

魔芋块茎组织培养及植株再生

马崇坚, 彭诚聪

(韶关学院英东生物工程学院, 广东韶关 512005)

摘要: 采用野生魔芋 (*Amorphophallus albus*) 块茎为外植体, 经消毒处理, 以 MS 培养基为基本培养基, 在不同生长调节剂组合的培养基上进行组织培养试验。结果显示, 在 MS + 1.0 mg/L NAA + 2.0 mg/L 6-BA 培养基上容易诱导愈伤组织, 诱导率为 47% ± 6.73%; 在 MS + 1.0 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA 培养基上愈伤组织容易增殖和分化出不定芽。

关键词: 魔芋; 组织培养; 愈伤组织

中图分类号: S632.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2007)03-0103-03

魔芋又称蒟蒻, 属天南星科 (Araceae) 魔芋属 (*Amorphophallus*) 多年生草本植物。魔芋的主要经济成份是球茎中所含的葡甘露聚糖, 具有水溶、持水增稠、稳定、悬浮、胶凝、成膜等多种独特的理化性质, 广泛应用于食品、医药及工业等领域^[1-2]。随着国际市场对魔芋精粉的需求逐年攀升, 魔芋产品价格一直呈上升趋势, 从而大大促进了国内外魔芋的大面积种植。由于魔芋种子少, 且种子繁殖变异性大, 常用地下茎作无性繁殖。但繁殖系数极低, 用种量大, 加之种芋不能长距离运输, 在贮藏过程中极易感病腐烂, 因此种芋的繁殖一直阻碍着魔芋大面积发展, 许多优良品种难以推广。同时无性繁殖的作物带毒和带菌均比较多, 这也是阻碍魔芋产业发展的一个重要因素。近年来, 很多研究者将植物组织培养技术应用于魔芋种球繁育上, 试图解决魔芋种苗短缺及品质不断下降的局面, 并取得了一定的研

究进展。但更多的研究皆停留在实验室阶段, 要将组织培养技术培育出来的种苗应用于生产, 仍然需要解决很多实际问题, 因而建立一套快速、有效的魔芋种苗繁育体系一直都是从事魔芋有关研究的学者们努力达到的目标^[1-16]。本研究以韶关当地野生魔芋的块茎作为材料进行组织培养试验, 试图摸索出其最佳的培养基配方及培养条件, 并逐步建立一套方便有效的魔芋优质种苗繁殖技术, 为魔芋种苗的人工快速繁殖以及大量推广创造良好的条件。

1 材料与方法

将野外取回的魔芋块茎洗净后晾干, 在净化工作台内去皮, 切成较大的组织块。将培养基和接种工具等在超净工作台紫外灯表面消毒 30 min。用 75% 乙醇浸泡 60 s, 转入盛有 0.2% HgCl₂ 的烧杯中表面消毒 18~20 min, 用无菌水洗涤 4~5 次, 在无菌培养皿中将大组织块切成 0.1~0.2 g 的小块, 浸泡于 10% 柠檬酸溶液中, 待接种用。用消毒过的镊子将外植体嵌入培养基中 (表 1)。然后在恒温箱中进行暗培养诱导愈伤组织形成, 温度为 (23 ± 2) °C。产生一定的愈伤组织后, 转为光培养诱导芽的分化。定期观察和记载外植体的变化、愈伤组织产生时间

收稿日期: 2006-11-10

基金项目: 广东省韶关市重点科技计划项目 (编号: 韶科教 2003-03)。

作者简介: 马崇坚 (1975—), 男, 广西容县人, 博士, 副教授, 研究方向为植物组织培养、植物生理学及发育生物学。E-mail: flyandy88@sina.com。

(上接第 102 页)

- [15] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164-165.
- [16] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进 [J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207-210.
- [17] 李德全, 邹琦, 程炳嵩. 植物在逆境下的渗透调节 [J]. 山东农业大学学报, 1989, 20(2): 75-80.
- [18] 李合生. 现代植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.

- [19] 周瑞莲, 王刚. 水分胁迫下豌豆保护酶活力变化及脯氨酸积累在其抗旱中的作用 [J]. 草业学报, 1997, 6(4): 39-43.
- [20] 赵天宏, 沈秀瑛, 杨德光, 等. 水分胁迫及复水对玉米叶片叶绿素含量和光合作用的影响 [J]. 杂粮作物, 2003, 23(1): 33-35.
- [21] 钱春, 刘素君, 尹克林. 水分胁迫对草莓膜保护系统的影响 [J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2005, 27(4): 541-546.

及发育状况。

表 1 魔芋块茎组织培养培养基的激素配比

处理	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)
a	1.0	0.1
b	1.0	1.0
c	2.0	0.1
d	2.0	1.0

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

魔芋块茎切块接种后,经过暗培养 1 周,表面逐渐褐化。2 周后开始在远离培养基的一面发生明显变化,状态为表面膨大,质地疏松,颜色为粉红色(图 1)。最早出现愈伤组织的为 b 培养基,愈伤形成时间为接种后第 11 d。第 13 d, d 培养基的外植体产生愈伤组织。第 15~21 d c 和 a 培养基均陆续出现愈伤组织。第三周部分外植体发生裂开现象,愈伤组织快速膨大,同时部分外植体出现白色和淡绿色的愈伤组织,质地比较致密,生长速度不如粉红愈伤组织。总体上说,无论是愈伤组织产生的数目还是体积上, d 培养基都表现出旺盛的生命力。



图 1 初期产生的愈伤组织

由表 2 可以看出,激素 NAA、6-BA 在 0.1~2.0 mg/L 浓度范围内,均能诱导愈伤组织的形成。6-BA、NAA 过高过低都不利于愈伤组织的诱导产生。在不同处理培养基下,外植体产生愈伤组织由快到慢依次为:b>d>c>a,外植体愈伤组织诱导率由高到低依次为:d>b>c>a。可见,诱导愈伤组织的最佳培养基为:MS+1.0 mg/L NAA+2.0 mg/L 6-BA,诱导率达到 47%±6.73%,其次为 MS+1.0 mg/L NAA+1.0 mg/L 6-BA,诱导率达到 43.7%±4.73%。6-BA 和 NAA 对魔芋愈伤组织的诱导有明显的促进作用,但有一定的差异。

本试验中可以看出这样一个规律:在 6-BA 同

种浓度的情况下,NAA 浓度大一组的诱导率高于浓度小的一组。在 NAA 低浓度的情况下,6-BA 浓度大的一组的诱导率高于浓度小的一组。当 NAA 浓度到达一定量的时候,6-BA 浓度的大小对外植体愈伤诱导率没有明显的作用。实验中还可以看出 b、d 配方的诱导率都优于其他两个配方。显示了相同浓度配比的生长素类激素和细胞分裂素类激素似乎更容易诱导愈伤组织的形成。

表 2 不同激素对外植体愈伤组织形成的影响

培养基	愈伤组织形成时间(d)	愈伤组织诱导率(%)
a	21	16.7±5.56
b	11	43.7±4.73
c	15	27.8±7.86
d	13	47.6±6.73

2.2 愈伤组织的增殖培养及再生植株的诱导

将愈伤组织分半转接于 b 和 d 培养基继续增殖培养,两周后,愈伤组织继续增大,分为粉红色、白色、淡绿色、淡褐色 4 种。粉红色愈伤组织质地疏松,生长速度快,能不断诱导愈伤组织,可作为增殖培养。白色、淡绿色愈伤组织质地较粉红色愈伤紧密,生长速度较缓慢,随着时间的推移逐渐变为淡褐色的愈伤组织(图 2)。2 种不同激素培养基对愈伤组织增殖培养发育状况的比较,质地方面两者没有明显差异。b 培养基中愈伤体积较大,说明细胞生长速度较快。d 培养基愈伤颜色以粉红为主,不如 b 培养基均匀。在第二周中期开始,观察到 b 培养基部分质地紧密的愈伤开始出现了凹凸的生芽点,第二周后期,粉红色愈伤继续膨大,白色、淡绿色、淡褐色愈伤陆续长出突起的圆点,即生芽点,其中更有为数不多的粉红色芽点冒出。相比 2 下 d 培养基仅仅处在缓慢增殖阶段。可看出:虽然 d 培养基是诱导愈伤组织的最佳培养基,但在增殖阶段,b 培养基中的愈伤组织生长状况总体比 d 培养基的愈伤组织生长状况好。换句话说,含植物调节生长调节剂较少的培养基有利于愈伤的增殖和芽的分化。

将每块愈伤组织切成 2~3 小块,转入 b 培养基进行进一步分化诱导培养。经过 20 d 左右,大多数愈伤组织的表面开始陆续出现凹凸不平的生芽点,其中小部分已经在表面冒出粉红色的芽点。15 d 后,带出芽点的愈伤组织分化出不定芽并形成不定根。而未分化形成生芽点的愈伤组织表面比较平滑,质地疏松,颜色呈粉红色。结果显示:质地疏松的愈伤组织生长速度快,能不断产生愈伤,但不会分

化成出芽点。质地紧密的愈伤组织生长速度慢,经过培养能分化出不定芽(图3、图4)。



图2 增大的愈伤组织



图3 愈伤组织分化诱导

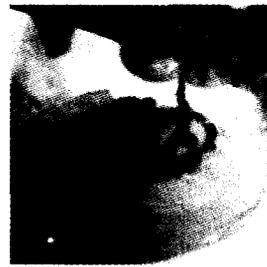


图4 魔芋再生植株

3 讨论

本实验经过多种培养基的筛选比较,发现培养基的激素成分及浓度对组织培养至关重要。在培养基的成分中可调节幅度最大的是植物生长调节物质,主要是生长激素和细胞分裂素的比例。在适当的培养条件下,不同浓度激素的培养基均能诱导愈伤组织的形成。6-BA 和 NAA 过高过低都不利于愈伤组织的诱导。诱导愈伤组织的最佳培养基为:MS + 1.0 mg/L NAA + 2.0 mg/L 6-BA,诱导率达到 $47\% \pm 6.73\%$,愈伤组织增殖和芽分化最佳培养基为 MS + 1.0 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA。

对魔芋材料进行诱导培养,取材时间差异关系到快速繁殖的成败。在生长季节剪取生长旺盛的部分作为外植体,容易形成愈伤组织和不定芽。当母株停止生长或进入休眠期,则不易诱导细胞分裂和分化。在进行组织培养研究时应进一步试验确定适合的取材时期^[4,12]。而对于植体大小而言,过大的外植体不仅浪费材料还容易造成污染,但外植体也不能太小,非常小的外植体,存活率很低。研究发现,将大的魔芋组织块切成约 0.1 ~ 0.2 g 的小块,最适合培养^[7]。由于自身组织从表面向培养基释放褐色物质,导致培养基逐渐变成褐色,外植体也随之进一步变褐死亡。为控制褐变,我们对培养条件采取了遮光暗处理;将组织块浸泡于 10% 柠檬酸溶液后待接种,并反复转移和在培养基中加活性炭吸附,褐变可大幅度减少,效果十分明显。

本试验通过植物组织培养方法获得了野生魔芋试管植株,并初步建立了较为有效的诱导方案,为进行大规模生产魔芋种苗提供了良好的技术支持。在后期的研究中,为提高魔芋试管植株增殖率和移植成活率仍需要做大量工作。如何将魔芋试管植株进

行便捷的保存与继代以及保证优质性状等方面,也有待进一步研究探讨。

参考文献:

- [1]李志孝,华苏明,陈耀祖. 魔芋研究的现状[J]. 甘肃中医学院学报,1989(1):56-58.
- [2]龙德清,刘传银,朱圣平. 魔芋的开发利用与研究进展[J]. 食品科技,2003(11):18-20.
- [3]吕世安,沈艳芬,陈永波,等. 魔芋组织培养及快繁技术研究[J]. 湖北民族学院学报,2003,21(2):6-8.
- [4]刘贵周,谢庆华,赵赵云,等. 魔芋组织培养技术研究进展[J]. 中国农学通报,2003,19(4):101-102,125.
- [5]苏承刚,张兴国. 南蛇棒魔芋的组织培养与植株再生研究[J]. 西南农业大学学报,2003,25(5):393-395.
- [6]苏承刚,张兴国,张盛林. 桂平魔芋组织培养研究[J]. 西南农业大学学报,2001,23(3):228-229.
- [7]顾玉成,吴金平,万进,等. 魔芋不同外植体诱导比较实验[J]. 中南民族大学学报:自然科学版,2004,23(3):17-19.
- [8]徐刚,王彩莲,慎玫,等. 魔芋在茎尖组织培养和植株再生的研究[J]. 生物技术,1994,4(1):19-21.
- [9]吴毅歆,隋启君,陈海如. 魔芋胞芽分化及植株再生的条件研究[J]. 云南农业大学学报,2004,19(2):184-187.
- [10]黄远新,何凤发,张盛林. 魔芋组织培养与快繁技术研究[J]. 西南农业大学学报,2003,25(4):309-312.
- [11]柳俊,谢从华,余展深,等. 魔芋离体繁殖研究[J]. 华中农业大学学报,2001,20(3):283-285.
- [12]吴毅歆,谢庆华. 白魔芋不同外植体的组培和分化条件初探[J]. 植物生理学通讯,2001,37(6):513-514.
- [13]王平华,张勇飞,高丽琼,等. 白魔芋不同外植体组培分化条件研究[J]. 西南农业大学学报,2001,23(1):64-65.
- [14]谢庆华,吴毅歆,张勇飞,等. 白魔芋外植体组培分化条件的研究[J]. 云南师范大学学报,2001,21(3):68-69.
- [15]曾昭初,罗鸿源,高翔,等. 白魔芋组织培养快速繁殖技术的研究[J]. 贵州农业科学,1997,25(1):30-31.
- [16]马林,张铃,李卫锋. 影响魔芋愈伤组织形成的几个因素[J]. 广西植物,2003,23(6):553-557.