

绿帝王组织培养快速繁殖技术

周长东

(山西省造林局,山西 太原 030012)

摘要: 选取绿帝王盆栽大苗作为供试母株,对绿帝王组织培养快速繁殖技术进行了研究。结果表明:绿帝王组培外植体最佳取材时间应在冬、春季;不定芽分化增殖阶段最佳培养基为 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L; 最佳生根培养基为 1/2MS + NAA 0.5 mg/L + 蔗糖 20 g/L + 活性炭 2.0 g/L, 和 1/2MS + IBA 2.0 mg/L + 蔗糖 20 g/L + 活性炭 2.0 g/L; 苗高达 4 cm, 有 4 片以上叶子, 1 条~3 条以上根系的健壮试管苗, 放温室进行 3 d~15 d 的闭瓶炼苗, 7 d~10 d 开瓶炼苗, 移栽成活率可达 95 % 以上。

关键词: 绿帝王; 组培; 快速繁殖

中图分类号: S722.3⁺7

文献标识码: A

文章编号: 1007-726X(2006)01-0047-03

Rapid Micro-propagation Techniques for *Philodendron erubescens*

'Ludiwang'

ZHOU Chang-dong

(Shanxi Silviculture Bureau, 030012 Taiyuan, China)

Abstract: Using *Philodendron erubescens* 'Ludiwang' seedling-in-pot as test material, its micro-propagation techniques was obtained. The results showed that Winter and Spring are the optimum time for explant; Differentiation of adventitious bud was in MS medium culture with 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L; The best medium for rooting was 1/2MS + NAA 0.5 mg/L + sucrose 20 g/L + activated carbon 2.0 g/L and 1/2MS + IBA 2.0 mg/L + sucrose 20 g/L + activated carbon 2.0 g/L; The plantlets, with height of 4 cm, leaves of 4 or above, roots of 3 or 4, was cultured in sealed bottle in greenhouse for 3-15 d, then trained in sealed bottle for 7-10 d, so the survival rate of transplanted plantlets was over 95%.

Key words: *Philodendron erubescens* 'Ludiwang'; rapid micro-propagation

本研究利用绿帝王盆栽大苗作为供试母株,旨在对其外植体取材时间,侧芽诱导培养基,不定芽最佳分化、生根培养基,试管苗移栽上盆等工厂化快速育苗的一系列关键技术进行探讨。

1 材料与方 法

选取绿帝王盆栽大苗为试验材料。切取 3 cm~4 cm 带芽茎段带回室内进行清洗,用软刷涂肥皂刷净材料表面,视材料幼嫩程度及清洁情况用 0.1 % 高锰酸钾浸泡 10 min~30 min, 然后流水冲洗 30 min~60 min, 移至超净工作台上,在无菌条件下,用 75 % 乙醇浸泡 15 s~30 s, 0.1 % 的升汞浸泡 4 min~12 min, 最后用无菌水冲洗 4 遍~5 遍。剪去材料受伤面,将带芽茎段剪成 1 cm~2 cm 单芽小

段,接种到启动培养基上,每瓶接种 1 芽。芽启动萌发后,剪取上部茎尖接种到分化培养基上进行分化培养,扩大繁殖。获得一定数量的不定芽后,选粗壮小苗接入生根培养基,其余仍重复进行分化培养。待试管苗基部长出 1 条以上新根后,进行移栽前的闭瓶和开瓶炼苗,然后移至蛭石中,1 个~2 个月后上盆。试管苗成活率可达到 100 %。

本试验所用基本培养基为 MS 培养基,琼脂 7.5 g/L, pH 值 5.8, 添加的激素类物质有 6-BA、KT、NAA、IAA、IBA。培养条件为,温度 26±2 ℃, 光照强度 1 000 Lx, 光照时间 12 h。

2 结果与分析

2.1 最佳取材时间筛选

从春季3月份开始,分别于3月26日、5月7日、7月9日、11月6日、1月8日这六个时间进行采样。各个时期的消毒程序基本一致,只是根据材料幼嫩程度不同,对各消毒剂的浸泡时间略作调整。结果表明,绿帝王一年中不同时期所采取的顶芽或侧芽,接种成活后的生长分化表现没有差别,所不同的是外植体的成活率。冬、春两季,即从11月下旬至5月中旬所接的材料污染率仅12.50%~23.07%,个别处理几乎无一污染;而夏、秋两季的材料接种后污染特别严重,成活率仅60.01%。这是由于这段时间温室高温多湿,盆栽母株杂菌密度大,消毒困难。绿帝王属于常绿植物,生长周期不明显,冬、春季的芽体仍具旺盛的生长能力,茎尖分生能力强,培养后生长速度很快。因此,绿帝王的外植体最佳取材时间应在冬、春季。

2.2 芽的诱导

将单芽小段转接入启动培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.1 mg/L (以下单位同),3 d 后消毒不彻底的外植体即开始有污染发生,剔除污染和干褐死的茎尖,其余成活了10 d 后开始萌动,芽体逐渐膨大,30 d~40 d 后,芽可伸长到1 cm 左右,并有3片~4片叶子。

2.3 不定芽的分化与增殖

切取诱导芽上部茎尖,接入分化培养基中。首先,将生长素定为NAA 0.1 mg/L,对细胞分裂素的种类和浓度进行筛选。根据初代小苗在启动培养基上的表现,将BA和Kt的浓度均定为0.5,1.0,1.5,2.0 mg/L四个水平,试验按完全随机区组设计。观察发现,转接后5 d~7 d小苗即开始生长,基部膨大,10 d~15 d后膨大部位出现绿色突起,30 d~40 d后形成丛生不定芽。对试验结果进行统计分析知,6-BA对不定芽分化的影响比Kt要大,其浓度以2.0 mg/L为最好,不定芽分化系数达6.1。随后将6-BA的浓度固定为2.0 mg/L,对最佳生长素种类与浓度进行了筛选,所用生长素有NAA、IBA、IAA,浓度为0.01,0.1,0.5,1.0 mg/L四个水平。从试验结果得知,三种激素在对绿帝王不定芽分化的作用上差异不明显,但每种生长素不同浓度水平间则表现出很大不同,均以0.5 mg/L用量最好,分化系数达7.12。利用正交试验设计,对最佳激素配比进行筛选。6-BA的浓度设1.0,2.0,3.0,4.0 mg/L四个水平,生长素选用NAA,浓度为0.1,0.3,0.5,0.7 mg/L四个水平。综合观察芽的增殖与伸长生长表现得出,不定芽分化增殖阶段最佳培养基为MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L。切取芽上部茎

尖0.5 cm~1.0 cm长,接到该培养基上5 d~7 d后,小苗即开始生长,基部膨大,10 d~15 d后膨大部位出现绿色突起,30 d~40 d后形成丛生不定芽,分化系数达7.26。

2.4 生根培养

试验所用小苗来自同一分化培养基上,苗高均在1.0 cm左右,并具3片~4片以上叶子。根据分化增殖阶段试管苗的生长表现,将生根阶段激素的种类及浓度定为:BA 0.0,0.5,1.0,2.0 mg/L;NAA 0.1,0.3,0.5,1.0 mg/L;IBA 0.5,1.0,2.0,3.0 mg/L;同时加活性炭2.0 mg/L。综合考虑发根数与根的生长量,计算出生根率、生根系数及生根度。结果表明NAA与IBA对绿帝王生根的作用差别不大,最适浓度分别为0.5 mg/L和2.0 mg/L,BA以完全去掉为最好,此时,生根率达96.49%。随后对生根阶段培养基中无机盐与糖的浓度也进行了筛选,将大量元素的浓度调整为1/10MS、1/8MS、1/6MS、1/4MS、1/2MS与MS共计6个浓度水平;蔗糖浓度设10,20,30,40,50 g/L共计5个浓度水平。分析试验结果得知,在一定范围内,随着大量元素与糖浓度的增加,试管苗生根率也增加,当增加到某一数值后,生根率刚开始呈下降趋势,二者最适浓度分别为1/2MS与20 g/L。因此,绿帝王最佳生根培养基应为1/2MS+NAA 0.5 mg/L+蔗糖20 g/L+活性炭2.0 g/L,和1/2MS+IBA 2.0 mg/L+蔗糖20 g/L+活性炭2.0 g/L,生根率均可达95%以上。

2.5 移栽上盆

挑选苗高达4 cm,有4片以上叶子,1条~3条以上根系的健壮试管苗,放温室进行3 d~15 d的闭瓶炼苗,时间长短视苗子强弱来定,随后进行开瓶炼苗。据以往文献报导,开瓶炼苗时间以2 d~3 d为宜。但从本试验结果可以看出,若环境条件适宜,在一定范围内,炼苗时间越长,成活率则越高,以7 d~10 d为最好,成活率达96.96%~100%,且移植后小苗很快生长。另外,一些试管苗在无根系的情况下,如用1%IBA浸泡基部,仍可获得85.56%的成活率。绿帝王为阴性植物,成龄盆栽植株一般放于室内较阴暗的地方,因此,与以往北方喜光植物不同,试管苗移栽阶段,光照强度仍然不可过强。试验结果表明,移植棚透光度以30%~40%为好,光照强度应掌握在3 000 Lx左右,移植棚上方搭建遮阴网可达到这样的条件。另外,应保证棚内空气温度在25℃左右,初期空气湿度90%以上,2 d后逐渐开

(下转第52页)

法分种源单株单采,并统计各单株采条量。采集的当年生嫩枝穗条平均长 15.1 cm~21.1 cm,平均粗度 0.224 cm~0.308 cm。采条量调查结果见表 2。

表 2 不同种源平均单株采条量

产地	穗长 /cm	穗粗 /cm	采条量/条		
			6月27日	7月17日	合计
隰县	17.4	0.224	5.5	8.2	13.7
和顺	20.7	0.258	7.5	10.6	18.1
右玉牛心	18.3	0.267	7.4	9.1	16.5
五寨	21.1	0.308	7.0	12.5	19.5
五台	17.9	0.302	5.7	9.0	14.7
陕西富县	16.1	0.273	4.5	5.8	10.3
沁源	18.4	0.271	4.3	4.3	8.6
岢岚	15.1	0.235	2.7	4.2	6.9
陕西旬邑	15.1	0.247	2.2	4.2	6.4
文水	15.7	0.228	5.6	5.7	11.3
宁武	15.8	0.239	3.1	3.9	7.0
右玉威远	16.5	0.243	6.2	5.6	11.8
陕西永寿	15.9	0.245	5.0	4.9	9.9

3 结果与分析

3.1 苗高生长的差异

在定植当年不同种源间苗高生长差异较大,以和顺、陕西富县、五台;五寨种源表现最好,平均苗高均在 35.8 cm 以上;差的种源为宁武、文水、岢岚、沁源,平均苗高在 25.6 cm 以下;剩余五个种源介于二者之间。栽植第二年,仍以和顺、陕西富县、五台、五寨种源表现为好,平均苗高在 75.6 cm 以上;差的种源为文水、宁武、岢岚、沁源,平均苗高在 64.4 cm 以下;剩余五个种源介于二者之间。

3.2 地径生长的差异

不同种源间地径生长的差异较大,在定植当年,以和顺、五寨、陕西富县、五台种源表现为好,平均地径在 0.47 cm 以上;表现差的种源为宁武、文水、岢岚、沁源,平均地径在 0.34 cm 以下,其余五个种源的地径介于二者之间。在定植第二年,以和顺、五寨、

陕西旬邑、五台、陕西富县种源表现为好,平均地径为 1.13 cm 以上;差的种源仍为沁源、岢岚、文水、宁武平均地径为 1.03 cm 以下,剩余四个种源介于二者之间。

3.3 采条量的差异

由表 2 可知,在 6 月 17 日第一次采条时,平均单株采条量大于 6 个穗条的种源有和顺、右玉牛心、五寨、右玉威远,小于 4 个穗条的种源有宁武、岢岚、陕西旬邑。在 7 月 17 日第二次采条时,平均单株采条量大于等于 9.0 个穗条的种源有五寨、和顺、右玉牛心、五台;小于 5 个穗条的种源有陕西永寿、沁源、岢岚、陕西旬邑、宁武。从两次采条统计结果看,平均单株采条量大于 14 个穗条的种源有五寨、和顺、右玉牛心、五台;小于 9 个穗条的种源有沁源、宁武、岢岚、陕西旬邑;剩余 5 个种源隰县、右玉威远、文水、陕西富县、陕西永寿介于二者之间。

4 结论

1) 经对 13 个沙棘种源的造林试验,不同种源间苗高生长上存在着较大差异。在造林当年和第 2 年均以和顺、陕西富县、五台、五寨四个种源表现为好,在造林当年平均苗高在 35.8 cm 以上,第二年平均苗高在 75.6 cm 以上。表现差的为文水、宁武、岢岚、沁源四个种源。

2) 在地径生长上,仍以和顺、五寨、陕西富县、五台表现为好。在造林当年平均地径在 0.47 cm 以上,造林第 2 年平均地径在 1.13 cm 以上。表现差的仍为沁源、岢岚、文水和宁武种源。

3) 在 2003 年进行的两次采条试验中,单株平均采条总量大于 14 个穗条的种源有五寨、和顺、右玉牛心和五台;小于 9 个穗条的种源有沁源、宁武、岢岚和陕西旬邑。

(上接第 48 页)

口通气,30 d 后揭去塑膜。在此期间每隔 7d 喷一次特制营养液和 300 倍~500 倍的百菌清药液。移植苗在蛭石中生长 2 个~3 个月后即移栽上盆。绿帝王喜酸性土壤,盆土基质配方以松针土:马粪土:河砂=

2:1:1 为好,土壤 pH 值可调整到 5.8~6.2,土壤透气与排水能力增强。在此盆土基础上,利用自来水中溶解 0.2% FeSO₄, 0.1% (NH₄)₂SO₄ 酸性肥料的方法,可有效防止盆土的再碱化。严格按照以上条件进行移栽,试管苗成活率可达 95% 以上。