

# 花叶万年青的组织培养

丰 锋 梁 钊 贤 叶 春 海 陈 彪

(湛江海洋大学园林系·湛江)

**第一作者简历** 丰锋, 1993年西南农业大学本科毕业, 现在湛江海洋大学任教, 成果有:《香蕉良种快繁推广技术》获1996年湛江市科技推广一等奖;《生物技术基地建设与实践探索》获广东省第三届普通高校省级级教学成果二等奖和校级教学成果一等奖。

**摘要** 以“夏雪”品种为试材, 研究花叶万年青的组培快繁, 结果表明, 无菌材料的获得以  $MS+BA_5+IBA_{0.2}$  为最佳。快速繁殖阶段以  $MS+BA_5+Ad_{1-10}+IBA_{0.1-0.2}+30g/L$  糖为最佳, 6-BA与IBA的比值在10~50倍为宜。生根前一代用  $MS+BA_{1-5}+IBA_{0.1-0.2}+30g/L$  糖组合有利于芽苗长高, 生根培养用  $1/2MS+IBA_1+6-BA_{0.1}$ , 在快繁阶段, 接种物切块先固体培养 7~10d, 再转入同配方的液体培养基更有利于芽苗增殖。

**关键词** 花叶万年青 组培快繁

花叶万年青是耐荫的室内观叶植物, 而“夏雪”品种又为花叶万年青中的珍品, 其叶边缘绿色, 中央几乎全为黄白色, 有极高的观赏价值, 其繁殖靠常规扦插, 繁殖系数低, 出苗率不高, 很难满足市场要求, 采用组织培养方法可以在短期内获得大量优质种苗。

## 1 材料与方法

试验材料为花叶万年青顶芽和腋芽, 试验在湛江海洋大学生物中心香蕉试管苗厂进行。无菌材料的建立采用: 1.  $MS+BA_1+IBA_{0.2mg/L}$  (单位下同); 2.  $MS+BA_5+IBA_{0.2}$ ; 3.  $MS+BA_{10}+IBA_{0.2}$  三种培养基组合。快速繁殖阶段采用培养基为: 4.  $MS+BA_{10}+IBA_{0.2}$  组合, 当出现大量丛生小苗时转入培养基按  $L_9(3^4)$  正交表设计的试验组合 5~13号培养基, 其中, A因子为 6

-BA(6-苄氨基嘌呤), 设 6-BA<sub>1</sub> 6-BA<sub>5</sub> 6-BA<sub>10</sub> 三个水平; B因子为 Ad(腺嘌呤), 设 Ad<sub>1</sub> Ad<sub>10</sub> Ad<sub>20</sub> 三个水平; C因子为 IBA(吲哚丁酸), 设 IBA<sub>0.1</sub> IBA<sub>0.2</sub> IBA<sub>0.4</sub> 三个水平; D因子为白糖, 设 20g/L 30g/L 40g/L 三个水平。  $L_9(3^4)$  正交表中每一培养基组合均设固体培养和液体培养两部分。固体培养加卡拉胶 4.5g/L, 液体培养不加卡拉胶, PH值 5.8, 培养温度 25~28℃, 光照强度 1000~1500Lx, 每日光照 10h, 每处理接种 30瓶, 其中液体培养每瓶接 1块组织, 固体培养每瓶接 4块。接种培养物 30d后, 统计每一接种物增殖芽数及 2cm 以上芽苗数, 再把 2cm 以上芽苗转入生根培养基 14 1/2MSt-BA<sub>0.1</sub>+IBA<sub>1</sub> 和 15 1/2MSt-BA<sub>0.1</sub>+NAA<sub>1</sub>, 15d后观察生根情况。

## 2 结果与分析

2.1 无菌材料的获得 将消毒过的带腋芽或顶芽的茎段分别接种到 1 2 3三种培养基组合上, 7d后培养基 2上有腋芽开始萌动, 12d后培养基 1上腋芽开始萌动, 15d后培养基 3上腋芽才萌动, 经 25d培养, 培养基 2芽苗最粗也最长, 直径 0.5~1cm, 长 2~4cm, 芽苗诱导率 70%; 培养基 1居中, 芽苗长 1cm左右, 芽苗诱导率 50%; 培养基 3芽仅米粒大小, 芽苗诱导率 30%。说明对芽的诱导以  $MS+BA_5+IBA_{0.2}$  为最佳。

2.2 快速繁殖 把 1cm 长左右的芽苗纵切一刀, 接种到培养基 4上, 四个月左右, 部分切块上出现由许多球体联成的组织块, 并从每个绿豆大小的球体中分化出绿色不定芽, 这些芽一旦伸长便形成丛生苗。上述球体或丛生苗分割后, 移植于培养基 4上继代培养, 50d左右, 球体会分化出芽, 芽基周围分化出新芽, 个别芽伸长, 叶展开, 并在其茎上分化出数个新芽, 从而达到继代增殖的目的。以后每 40~50d继代一次可增殖 1~2倍, 第七代出现大量丛生小苗, 这些小苗有的来自腋芽萌发; 有的起源于叶柄的不定芽分化; 有的起源于茎的不定芽分化。出现大量丛生小苗转入按  $L_9(3^4)$  正交表设计的培养基组合 6-BA AD IBA 糖对芽增殖影响试验, 30d后统计每一接种物增殖芽数及 2cm 以

上芽苗数,并进行方差分析,见表 1 表 2 表 3 表 4 结果表明除了接种物增殖总芽数。在 IBA 三个水平间差异显著外,其余各因子间差异均极显著,同时液体培养每一接种物增殖芽数及 2cm 以上芽苗数均明显高于固体培养,说明液体培养更有利于芽的增值。对各因

表 1 液体培养接种物增殖芽数方差分析

| 变因 | df | SS     | MS     | F        |
|----|----|--------|--------|----------|
| 区组 | 1  | 1.335  | 1.335  | 2.692    |
| A  | 2  | 25.410 | 12.705 | 25.615 * |
| B  | 2  | 28.555 | 14.278 | 28.786 * |
| C  | 2  | 5.962  | 2.981  | 6.01     |
| D  | 2  | 10.038 | 5.019  | 10.118 * |
| 误差 | 8  | 3.97   | 0.496  |          |

表 2 固体培养接种物增殖方差分析

| 变因 | df | SS    | MS    | F         |
|----|----|-------|-------|-----------|
| 区组 | 1  | 0.021 | 0.021 | 3.5       |
| A  | 2  | 2.371 | 1.186 | 197.667 * |
| B  | 2  | 0.341 | 0.171 | 28.500 *  |
| C  | 2  | 0.079 | 0.040 | 6.667 *   |
| D  | 2  | 3.455 | 1.728 | 288.00 *  |
| 误差 | 8  | 0.047 | 0.006 |           |

表 3 液体培养 2cm 以上芽苗数方差分析

| 变因 | df | SS    | MS    | F         |
|----|----|-------|-------|-----------|
| 区组 | 1  | 0.05  | 0.05  | 1.724     |
| A  | 2  | 3.69  | 1.835 | 63.276 *  |
| B  | 2  | 9.474 | 4.737 | 163.346 * |
| C  | 2  | 7.709 | 3.855 | 132.931 * |
| D  | 2  | 6.861 | 3.431 | 118.31 *  |
| 误差 | 8  | 0.228 | 0.029 |           |

表 4 固体培养 2cm 以上芽苗数方差分析

| 变因 | df | SS    | MS    | F      |
|----|----|-------|-------|--------|
| 区组 | 1  | 0.001 | 0.001 | 1      |
| A  | 2  | 2.676 | 1.338 | 1338 * |
| B  | 2  | 0.47  | 0.235 | 235 *  |
| C  | 2  | 0.637 | 0.319 | 319 *  |
| D  | 2  | 0.627 | 0.314 | 314 *  |
| 误差 | 8  | 0.009 | 0.001 |        |

注:表 1 2 3 4 中  $F_{0.05}(2,8) = 4.46$   $F_{0.01}(2,8) = 8.65$

子间分别进行多重比较,表明:第一对每一接种物增殖总芽数而言,a.在液体培养中,6-BA<sub>1</sub>与 6-BA<sub>5</sub>间无显著差异,而它们与 6-BA<sub>10</sub>间差异均达极显著水平;Ad<sub>5</sub> Ad<sub>10</sub> Ad<sub>20</sub>相互间差异均达极显著水平;IBA<sub>0.4</sub>与 IBA<sub>0.1</sub>、IBA<sub>0.2</sub>间差异达显著水平,而 IBA<sub>0.1</sub>与 IBA<sub>0.2</sub>间无显著差异;30g/L糖与 40g/L糖间差异显著,30g/L糖与 20g/L糖间差异极显著,20g/L糖与 40g/L糖间无显著差异。b.在固体培养中,6-BA<sub>1</sub>、6-BA<sub>5</sub>、6-BA<sub>10</sub>三个水平相互间差异均极显著;Ad<sub>10</sub>与 Ad<sub>1</sub>间无显著差异,而它们与 Ad<sub>20</sub>间差异均极显著;IBA<sub>0.4</sub>与 IBA<sub>0.2</sub>间及 IBA<sub>0.2</sub>与 IBA<sub>0.1</sub>间差异不显著,而 IBA<sub>0.4</sub>与 IBA<sub>0.1</sub>间差异显著;30g/L糖与 40g/L糖间差异不显著,而它们与 20g/L糖间差异均极显

著。第二对 2cm 以上的芽苗进行多重比较,a.在液体培养中,6-BA 三个水平相互间及 Ad 三个水平相互间差异均极显著;IBA<sub>0.4</sub>与 IBS<sub>0.1</sub>间差异不显著,而它们与 IBA<sub>0.2</sub>间差异均极显著;20g/L糖与 40g/L糖间差异不显著,而它们与 30g/L糖间差异均极显著。b.在固体培养中,6-BA 三个水平间,Ad 三个水平间,糖三个水平间差异均极显著;IBA<sub>0.1</sub>与 IBA<sub>0.4</sub>间无显著差异,而它们与 IBA<sub>0.2</sub>间差异均极显著。

综合以上因素,并对各处理组合间进行多重比较表明:①同一培养基组合液体培养比固体培养更有利于芽的增殖,但液体培养中,接种物不宜切分,否则会出现组织液外渗,接种物渐变褐死去,可考虑把接种物切分后先接入固体培养基,7~10d 后再转入液体培养;②5~8 号培养基均有不同程度生根,尤其是培养基 8 号 100%生根。因此,当 6-BA 浓度低(1mg/L)时,IBA 浓度不能超过 0.2mg/L;③培养基 12 号、13 号两个组合接种物基本上不增殖,说明高浓度的 6-BA(10mg/L)加上高浓度 Ad(>10mg/L),低浓度的 IBA(<0.2mg/L)配比不利于接种物增殖,只有 IBA 较高浓度(0.4mg/L)的 11 号培养基组合较 12 号、13 号两个组合更有利于芽的增殖,说明对于芽的增殖 6-BA 与 IBA 的浓度比值在 10~50 倍之间为宜;④糖浓度以 30g/L 为宜;⑤组合间多重比较表明 MS+BA<sub>5</sub>+AD<sub>1-10</sub>+IBA<sub>0.1-0.2</sub>为有利于接种物增殖的培养基组合;⑥对于生根培养,2cm 以上芽苗才有意义,统计各培养基组合 2cm 以上芽苗数,并进行分析表明:MS+BA<sub>5</sub>+AD<sub>1-10</sub>+IBA<sub>0.1-0.2</sub>组合更有利于生根前一代的培养。

把 2cm 以上芽苗转入生根培养基 14、15、15d 后统计生根数,计算发根率,表明 1/2MS+IBA<sub>1</sub>+6-BA<sub>0.1</sub>更有利于生根培养。

### 3 讨论和结论

综上所述,无菌材料的建立以 MS+BA<sub>5</sub>+IBA<sub>0.2</sub>为最佳;快繁阶段 6-BA 浓度低、IBA 浓度高易引起接种物生根。因此,以 MS+BA<sub>5</sub>+AD<sub>1-10</sub>+IBA<sub>0.1-0.2</sub>+30g/L 糖为宜,6-BA 与 IBA 的浓度比在 10~50 倍之间为好;生根前一代用 MS+BA<sub>5</sub>+AD<sub>1-10</sub>+IBA<sub>0.1-0.2</sub>+30g/L 糖组合有利于芽苗长高,即降低 6-BA 与 IBA 的浓度比有利于芽苗生长;生根培养用 1/2MS+BA<sub>0.1</sub>+IBA<sub>1</sub>有利于根的生长;在快繁阶段,接种物切块先固体培养 7~10d,再转入液体培养更有利于芽苗增殖。

#### 参考文献

- 王怀宇等,花叶万年青的组织培养,植物生理学通讯,1984 4:57
- 谭文澄等编,观赏植物组织培养技术,中国林业出版社 1991 330-331 (邮编 524088)