

彩色马蹄莲组培快繁技术的研究

李国义, 龚束芳, 张丽梅, 朱祥春, 车代弟

(东北农业大学, 哈尔滨 150030)

摘要:以黄花马蹄莲(*Z. elliotiana*)和红花马蹄莲(*Z. rehmannii*)为试材,取不同部位进行培养,试验结果表明,MS为基本培养基,用沙和蛭石预培养有利于减少初代培养中的污染率,1%的HgCl₂中常规灭菌以10 min(分钟)为宜。培养基中加入6BA2.0 mg/L(毫克/升)+NAA0.5 mg/L(毫克/升)时,有利于茎芽发生丛生芽和愈伤组织。培养基中加入IBA—NaO.2 mg/L(毫克/升)有利于无菌苗生根。移栽基质以蛭石生根效果最好。

关键词:彩色马蹄莲; 组织培养; 愈伤组织

中图分类号:S682.2⁺64; S603.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001—0009(2004)02—0064—02

彩色马蹄莲(*Zabatadechia elliotiana* 和 *Z. rehmannii*)是天南星科植物马蹄莲属花卉,属多年生草本植物,具有肥大肉质块茎,叶基生,叶片翠绿。马蹄形佛焰苞片,色彩艳丽、形态高雅。彩色马蹄莲是白花马蹄莲的近缘种,不仅是极好的切花材料,盆花栽培也广泛受到人们的喜爱,被公认为21世纪“花卉之星”,深受广大消费者欢迎,有可能取代“球根花卉之王”百合的地位,具有极大的市场发展潜力。因此在盆花生产和切花生产上均需要大量的种球和种苗。

但是,由于彩色马蹄莲优良品种的传统繁殖只能采用分球方法,而分球法一般需在休眠期进行,繁殖周期长,繁殖系数小,因此,很难满足产业化生产的需要。近几年来,对马蹄莲的组织培养研究,已经成功获得了组培苗^[2,7],但是在培养过程中,还存在一些问题,如污染率高^[3],繁殖系数较小,生根效果不尽理想、移栽成活率不高等问题。针对以上问题,我们对彩色马蹄莲组织培养快速繁殖的条件和方法进行研究,为彩色马蹄莲工厂化快速繁殖提供参考依据。

1 试验材料与方法

黄花马蹄莲(*Zabatadechia elliotiana*)florexGold和红花马蹄莲(*Z. rehmannii*)Dominique两个彩色马蹄莲品种为试验材料,由大庆佳禾园林绿化有限公司提供。

取由土壤栽培和清洗后蛭石中预栽培两种栽培方式下,叶片、叶柄、块茎芽三种类型的外植体,经过清洗、灭菌(时间设置为叶片、叶柄灭菌4、6、8 min(分钟),球茎灭菌8、10、12 min(分钟))后,分别切成0.5 cm²~1 cm²(平方厘米)的小块,接种于MS添加不同激素的培养基上,2周后调查材料的死亡率、污染率。30 d(天)后调查愈伤组织的诱导率与芽的分化率。然后转接到不同设计组合的增殖和生根培养基中,调查其增长率和生根率。培养条件为温度27℃±1℃,每天光照16 h(小时),光照强度2 000 Lx(勒克斯)。

试管苗生根后,选择根系量和长势一致的生根幼苗,分别移栽于砂/草炭=1/1;珍珠岩/草炭=1/1;椰壳屑/草炭土;蛭

石5种栽培基质中,并定期浇灌稀释1 000倍的MS营养液。30 d(天)后调查幼苗成活率与根系生长状况。

2 结果与分析

2.1 两种栽培方式的不同类型外植体的灭菌方法与灭菌效果

从表1中可见,经蛭石中预培养的块茎,在相同灭菌时间内污染率与死亡率均较土壤栽培中直接取材灭菌的茎芽要低,其中以10 min(分钟)效果最好,污染率仅为20%,成活率可以达到75%以上。以幼叶和叶柄为外植体,常规灭菌时间以6 min(分钟)效果最好,污染率小于10%。

表1 不同外植体的灭菌方法与灭菌效果

项目	土壤栽培1%HgCl ₂ 直接灭菌						蛭石培养后1%HgCl ₂ 灭菌		
	叶片和叶柄			茎芽			茎芽		
灭菌时间	4	6	8	8	10	12	8	10	12
接种块数	60	80	60	60	80	60	60	80	60
死亡块数	2	5	36	0	3	9	0	4	7
死亡率	3%	6%	60%	0	4%	15%	0	5%	12%
污染块数	32	7	4	38	36	22	20	16	10
污染率	53%	8.7%	7%	63%	45%	35%	33%	20%	16%
成活率	44%	85%	35%	37%	51%	52%	67%	75%	72%

2.2 不同类型的外植体在不同的培养基中的愈伤组织诱导率和芽的分化率

无菌试管苗在不同培养基中经过30 d(天)后,诱导结果见表2。茎芽在培养基6BA2.0 mg/L(毫克/升)+NAA0.5 mg/L(毫克/升)中产生的丛生芽及愈伤组织最多,速度最快;6BA3.0 mg/L(毫克/升)+NAA0.5 mg/L(毫克/升)其次;6BA4.0 mg/L(毫克/升)+NAA0.5 mg/L(毫克/升)中愈伤组织虽然产生也较多,但是芽点较少,且有畸形芽出现;在6BA1.0 mg/L(毫克/升)+NAA0.5 mg/L(毫克/升)中,产生的丛生芽及愈伤组织均较少,并且出现单株小苗。叶片和叶柄在几种诱导愈伤组织的效果均较差,接种的100块中,大部分虽表现膨大,但只有6BA2.0 mg/L(毫克/升)+NAA0.5 mg/L(毫克/升)培养基上有一块叶片和一个叶柄产生少量愈伤

组织。

继续培养 60 d(天)后, 大部分芽块基部形成致密具绿色芽点的愈伤组织块, 并有大量不定小芽长出, 较大的不定芽高达 2 cm(厘米)。

表 2 不同激素浓度对外植体愈伤组织和幼芽形成的影响(在一个月)

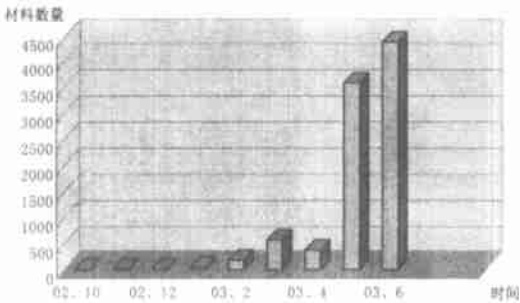
培养基中激素类型 与含量(mg/L)	叶接种 块数	叶形成愈伤 组织块数	茎芽接 种块数	茎芽形成幼 芽的块数	茎芽形成愈 伤组织块数
6BA4+NAA0.5	—	—	50	10	30
6BA3+NAA0.5	25	0	50	38	43
6BA2+NAA0.5	25	2	50	50	50
6BA1+NAA0.5	25	0	50	25	32
6BA0.5+NAA0.5	25	0	—	—	—

2.3 试管苗的快速增殖和继代培养

在愈伤组织和芽分化的基础上, 根据试管苗生长状况, 将彩色马蹄莲丛生块茎纵切, 切去过长叶片(叶高达 2 cm(厘米)以上), 保留块茎基部小叶, 每小块上保留 4~6 个小芽, 接种到含 6BA2.0 mg/L(毫克/升)+NAA0.5 mg/L(毫克/升)的 MS 培养基上。

经培养 1~2 周后, 在芽体周围开始形成丛生小芽, 培养 2~3 周, 叶片伸长, 叶高的可达 3 cm~4 cm(厘米)高, 最低不到 1 cm(厘米)。在密生小叶的块茎上仍可见到密生的萌动小芽体。

试验表明(图 1), 在 BA2.0 mg/L(毫克/升)+NAA0.5 mg/L(毫克/升)培养基上, 增殖速度在生根前 1 个月内, 每块愈伤组织可增殖 9 倍。



彩色马蹄莲组培快繁进程图

2.4 试管苗生根和壮苗培养

将继代增殖培养基中分化的高 2 cm~3 cm(厘米)的幼苗, 转入生根培养基 MS+NAA0.5 mg/L(毫克/升)和 MS+NAA0.5 mg/L(毫克/升)+IBA—Na0.2 mg/L(毫克/升)中进行生根壮苗培养。

2 周后, 在 MS+NAA0.5 和 MS+NAA0.5+IBA—Na0.2 培养基中的小苗生根率均达到 95% 以上, 根短而粗, 分布均匀, 白色, 2 cm~4 cm(厘米)长, 植株叶色浓绿。但在 MS+NAA0.5+IBA—Na0.2 中, 须根量较 MS+NAA0.5 多出两倍以上。

2.5 移栽基质对彩色马蹄莲组培苗驯化移栽成活率的影响

当生根苗根系达 2 cm(厘米)以上时, 打开培养瓶盖, 在室温下练苗 1 d—2 d(天)后, 将生根苗小心自瓶中取出, 洗去培养基。选择健壮且长势基本一致的不同级别的苗进行移栽, 1 个月后, 调查成活率与根系生长情况(表 3)。结果表明, 草炭、草炭/沙=1:1 和草炭/珍珠岩=1/1 不利于较小的组培苗的成活, 但是随着无菌苗的根系的发达程度的增加, 4 个根系以上的无菌苗在几种栽培基质中均可达到 100% 的成活率。根系生长状况以蛭石中的幼苗生根最为繁茂, 平均根量增加 6 倍。草炭最差, 平均根量增加 3 倍。

表 3 一个月后不同移栽基质中组培苗根系生长状况与成活率

级别	栽培基质				
	总根量比	草炭土	草炭/沙=1:1	草炭/珍珠岩=1/1	椰壳屑 蛭石
1	栽前/1 月后	20/38	20/61	20/63	20/84 20/156
	成活率	60%	70%	70%	80% 90%
2	栽前/1 月后	30/67	30/86	30/89	30/126 30/183
	成活率	70%	80%	80%	80% 90%
3	栽前/1 月后	40/118	40/189	40/178	40/165 40/243
	成活率	100%	100%	100%	100% 100%
4	栽前/1 月后	50/157	50/248	50/244	50/204 50/260
	成活率	100%	100%	100%	100% 100%

注: 每棵根系量 1 级: 1~2 条; 2 级: 3 条; 3 级: 4 条; 4 级: 5 条

3 结论

通过对彩色马蹄莲组织培养全部过程的研究, 我们得出以下结论: 用蛭石进行预培养可有效降低初代培养的污染率, 常规灭菌时间以 10 min(分钟)最好。彩色马蹄莲快繁的最佳外植体为块茎芽, MS+6BA2+NAA0.5 培养基诱导愈伤组织和芽的分化的效果最好。适应陆续成苗和大量、快速繁殖的要求。MS+NAA0.5+IBA—Na0.2 培养基对试管苗二次根系的发生具有很好的促进作用, 可同时提高壮苗率。蛭石中组培苗成活率和根系发生的效果最好, 此外, 组培苗长势, 尤其是根系量在 4 根以上, 移栽成活率最高。

参考文献:

[1] 谭文澄, 戴策刚主编. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991, 370.

[2] 吴丽芳, 熊丽等. 彩色马蹄莲组培研究[J]. 西南农业大学学报, 1999(5): 423~426.

[3] 李群, 陈丽萍等. 马蹄莲组培过程中真菌和细菌污染的消除方法研究[J]. 四川师范大学学报, 2001(6): 607~609.

[4] 齐力旺, 韩素英等. 马蹄莲的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(1): 30~31.

[5] 李倩中, 赵桂菊等. NAA、BA 对彩色马蹄莲品种“风韵”组织培养的影响[J]. 江苏林业科技, 1998, 25(增刊): 167~169.

[6] 王爱勤等. 马蹄莲块茎试管培养的研究[J]. 广西农业科学, 1998, (2): 92~94.

[7] 李群. 热水浴预处理对马蹄莲初代培养过程中污染的控制[J]. 四川师范大学学报, 2001, 5: 520~521.