

# 海芋根状茎的离体培养与植株再生

杨翠芹<sup>1,2</sup>, 刘运权<sup>2</sup>, 方颖<sup>2</sup>, 秦耀国<sup>3</sup>, 刘伟<sup>2</sup>

(1. 四川农业大学农学院, 雅安 625014; 2. 华南农业大学生命科学学院, 广州 510642 3. 四川农业大学林学院园艺学院 雅安 625014)

**摘要:**以海芋的根状茎为外植体, 探索了不同的生长调节剂配比对愈伤组织诱导、增殖与分化的影响。结果表明: 含 TDZ 0.5 mg/L 的 MS 培养基上愈伤诱导率最高, 达到 53.3%; 4mg/L BA+0.1 mg/L NAA 生长调节剂浓度有利于愈伤组织的增殖; 附加 1 mg/L BA +0.05 mg/L NAA 的培养基上芽分化率最高; 下表面切除 0.1~0.2cm 有利于愈伤组织增殖与分化。不定芽在无生长调节剂的 1/2MS 培养基中都能生根。

**关键词:** 海芋; 离体培养; 愈伤增殖; 分化

**中图分类号:** S 682.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)05-0212-02

海芋 (*Alocasia macrorrhiza*) 为天南星科海芋属大型长绿草本植物, 在我国主要分布于台湾、福建、江西、湖南、广东、广西、贵州、云南、海南等地的热带和亚热带地区<sup>[1]</sup>。海芋叶片姿态优美, 花形独特, 具有较高的观赏价值, 在园林和室内绿化中常有应用。但作为观赏植物, 海芋仍有一些性状有待改良, 如株形松散、叶色与花色单一、汁液有一定毒性等。据报道海芋属植物离体培养所用的外植体有顶芽<sup>[2,3]</sup>、球茎<sup>[4]</sup>、腋芽<sup>[5]</sup>、叶柄<sup>[6]</sup>。海芋的根状茎含有杀菌、抗虫物质, 并具有较高的药用价值, 用于治疗肿瘤、癌症等。以海芋根状茎为外植体进行离体培养还未见报道, 研究以其为材料建立了良好的再生体系, 以期能为海芋的离体快繁、生物技术育种及细胞培养生产药物等提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

海芋的根状茎, 采自华南农业大学校园内。

### 1.2 方法

**1.2.1 灭菌** 选一年生实生苗的幼嫩根状茎, 削去表皮, 切成 2~3cm 的小段, 流水冲洗约 2h; 在无菌条件下, 75%酒精灭菌 30s, 0.1%HgCl<sub>2</sub> 灭菌 10min, 再用无菌水冲洗 3~4 次。

**1.2.2 接种与培养** 将材料切成体积约 1.5×1.5×0.5cm<sup>3</sup> 的小块, 接种于愈伤组织诱导培养基: MS+3%蔗糖+1%卡拉胶+不同浓度配比的 BA、TDZ、NAA; 后转入愈伤增殖与分化培养基: 1/2MS+3%蔗糖+1.0%卡拉胶+不同浓度配比的 BA 与 NAA。

**1.2.3 创伤处理** 选取继代 2 次大小体积约 1.2×1.0×1.0 cm<sup>3</sup> 的愈伤组织, 施以不同的创伤方式: ①不做

创伤处理, 直接转接; ②将表面划深约 0.2cm 的伤口; ③将下表面切除约 0.1~0.2cm 厚的材料; ④将上下表面均切除约 0.1~0.2cm 厚的材料; ⑤将下表面切除约 0.1~0.2cm 厚的材料, 再将上表面划深约 0.2cm 的伤口。接种在 1/2MS+3%蔗糖+1.0%卡拉胶的培养基上。每次处理 20 个外植体, 3 次重复, 培养温度 24℃~25℃, 光照 16h/d, 光照度 1500~2000Lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 愈伤组织的诱导

从表 1 分析可知, 随着 TDZ 浓度的增加愈伤诱导率不断提高, 以 0.5 mg/L 时最高, 达到 53.3%; TDZ 在低浓度时与 NAA 结合使用较同浓度下单独使用, 愈伤诱导率明显提高; BA 浓度低于 5mg/L 时, 诱导率随浓度增加而增加, 超过 5mg/L 时诱导率有所下降。

表 1 不同生长调节剂配比对海芋愈伤组织诱导的影响

生长调节剂与浓度 (mg/L)			愈伤诱导率 (%)
TDZ	NAA	BA	
0	0	0	0
0.1	0	0	0
0.1	0.1	0	13.3
0.1	0.2	0	26.7
0.1	0.3	0	20.0
0.2	0	0	6.67
0.2	0.1	0	26.7
0.2	0.2	0	20.0
0.2	0.3	0	33.3
0.3	0	0	13.3
0.4	0	0	33.3
0.5	0	0	53.3
0	0	3	20.0
0	0	4	26.7
0	0	5	40.0
0	0	6	33.3
0	0	7	33.3

试验中观察到, 在含 TDZ 的培养基上, 6d 左右外植体开始变绿, 11d 左右外植体开始膨胀, 24d 左右从膨胀部位长出白色颗粒状愈伤组织。在含 BA 的培养基上, 材料不但变绿慢, 而且愈伤诱导所需时间较长。

**第一作者简介:** 杨翠芹(1980-), 女, 助教, 硕士, 主要从事植物发育与分子生物学研究。

**通讯作者:** 刘伟(1964-), 男, 教授, 博士。

**收稿日期:** 2007-01-15

2.2 不同生长调节剂及其浓度对愈伤增殖的影响

如表 2 结果, 不加生长调节剂的培养基的愈伤增殖数百分率与附加 TDZ 处理的无显著差异; 在 NAA 同为 0.1 mg/L 时, 附加 BA 与 TDZ 相比, BA 用于愈伤增殖较好, 且 4~6mg/L 的 BA 处理最佳, 能使愈伤增殖率达到 100%。

表 2 不同生长调节剂及浓度对愈伤增殖的影响

生长调节剂及浓度(mg/L)			愈伤增殖数百分率(%)
TDZ	BA	NAA	
0	0	0	93.5±4. 2a
0.2	0	0.1	81.3±8. 4a
0.4	0	0.1	93.8±4. 2a
0.6	0	0.1	87.5±5. 6a
0	4	0.1	100±0a
0	6	0.1	100±0a
0	8	0.1	81.3±8. 4a

注: 相同字母与不同字母分别表示在 5% 水平差异不显著与显著 (DUNCAN 法), 以下同。

2.3 愈伤组织的分化

当 BA 1 mg/L 时, 随着 NAA 浓度的升高, 芽分化率逐渐降低(如表 3), BA 为 2 mg/L 时, 芽分化率相等, 根分化率逐渐增多。以 1 mg/L BA+0.05 mg/L NAA 对分化芽最好。在大部分培养基上, 随时间延长, 大部分芽的基部会分化出根, 而且移栽时, 稍带愈伤组织不会影响苗的生长, 成活率达到 100%。

表 3 不同生长调节剂及浓度对愈伤分化的影响

生长调节剂及浓度(mg/L)		芽分化率(%)	根分化率(%)
BA	NAA		
1	0.05	86.7	6.7
1	0.1	73.3	12.1
1	0.2	66.7	66.7
2	0.05	80	6.7
2	0.1	80	56.7
2	0.2	80	56.7

2.4 不同创伤方式对愈伤增殖与分化的影响

由表 4 可知, ④与⑤处理的愈伤增殖数百分率及芽分化率均最高, 均达到 100%, 增殖的愈伤也可不断地分化成芽, 以增加芽数, 且其根分化率最低, 故此两种处理方式可用于芽的增殖; 如仅用于愈伤的增殖, ③处理较好。因此, 可根据不同的培养目的选取不同的创伤方式。

表 4 创伤方式对愈伤增殖与分化的影响

创伤方式	愈伤增殖数百分率(%)	芽分化率(%)	根分化率(%)
①	91.7±8.3a	100±0a	47.2±12.1a
②	88.9±11.1a	69.5±2.8b	41.7±12.7a
③	100±0a	88.9±11.1a	0±0b
④	100±0a	100±0a	0±0b
⑤	100±0a	100±0a	0±0b

2.5 生根与移栽

将不定芽转入含不同浓度 NAA 的 1/2MS 培养基中, 发现在附加 NAA 0.1~0.5mg/L 与不加生长调节剂的培养基都能生根。生成完整根系后室温下练苗一周, 移栽入珍珠岩与草炭土混合的基质中, 成活率达 100%。

3 讨论

在预试验中, 用叶与叶柄培养不但诱导不出愈伤, 而且随着培养时间的延长逐渐死亡; 种子消毒较困难, 剥离种胚诱导, 可诱导出愈伤, 但诱导量较少, 且采用种子作外植体要受到季节的限制。根状茎则没有这些缺点, 具有较高的愈伤组织诱导率与分化率。创伤对愈伤增殖与分化有一定影响, 可能与愈伤组织块上已开始分化的愈伤团被破坏的多少有关, 因为已开始分化的愈伤团被划伤或切伤后重新从创伤面诱导出愈伤组织, 而未创伤的就继续分化成芽; 此外还可能与创伤面积的大小有关, ③、④、⑤处理的创伤面积较①、②的大, 得到的愈伤增殖数百分率较大, 根分化率较小, 而芽分化率较大的原因有可能是已经分化成的芽的顶端生长点没有受到破坏或破坏数较少, 在后期的培养中这部分就进一步分化成芽。

参考文献:

[ 1 ] 可燕, 周秀佳, 柏巧明 等. 我国海芋属植物资源及利用[ J ]. 湖北农学院学报, 1999, 19( 1): 11-13.  
[ 2 ] Propagation of Alocasia through tissue culture[ J ]. Kasetsart Journal 1983, 17( 1): 37-41.  
[ 3 ] 朱根发, 张远能, 邹春萍, 等. 亚马孙海芋的组织培养和快速繁殖[ J ]. 植物生理学通讯, 2000 36( 1): 38.  
[ 4 ] Method for propagation of potatoes[ P ]. United States Patent. 1991. US 5 034 327, 6.  
[ 5 ] Micropropagation of ornamental Alocasia[ J ]. Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University. 2002 47( 2): 277-282.  
[ 6 ] Callus induction and plantlet regeneration in ornamental Alocasia micholitziana[ J ]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2003 73 ( 3): 285-289.

In Vitro Culture and Plantlet Regeneration with Rhizome of *Alocasia macrorrhiza*

YANG Cui-qin<sup>1,2</sup>, LIU Yun-quan<sup>2</sup>, FANG Ying<sup>2</sup>, QIN Yao-guo<sup>3</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>

(1. College of Agriculture, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014; 2. College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642; 3. College of Forestry and Horticulture, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014)

**Abstract:** Effects of different growth regulators combination on callus inducement, proliferation and differentiation were studied with rhizomes of *Alocasia macrorrhiza* as explants. Results showed that callus inducement rate was maximum and attained 53.3% in MS culture medium containing 0.5mg/L TDZ; It was advantageous for callus to proliferate with 4mg/L BA+0.1 mg/L NAA; Explants possessed the highest differentiation rate in culture medium with 1mg/L BA+0.05mg/L NAA. Callus excised 0.1~0.2cm thick in below surface was prone to proliferate and differentiat. When shoots were inserted into culture medium of 1/2MS, all of them produced roots.

**Key words:** *Alocasia macrorrhiza*; In vitro culture; Callus proliferation; Differentiation