



黄色马蹄莲的组织培养研究

陆方方, 邵果园, 陈晓梅

(西南大学 园艺园林学院, 重庆 400716)

摘要: 以黄色马蹄莲块茎为外植体组培试验结果: 最适合的灭菌时间为 0.1% 的 HgCl_2 消毒 15min; 在 MS 添加 $2.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的培养基上可以很好的诱导产生愈伤组织, 并且从愈伤产生丛生芽的数量也最多; 在 MS 添加 $1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的培养基上经过初代培养的芽丛可以健壮生长同时继续增殖出新的愈伤组织; 在不添加任何激素的 MS 培养基上马蹄莲生根率均可以达到 90% 以上, 且试管苗根系良好, 生长健壮。

关键词: 黄色马蹄莲, 组织培养, 愈伤组织

中图分类号: S682.264 文献标识码: B 文章编号: 1672-450X (2007) 03-0041-02

Study on Tissue Culture of *Zantedeschia elliciana*

LU Fang-fang, SHAO Guo-yuan, CHEN Xiao-mei

College of Gardening and Horticulture, South-west University, Chongqing 400716, China

Abstract: In this experiment, bulbs of caly lily's yellow varieties-*Zantedeschia elliciana* Engler, was used as explants. The results show that the best disinfectant time by 0.1% HgCl_2 was 15 min. The best medium for calli induction was MS + BA2.0mg/L 6 + NAA0.1mg/L with more cluster buds. Buds in the medium of MS + 1.0mg/L 6-BA+0.2mg/L NAA can grow well with new callus proliferation. In the MS medium without any hormone, rooting rate exceeds 90%, and the root grows very well.

Key words: *Zantedeschia elliciana*; tissue culture; calli

彩色马蹄莲 (*Zantedeschia elliciana* Engler) 是西南星科马蹄莲属多年生草本球根花卉植物^[1, 2], 原产非洲南部的河流、沼泽地中, 其花序具有大型的佛焰苞, 漏斗状, 似马蹄, 先端尖反卷。佛焰苞颜色分为黄花系和红花系, 每色系中颜色又有深浅变化, 有纯黄、金黄、浅黄、粉红、紫红、橙红、绿等靓丽的颜色。花瓣较厚, 呈丝绒的质感。其花序为肉穗花序, 上为雄蕊, 下为雌蕊 3 枚^[3]。彩色马蹄莲色彩艳丽、形态高雅, 不仅是切花中的佼佼者, 盆栽栽培也广泛受到人们的喜爱, 被公认为 21 世纪“花卉之星”。

彩色马蹄莲传统的繁殖方法为分球繁殖, 须在休眠期进行, 繁殖周期长, 繁殖系数低, 很难满足产业化生产的需要和市场需求^[4]。近年来, 马蹄莲组织培养方面的研究已有很多, 有的已经成功获得了组培苗^[5-8], 但其过程中仍存在着污染率高、生根效果不好以及移栽成活率较低等问题。我们在前人研究的基础上对黄色马蹄莲组织培养进行了一些研究, 为彩色马蹄莲品种复壮以及工厂化生产提供某些参考依据。

1 材料和方法

选取开花良好的黄色马蹄莲植株, 待花谢后挖出

球茎, 洗净泥土, 自然晾干。用 $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 GA_3 浸泡 3h, 促进萌芽。已萌芽的种球, 用软毛刷刷洗并轻轻刮去褐色表皮, 在中性洗涤剂溶液中浸泡 15min, 再经流水冲洗 1h 后, 切成表面 0.5cm^2 的小块, 每个小块带 1~2 个芽眼。

在超净工作台上, 把切割好的小块先用酒精浸泡 20s, 再用 0.1% HgCl_2 溶液浸泡 10~20min, 然后用无菌水冲洗 5~6 遍, 接种于添加不同激素组合的 MS 培养基上, 培养 10d 后观察污染率与返绿率, 得出最适合的处理时间; 培养 30d 后统计愈伤组织质量及诱导率; 然后转接到不同设计组合的增殖和生根培养基中, 20d 后统计增殖率和生根率。

培养基 pH5.8, 含白砂糖 3%, 卡拉胶 0.6%; 培养条件为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光照强度 2 000 lx, 每天光照 16h。

2 结果与分析

2.1 0.1% 升汞消毒时间对外植体的影响

从试验统计数据 (表 1) 来看, 随着升汞消毒时间的延长, 外植体的污染率呈下降的趋势, 但芽块的返绿率也明显下降。升汞处理时间过短 ($< 10\text{min}$), 外植体几乎全部污染, 而升汞处理时间 $> 20\text{min}$, 虽



然污染降低, 但外植体的返绿率很低。因此, 用0.1%升汞处理时间以15min为宜, 可有60%的返绿率和45%的无菌率。

表1 0.1%升汞消毒时间对外植体的影响

消毒时间 (min)	接种数	污染数	返绿数	污染率 (%)	无菌率 (%)	返绿率 (%)
10	20	20	18	100	0	90
15	20	11	12	55	45	60
20	20	6	5	30	70	25

2.2 6-BA对愈伤组织诱导的影响

在含6-BA的诱导培养基上, 10d左右芽眼周围相继萌发芽点, 同时芽块四周切口处开始出现突起, 继而出现大量愈伤组织, 一些愈伤继续分化产生绿色芽点, 并进一步长成芽丛。试验表明(表2): 培养基中不附加或附加低浓度6-BA(浓度 $< 1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)无法刺激产生愈伤组织, 只在芽眼处萌发少量的芽点, 是为侧芽的萌动; 附加6-BA浓度在 $1.5 \sim 3.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随着6-BA浓度的增加, 愈伤组织产生的数量增多, 增殖速度快, 愈伤产芽的数量先增加后减少; 6-BA浓度达 $2.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 产生的愈伤组织分化成芽的能力最强, 生长情况也好; 在6-BA浓度达到或超过 $2.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 多数愈伤组织和幼芽产生玻璃化现象。因此 $\text{MS}+6\text{-BA}2.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA}0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 是最适宜的诱导培养基。同时在试验中还发现, 该培养基上芽眼侧芽萌动的数量最多, 生长最好。

表2 6-BA对愈伤诱导与生长情况

6-BA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	培养 材料数	形成愈伤 数量	愈伤生长 情况	愈伤产生 丛芽的情况
0	30	0	----	0
1.0	30	2	较好	极少
1.5	30	9	较好	少
2.0	30	30	好	多
2.5	30	30	好	较少
3.0	30	30	较好	少

2.3 不同激素浓度组合对芽增殖的影响

在继代培养过程中, 带芽丛的愈伤组织在6-BA浓度为 $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{NAA}0.1 \sim 0.3\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的条件下, 基本没有新愈伤的产生和芽丛的分化, 仅见原有芽丛伸长、增高; 在6-BA浓度 $2.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的组合中, 愈伤组织可以继续增殖, 有大量芽点簇拥在愈伤组织的周围, 但芽丛增高速度极为缓慢; 在6-BA浓度 $1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的组合中, 仅产生少量新的愈伤, 但在原有的芽

丛不断增高的同时芽丛基部又分化出大量的芽丛。可见6-BA浓度以 $1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对芽的增殖效果最好。从统计数据看(表3), 适宜的继代增殖培养基是 $\text{MS}+\text{BA}1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA}0.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其诱导愈伤分化成芽和芽丛再分化产生的数量最多, 生长速度最快, 增殖系数最高(达4.73)。同时可以看出, 培养基附加的NAA在一定程度上起到了协助6-BA调节芽苗生长高度的作用。

表3 不同激素浓度组合对芽增殖的影响

激素组合 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)		接种 愈伤数	丛生芽 诱导数	增殖 系数	丛生芽生长 情况
0.5	0.1	30	83	2.76	A
	0.2	30	92	3.06	A
	0.3	30	101	3.36	A
1.0	0.1	30	126	4.20	A
	0.2	30	142	4.73	B
	0.3	30	111	3.70	B
1.5	0.1	30	92	3.06	B
	0.2	30	102	3.40	B
	0.3	30	95	3.16	C
2.0	0.1	30	101	3.36	B
	0.2	30	98	3.27	C
	0.3	30	99	3.30	C

注: A. 平均苗高在 $2.5 \sim 3.5\text{cm}$, 生长较健壮; B. 平均苗高在 $2.0 \sim 3.0\text{cm}$, 生长健壮; C. 平均苗高在 1.0cm 以下。

2.4 试管苗生根的诱导

将高度为 $2 \sim 3\text{cm}$ 的试管苗分别接种于不添加激素的 $1/2\text{MS}$ 和 MS 培养基上, 均能诱导黄色马蹄莲试管苗生根, 生根率达90%以上, 其平均生根数 MS 略高于 $1/2\text{MS}$; 前者苗的生长亦比后者健壮。因此, 用 MS 培养基即可获得较好的生根率和生长良好的根系, 有利于试管苗的移栽。

3 小结

本试验得出了彩色马蹄莲球茎芽眼块为外植体组培的最佳灭菌时间和最适合的诱导、增殖和生根培养基, 为其品种复壮以及工厂化生产提供参考依据。但是组培苗生长过程中所出现的黄化、畸形、玻璃化以及内生菌等问题还有待深入研究。

参考文献:

- [1] Singh Y, Van Wyk A E. Floral biology of *Zantedeschia Aethiopica* (L.) Spreng (Araceae) [J]. South African Journal of Botany. 1996, 62 (3): 146-150. (下转第47页)



试验区位于永胜县期纳区满官乡后山原试种区内的平田中农作地, 原作种过红薯、花生、玉米、豆类; 土壤为洪积扇上的冲积石砾土, 石砾含量高, 在深3m的剖面上可看到由于多次冲积而形成的粗细相间的多个石砾层次, 石砾间孔隙度大, 高山沿坡脚下渗的含水量高, 土壤pH值5.5~7.8; 其中设于金沙江边的桃园糖厂的一个点, 土壤为冲积沉淀土。实验中的大田接种试验、化防试验、袋苗实验都设在这些田块中。

病株在试区内零星分布, 受害的普遍性和严重度在不同的地块上表现不同; 在相同的地块分布也不均匀; 各龄苗木都有发生。感病植株出现叶片发黄, 随黄化程度的加剧, 叶片脱落, 枯萎, 死亡; 有的枯萎株进入生长期之后又能重新抽发新芽新枝, 有的死亡株则从根颈上萌生枝芽。检查受害株的根系, 大多在主根的主要侧根根端部分呈淡褐色死亡, 大多发生在离根颈40cm以外, 只有少数重病株死亡到根颈, 但根颈部位即使根系死亡仍可存活一段时间。

受害病根根系表现发育差, 数量少, 尤以侧根及根毛减少最为显著。少数病株还有从健根部位再抽发新根而使病情减轻和恢复生长的现象。病根的皮层淡褐色, 后期易剥离, 易剥离部分颜色明显加深; 病健交界处不整齐, 沿皮层发展的褐色条纹长度不超过0.5cm; 纵切病健部位, 健部方向的木质部, 导管变色延伸不显著。

3.2 病原分离与接种的结果

对感病和健康根系分别取样进行菌类的分离、纯化, 在室内盆栽苗和大田上进行接种, 证实了以尖孢

镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* Schlecht.) 为主的皮腐镰刀菌 (*F. solani* Sacc.)、木镰刀菌 (*F. equiseti* Sacc.)、串珠镰刀菌 (*F. moniliforme* Sheld.) 和单隔镰刀菌 (*F. dimerum* Penz.) 能引起感病^[7-8], 但是, 在接种中这些病原菌都表现出必须是根系生势衰弱时才能形成侵染, 未出现根系健壮生长时也能形成强力侵染的菌株类型。结合8月份病轻与旱季最重的观察结果, 又进行了水分条件的研究。

参考文献:

- [1] 武素功, 诸远章. 西蒙得木的特性及在云南干旱河谷中引种栽培的前景 [C]. 西蒙得木资料汇编 (油印本), 云南植物研究所, 1986: 36-46.
- [2] 朱大业. 我国的浩洛巴引种概述 [J]. 林业科技通讯, 1988: (9) 1-3.
- [3] 王惠英, 喻学俭, 等. 云南栽培的西蒙得木种子蜡的化学成分 [J]. 云南植物研究, 1989, 11 (1): 60-61.
- [4] 高捍东, 黄宝龙. 西蒙得木的栽培利用前景 [J]. 林业科技开发, 2000, 14 (5): 41-42.
- [5] 周元, 褚远章. 西蒙得木的引种栽培初报 [J]. 云南热作科技, 1996, 19 (3): 13-15.
- [6] Demetrios M. yermanos, Jojoba-A Crop Whose Time has Come [J]. California Agriculture Tuly Agust, 1979, 3 (7, 8): 4-7, 10-11.
- [7] 郭道森. 西蒙得木枯萎病研究 I [J]. 西南林学院学报, 1992, 12 (1): 44-53.
- [8] 郭道森. 西蒙得木枯萎病研究 II [J]. 西南林学院学报, 1993, 13 (3): 163-170.

(上接第34页) 推广种植; 其次是柯玛蒂尼巴斯玛, 可继续作为保山烟区的主栽品种; 红花沙姆逊、罗明2号-1、科库鲁·伊兹密尔、003F9等4个品种综合表现各有特点, 但低于对照克撒锡巴斯玛, 只宜小面积

种植, 继续观察研究。

致谢: 本文承蒙杨雄飞研究员审阅并提出修改意见, 谨此致谢。

(上接第42页)

- [2] 赵志昆, 赵英. 马蹄莲习性与切花生产 [J]. 北方园艺, 2003, (2): 42-43.
- [3] Welsh T E. The New Zealand calla. [J]. Combined Proceedings International Plant Propagators' Society. 1991, 40: 478-484.
- [4] 王宏志. 中国南方花卉 [J]. 北京: 金盾出版社, 1998.
- [5] 吴丽芳, 熊丽, 翟素萍. 彩色马蹄莲组培研究 [J]. 西南

农业大学学报, 1999, 21 (5): 423-426.

- [6] 王进忠, 高文, 高遐虹, 等. 粉色马蹄莲组织培养研究 [J]. 北京农学院学报, 2005, 20 (2): 10-13.
- [7] 范加勤, 张雯雯, 张娜, 等. 几个彩色马蹄莲品种的离体培养与快速繁殖 [J]. 南京农业大学学报, 2005, 28 (2): 28-31.
- [8] 林荣, 王秀琴. 马蹄莲的组织培养与快速繁殖 [J]. 广西植物, 1989, 9 (2): 97-102.