

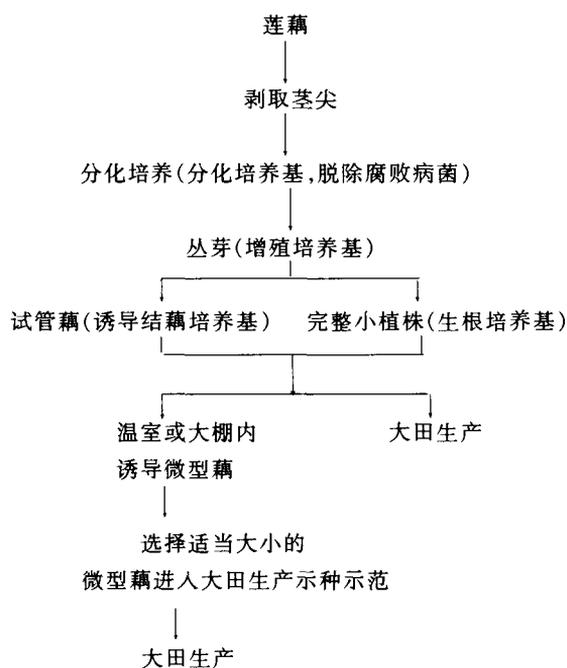
# 莲藕组织培养技术

彭静 柯卫东 刘玉平 黄新芳

近几年,随着农业种植结构的调整,很多水稻田改种莲藕等经济效益较好的水生蔬菜,而不少老产区的莲藕品种由于种植时间长,退化严重,并且病害严重,因此对藕种的需求量急剧增加。但由于莲藕是以无性繁殖为主的作物,通常用商品藕作种繁殖,繁殖系数低(仅1:10),长途运输费用较高,损耗较大,限制了莲藕新品种的迅速推广,新品种供应量远远不能满足市场需求,进行试管藕的生产是解决这一问题的最有效途径。试管藕繁殖速度快,便于运输,不带病菌,成活率高,可工厂化生产,并可以进行资源的离体保存,进行其它生理生化方面(如莲藕膨大形成机理、转基因抗病品种选育等)的研究工作,为这些研究提供一个可操作的简单系统。

## 1 莲藕离体快速繁殖技术

### 1.1 莲藕茎尖培养快速繁殖的工艺流程



### 1.2 莲藕快速繁殖技术

①材料和灭菌 切取无病莲藕的顶芽,清洗干净后用自来水冲洗 30 min,然后在超净工作台内,先用 70%乙醇浸泡 2 min,再用 0.1%升汞浸泡 5 min,经无菌水冲洗 4~5 次,用解剖刀剥去外层叶鞘,切取约 0.5 cm 长的茎尖接种到培养基中。

②培养基和培养条件 莲藕茎尖培养效果较好的分化培养基为:MS+6-BA1.5 mg/L+NAA0.5 mg/L+3.0%蔗糖;继代培养基为:MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.5 mg/L+3.0%蔗糖;生根培养基为:MS+NAA1.0 mg/L+Ac0.15%+5.0%蔗糖;诱导试管藕培养基为:MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.5 mg+GA1.0 mg/L+8.0%蔗糖。以上各培养基加琼脂 6.0 g/L, pH5.8。

培养温度为:24~26℃,每天光照 10 h,光强 1 500~2 500 lx。

③离体快繁与移栽 将外植体接种到分化培养基上后,一般 1 周左右开始转绿,2 周左右开始启动,4~6 周可长成具有 2~4 节 4~8 个芽的丛生芽。将丛生芽转到继代培养基中继代培养,可以迅速扩大繁殖。此时,如果想得到试管藕,就将丛芽转到诱导试管藕的培养基中,一个多月后可以诱导形成试管藕;若想得到试管苗,就将丛芽转到生根培养基中,3 周后可以形成具有发达根系的完整小植株。

试管苗生根后,可进行移栽。移栽前,敞瓶炼苗 3~4 天,取出试管苗洗净后,栽至装有各种基质的塑料盒中,并加不同浓度营养液,盒上覆盖薄膜保湿,4 天后昼覆夜敞,15 天后完全除掉薄膜。在白天光照过强时,还可用遮阳网遮荫,傍晚打开。试管苗长出新根,再移到土中。试管藕移栽较简单,直接栽入土中即可。

## 2 影响莲藕组织培养的因素

在莲藕茎尖培养过程中,大致可分为外植体启动分化、继代增殖和诱导形成试管藕(或生根形成试管苗)三个阶段,这三个阶段都受各种因素影响。

彭静,武汉市蔬菜科学研究所水生蔬菜研究室,430065

柯卫东,刘玉平,黄新芳,通讯地址同第一作者

收稿日期:2001-06-08

## 2.1 外源激素对莲藕茎尖培养的影响

外源激素浓度在莲藕茎尖培养的整个生育期都有较大影响。分化阶段,当 NAA 浓度为 0.5 mg/L,6-BA 浓度在 0.5~2.0 mg/L 时,莲藕茎尖都可以转绿和分化,但以 6-BA 1.5 mg/L 时转绿率和分化率最高。继代增殖阶段,6-BA 浓度过低,增殖系数较小,不利于快速繁殖;6-BA 浓度过高,丛芽增多,但试管苗茎、芽变细小,长势弱,一般以 6-BA 0.5 mg/L 为宜。生根阶段,随 NAA 浓度增加,试管苗生根率增加,但当 NAA 超过 2.0 mg/L 时,会有植株枯死现象。在诱导形成试管藕阶段,藕节伸长是形成试管藕的前提,在其他条件一致的情况下,改变 GA 的浓度(0.2~2.0 mg/L),发现 GA 对促进藕节伸长有较大影响,浓度过低(0.5 mg/L 以下)时,茎节短而密集;浓度过高(1.5 mg/L 以上)时,茎节伸长的同时,叶柄也会伸长许多。在诱导成藕的实验中,GA 为 1.0 mg/L 的效果最好,节间长度 0.3~0.5 cm。

## 2.2 活性炭对莲藕茎尖培养的影响

在莲藕试管苗的继代增殖过程中,随着活性炭浓度的增加,试管苗的增殖系数逐渐降低,同时叶柄变细长,生根率增加,植株长势变弱,所以在莲藕试管苗继代增殖过程中,不适宜加入活性炭。

在试管苗生根培养过程中,活性炭浓度为 0 时,生根率最低,枯死率最高;随着活性炭浓度的逐渐升高,生根率逐渐升高,枯死率逐渐降低,当活性炭浓度增加到 0.15% 时,生根率达到最高,而枯死率最低;活性炭浓度继续加大,生根率有所下降,枯死率升高。因此适当的活性炭浓度有利于莲藕试管苗生根。

## 2.3 蔗糖浓度对莲藕茎尖培养的影响

蔗糖浓度对试管苗生根有较大影响,随着蔗糖浓度的增加,生根率升高,当蔗糖浓度为 5.0% 时,生根率达到最高;但蔗糖浓度为 3.0% 和 5.0% 的平均每株总根数差异不大。

蔗糖浓度在 3.0%~12.0% 时都可诱导出试管藕,但各浓度之间的结藕率差异较大,蔗糖浓度低时植株生长旺盛,结藕率低,随着蔗糖浓度的增高,结藕率增高,当蔗糖浓度为 8.0% 时,结藕率达到最

高,之后再增加蔗糖浓度,枯死率增加,结藕率下降,试管藕变小。

## 2.4 不同品种、不同生长期对莲藕茎尖分化的影响

不同品种在同一培养基分化情况不同。将藕莲品种鄂莲 1 号、鄂莲 4 号和花莲品种红娃娃、案头春等 4 个品种分别接种到上述同一分化培养基中,结果发现花莲品种的分化率明显高于藕莲品种,两个藕莲品种的分化率差异不大。

莲藕茎尖在各个月份都可以分化,但在 2、3、4、10、11、12 月份分化率较高,6、7、8 月份分化率则相对较低。莲藕的顶芽和腋芽都可作为培养材料,但顶芽比腋芽的分化速度快,生长势好。此外,我们发现外植体的质量条件,消毒时间等因素,也都会影响其转绿率和分化率。

## 2.5 不同基质和营养液浓度对试管苗移栽的影响

试管苗生根后,一般先要在营养基质中培育一段时间,待其长出新根后,再移栽的田间。通过对珍珠岩、沙、土三种基质的比较发现,珍珠岩作基质明显优于沙和土,在土中试管苗的成活率最低。以珍珠岩为基质进行的四种营养液浓度比较中发现,营养液浓度过高或过低,都不利于试管苗的生长。

## 2.6 莲藕组培苗不同生长状态对移栽成活率的影响

莲藕茎尖培养形成丛芽后,可以诱导形成试管苗,也可以诱导形成试管藕。试管苗是一个活体植株,移栽困难,成活率低,不能长久存放,不便长途运输,由于其自身固有的缺陷,生产上应用受到限制。试管藕是在试管苗的基础上,诱导形成一个完整的休眠器官——小藕,克服了试管苗的缺陷,可直接作为种子,既便于存放,又便于长途运输,而且栽种的成活率高,便于农民掌握。因此,在莲藕组培快繁生产中,应尽量诱导形成试管藕。

## 3 莲藕离体快速繁殖的应用前景

目前,湖北省莲藕生产面积 6.70 万  $\text{hm}^2$  左右,按每 667  $\text{m}^2$  用常规种藕 200 kg 计算,每年需常规种藕 2.00 亿 kg,需留种田约 0.67  $\text{hm}^2$ 。如改用试管藕作种,则每年可节省藕种约 2.00 亿 kg 和留种用耕地 0.67  $\text{hm}^2$ ,还可节省大量的运输费用。

