该品种原有的优良特性, 试验采用以芽增殖芽扩大繁殖系数的器官型繁殖途径, 避免通过愈伤组织而再生。因此, 诱导阶段中刺激芽的萌动, 特别是腋芽的萌动, 成为首要任务。试验结果见表 2。

表 2 不同激素种类及对比对诱导芽萌动的影响			
培养基号	激素种类及配比	启动天数 d	生长状况
①	2.0 mg/L BA + 13% 椰子汁	12	产生大量淡黄色愈伤组织, 芽长高不明显
②	2.0 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA	17	产生大量淡黄色愈伤组织, 芽不长高
③	5.0 mg/L BA + 3.0 g/L 花宝 1 号	13	少量愈伤组织, 芽明显长高
④	1.0 mg/L BA + 0.2 mg/L 2,4-D	10	大量白色疏松水渍状愈伤组织, 芽不长高

注: 以带顶芽茎段为观察对象, 接种 30 d, 记录其生长状况。

表 2 显示, 在所用 4 种培养基中, 外植体均不同程度地发生膨大, 并产生愈伤组织。其中④号培养基的愈伤组织是白色疏松水渍状, 以后未发现其进一步的形态发生, 并且逐渐变褐色, 失去活力; ①、②号培养基中外植体的生长情况基本相同, 所不同的是①号培养基中的外植体在展叶的叶缘上产生绿色薄壁组织, 随后分化出小芽, 估计是培养基中的天然组织提取液椰子汁对组织的分化有明显的促进作用多引起的, 但与试验思路相违, 并且在随后将分化形成的小芽切下培养的试验中, 发现其长势很弱, 难以用作增殖材料, 不适合采用; ③号培养基中的外植体、愈伤组织产生少, 且组织肉质较紧密, 芽的萌发明显。综上所述, 绿叶朱蕉在诱导阶段采用③号培养基作为诱导培养基最合适, 其芽饱满、长势好, 为后续的快速繁殖打下基础。

2.3 不同激素种类及对比对芽分化及增殖的影响 将诱导阶段得到的材料, 去除较疏松的愈伤组织, 将芽体转接到分 (下转第 2956 页)

用量的增加,降低了土壤中可交换态镉、碳酸盐结合态镉的含量,有研究表明,可交换态镉、碳酸盐结合态镉最易被作物所吸收,是影响水稻植株中镉含量的一个因素。可交换态镉含量与环境 pH 值的变化有关,一般随着 pH 值的升高而降低^[5],而该态的镉最易被作物所吸收,对作物危害最大。碳酸盐结合态镉对土壤环境条件,特别是 pH 值最敏感,随着土壤 pH 值的降低,离子态镉可大幅度重新释放而被作物所吸收。因此,很多研究将向土壤中添加碱性改良剂作为改良重金属污染土壤的一种措施。试验中随着肥料用量的增加,土壤 pH 值升高,而可交换态和碳酸盐结合态镉含量降低。因此,可以得出,向土壤中加入硅肥可以提高土壤 pH 值,从而降低可交换态和碳酸盐结合态镉含量,而使水稻对镉的吸收减少。

表 2 不同硅素物质对土壤中镉形态分布的影响					mg/kg
硅素物质	可交换态	碳酸盐结合态	铁锰氧化物态	有机结合态	残渣态
①CK	2.23	3.15	1.05	0.85	0.24
②	2.12	2.44	1.36	1.63	0.20
③	1.79	1.91	1.82	1.82	0.16
④	1.71	1.73	2.26	2.27	0.13
⑤	1.34	1.24	2.70	2.53	0.09
⑥	1.96	2.96	1.46	1.35	0.21
⑦	1.87	2.72	1.89	1.54	0.18
⑧	1.75	2.67	2.13	1.76	0.14
⑨	1.24	2.04	2.66	2.48	0.08

3 结论

(1)镉污染土壤上种植水稻后,植株不同部位镉的含量不同,由大到小的次序为:根>茎叶>糙米;土壤中添加硅素物质并没有改变水稻各部位镉的含量的次序,但降低了各部位镉含量,同时,随硅素物质施入量的增加,水稻各部位的镉含量也呈现降低趋势。

(2)对水稻收获后的土壤进行分析得出,随着硅肥加入量的增加,土壤 pH 值升高,土壤中可交换态、碳酸盐结合态镉含量降低,铁锰氧化物态、有机结合态镉含量增加。这是水稻植株中镉含量降低的直接原因。

(3)添加硅肥可以作为改良镉污染水稻土的一种措施,降低稻米对镉的吸收,为人类食用无污染稻米提供需要。

参考文献

[1] 陈怀满.土壤—植物系统中的重金属污染[M].北京:科学出版社,1996:71-85.
[2] 宗良纲,徐晓炎.水稻对土壤中镉的吸收及其调控措施[J].生态学杂志,2004,23(3):120-123.
[3] TESSIER A, CAMPBELL P G C, BISSON M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. Anal Chem, 1979, 51: 844-851.
[4] 蔡德龙,陈常友,小林均.硅肥对水稻吸收镉影响初探[J].地域研究与发展,2000,19(4):69-71.
[5] 曹仁林,贾晓葵,张建顺.镉污染水稻土防治研究[J].天津农林科技,1999,12(6):12-17.
[6] 陈怀满.影响土壤吸附镉的若干因子[J].土壤,1998(3):131-136.
[7] 崔德杰,张玉龙.土壤重金属污染现状与修复技术研究进展[J].土壤通报,2004,35(3):45-46.
[8] 谢正苗,黄昌勇,廖敏.pH对镉在土水系统中的迁移和形态的影响[J].环境科学学报,1999,19(1):81-86.

(上接第 2907 页)

化培养基中,重复 2 次,记录其生长情况。结果见表 3。

表 3 不同激素种类及对比对芽分化及增殖的影响

培养基号	激素种类及配比	生长状况	增殖系数
①	5.0 mg/L BA + 3.0 g/L 花宝 1 号	顶芽明显长高,腋芽萌发生长高,叶片薄	3
②	3.0 mg/L BA	芽变粗生长,基部愈伤组织生长快,易退化	1
③	2.0 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA	芽变粗生长,基部愈伤组织生长快	1
④	1.0 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA	基部产生大量淡黄色愈伤组织,芽变粗生长	1
⑤	2.0 mg/L BA + 0.1 mg/L NAA	芽先变粗生长,随后外面 2~3 层叶片外翻,露出大量小芽	6
⑥	1.0 mg/L BA + 0.1 mg/L NAA	芽先变粗生长,随后外面 2~3 层叶片外翻,露出大量小芽	4

注:转瓶 2 次后记录生长情况;以芽团统计增殖系数。

表 3 显示,当 NAA 浓度为 0.2 mg/L 调节 BA 的浓度时,发现材料的基部容易产生淡黄色愈伤组织而影响不定芽的分化;当 NAA 浓度为 0.1 mg/L 调节 BA 的浓度时,芽体的不定芽分化都较明显;但当 BA 的浓度超过 2.0 mg/L 时继代 2 次后,芽团即呈深黄色,褐变趋势相当明显。综上所述,绿叶朱蕉芽的分化及增殖培养,需要加入少量的 NAA,但当 NAA 用量过高,则会削弱不定芽的分化。这与谭文澄(1991)报道的小叶彩铁组织培养的结果是一致的^[1],因此,⑤号培养基是较好的丛芽增殖培养基。

2.4 不同激素种类及对比对芽丛生根率的影响 将在增

殖培养基中已经长至 3 cm 以上的丛芽分离成单芽后转入不同培养基中,25 d 后观察小芽的生根情况,30 d 后统计生根数(表 4)。

表 4 不同激素种类及对比对芽丛生根率的影响

培养基号	激素种类及配比	生根率	平均生根数	生长情况
①	0.1 mg/L NAA	100	2.3	根少,长势较弱,生长较慢
②	0.5 mg/L NAA	100	3.5	根生长较慢,长势较弱
③	1.0 mg/L NAA	100	8.9	根多,粗壮,生长好
④	2.0 mg/L NAA	100	7.2	根多,生长正常

表 4 表明,①~④号培养基对芽丛生根均有较好的促进作用,生根率为 100%。其中③、④号培养基的效果理想,生根数平均达到 7~9 条,尤其是③号培养基,所产生的根不仅数量多,而且健壮,非常有利于随后的试管苗出瓶移栽管理。

参考文献

[1] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,2001.
[2] 熊丽,吴丽芳.观赏花卉的组织培养与大规模生产[M].北京:化学工业出版社,2003,23(1):61-63.
[3] 黄学林,李筱菊.高等植物组织离体的形态建成及调控[M].北京:北京科学出版,1995.
[4] 王爱民.培养因子对朱蕉试管苗繁殖的影响(简报)[J].广西植物,2003,23(1):61-63.
[5] 高建莉.朱蕉组织培养快速繁殖初步研究[J].林业科技通讯,2001(6):46.
[6] 高建莉.组织培养快速繁殖朱蕉[J].云南农业科技,2000(4):30.
[7] 梁华,李玉石,彭立健.朱蕉茎插繁殖及新株培育[J].农业知识,2001(15):18-19.