

合果芋组织培养快繁技术研究

蒋亚莲, 桂 敏, 黎 霞, 龙 江, 吴 旻

(云南省农业科学院 花卉研究所 云南 昆明 650205)

摘 要:以合果芋幼嫩侧芽为外植体,研究了不同激素浓度对合果芋组织培养的影响。结果表明:用 0.1%的氯化汞溶液+3 滴 Tween20 对外植体处理 35 min,灭菌成功率达 75%;较好的诱导培养基为 MS+BA 5.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L,最佳的增殖培养基为 BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,最好的生根培养基为 MS+NAA 0.3 mg/L+IAA 0.2 mg/L;生根瓶苗置于室外自然光线下炼苗 7 d 后,移栽到珍珠岩:腐植土:壤土=1:1:1 的基质中,成活率可达 94%以上。

关键词:合果芋;组织培养;快繁;培养基

中图分类号:S 682.36;S 603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)03-0062-04

合果芋(*Syngonium Podophyllum* Schott),又名箭叶芋,为天南星科多年生常绿攀缘草本植物,原产于中南美洲热带地区,全世界广泛栽培,我国南方各省种植十分普遍。它除了广泛应用于室内盆栽观赏外,还可设立成绿色支柱造型,更多用于室外半阴处作地被覆盖,是一个极具发展潜力的观叶植物。

合果芋的常规繁殖方法为扦插或分株,分株繁殖通常在秋季至冬季。但繁殖系数较低,质量较差,整齐度低,成本较高,而且受季节的影响,种苗满足不了市场的需求。为此,探索一条规模化快繁技术十分必要,有关合果芋的组织培养研究国内已有报道^[1],但系统研究较少。试验以合果芋的侧芽为外植体,研究不同浓度 BA、NAA 和 IAA 对不定芽诱导和生根的影响,探讨适合合果芋离体快繁的最佳激素组合,并建立组培快繁的技术体系,为合果芋新品种选育和优质种苗工厂化生产提供技术支持与储备。

1 材料和方法

1.1 供试材料

取云南省农科院花卉所内 1 a 生无病虫害优选单株的幼嫩侧芽 60 个作为外植体,品种为‘金童子’。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的处理与消毒 将采回的外植体去除老叶部分,采集的侧芽由生物学基部至上约 1 cm 处以手术刀切断,此段即为需接种的外植体部分。将外植体用洗衣粉水清洗 2~3 次,洗时用手轻轻揉搓,洗后以清水冲净。用 75%的酒精溶液外植体表面消毒 1 min,用无

菌水冲洗 1 遍。将外植体平均分为 3 个处理,每个处理 20 个芽,用 0.1%的氯化汞溶液+3 滴 Tween20 对外植体分别按 35、30、25 min 的时间段进行灭菌后,以无菌水冲洗 2 次入超净台。然后用 0.2%氯化钠溶液 2 mL+3 滴 Tween 20 分别对各外植体进行灭菌处理 25 min,后用无菌水冲洗 2 次。将处理后的外植体分别接入 MS+BA 1+IAA 0.2 普通草本花卉常用的诱导培养基中,每组 20 瓶,为防止灭菌后的交叉污染,每瓶接入 1 芽,7 d 后观察结果,而后转入诱导培养基中。

1.2.2 诱导和增殖培养 不同诱导培养基的处理:将灭菌成功后的外植体平均分为 3 组,分别接入加有①BA 10+IAA 0.2 ②BA 5+IAA 0.2,③BA 1+IAA 0.2 的 MS 诱导培养基中,方法参照熊丽等编写的专著^[2]。每组 10 瓶,每瓶为 1 次重复。每瓶接入 1 芽,封口膜采用不透汽膜。以培养基失水时间来决定,30 d 为 1 个培养周期,第 2 个周期取出切分后,继续用上述 3 种培养基分别进行诱导,3 个周期后观察诱导出的不定芽总数及其生长情况,筛选合适的诱导培养基主成分,并在后续的培养中加以应用。不同增殖培养基的处理:配制 MS 为基本培养基的 3 组不同激素浓度:①BA 5+NAA 0.1、②BA 2+NAA 0.1、③BA 1+NAA 0.1 的增殖培养基,每组 10 瓶,将诱导出的丛生芽在超净工作台上切分为 0.5 cm²左右的小块,并将切分后的小块分别接入以上 3 组培养基中,每瓶 6 块,每瓶为 1 次重复,1 个周期后观察增殖培养后产生不定芽的总数和平均高度,计算繁殖系数,筛选最佳的增殖培养基激素浓度组合。

1.2.3 生根培养 增殖培养 2 个周期后,从增殖出的不定芽中切出长约 1.0 cm 左右单株粗壮幼苗分别接入不同激素浓度:①NAA 0.1、②NAA 0.5、③NAA 0.1+IAA 0.1、④NAA 0.3+IAA 0.2 的生根培养基中,每组 10 瓶,每瓶 10 株,每瓶为 1 次重复,1 个周期后观察生根

第一作者简介:蒋亚莲(1973-),女,实验师,现从事花卉组培快繁技术研究工作。

基金项目:云南省创新人才培引资助项目(2006PY04)。

收稿日期:2008-10-10

培养效果,统计总生根苗数、开始生根的天数、生根量和生根率,筛选最佳的生根培养基激素浓度组合。

1.2.4 过渡移栽 当生根培养基数达到一定数量时,选取已长出1 cm根毛的生根苗20瓶,要求每瓶生根苗数不低于20株。将它们置于室外光线下闭瓶培养,7 d后取生根苗150株,洗掉小苗根部的培养基,去掉基部发黄叶片,栽入灭过菌的基质中(设计3组基质:①净腐殖土;②腐殖土+珍珠岩3:1;③净珍珠岩),浇透水后以薄膜覆盖,湿度控制在90%以上,每周浇1次1/2MS营养液。进行室外过渡试验,每组基质过渡苗50株,单株重复,采用相同的水肥管理方法,30 d后观察统计各处理成活率、平均株高和根长,以筛选最佳的过渡方式和基质。

1.3 培养条件

室内培养条件光照时间10~12 h,光照强度2 000 lx,培养温度20~25℃,培养基含糖30%,琼脂7 g/L,pH 5.8。室外培养条件为光照时间12 h,光照强度4 000~10 000 lx,温度12~25℃。

2 结果与分析

2.1 灭菌效果

从表1可看出,处理1效果较好,灭菌成功率达75%,处理3较差,仅有30%,由此可见,浓度相同的情

表2

Table 2 Effect of explants inducing in different medium					
处理 Treatments	不定芽数 Number of adventitious buds/个	叶色 Leaf color	芽高 Bud height/cm	玻璃化程度 Extent of changing yellow or brown	生长势 Growth power
①MS+BA 10+IAA 0.2	8	绿	0.5~1	重	有较多愈伤组织,少量丛生芽
②MS+BA 5+IAA 0.2	30	深绿	0.8~1.2	无	有愈伤组织,有丛生芽
③MS+BA 1+IAA 0.2	5	深绿	0.8~1.4	无	无愈伤组织,有少量丛生芽

2.2 不同激素浓度对外植体增殖的影响

表3 不同激素浓度对外植体增殖的影响

Table 3 Effect of explants increase in different hormone concentration				
处理 Treatments	接种数 Number of explants	不定芽数 Number of adventitious bud	不定芽平均高度 Average height of adventitious bud/cm	繁殖系数 Propagated coefficient
①BA 5+NAA 0.1	60	170	0.9	2.8
②BA 2+NAA 0.1	60	320	1.4	5.3
③BA 1+NAA 0.1	60	210	1.5	3.5

表4 不同激素浓度对生根的影响

Table 4 Effect of root growth in different hormone concentration						
处理 Treatment	接种数 Number of explants/个	生根苗数 Number of rooting plantlets/个	生根天数 Days of rooting/d	平均生根数 Average Number of root/个	生根率 Rooting rate/%	表现 Results
①NAA 0.1	100	18	15	1.0	27	少,黄,粗
②NAA 0.5	100	12	20	1.0	7	少,黄,粗
③NAA 0.1+IAA 0.1	100	62	15	2.5	71	呈放射状,稀,白
④NAA 0.3+IAA 0.1	100	100	18	4.2	100	呈放射状,密,白

2.4 不同激素浓度对合果芋生根的影响

由表4可知,不同NAA和IAA浓度对合果芋生根的影响较大,激素浓度为NAA 0.3+IAA 0.1时,生根

况下,时间控制在35 min以下,30 min以上时灭菌效果最好,时间太长会增加死亡棵数,时间太短则会使污染数增加,影响灭菌成功率。

表1 不同灭菌时间对外植体灭菌效果的影响

Table 1 Effect of sterilized explants in different time				
处理 Treatments	污染棵数 Polluted plants/个	死亡棵数 Died plants/个	成活棵数 Survived plants/个	灭菌成功率 Survived rate/%
35 min	3	2	15	75
30 min	8	1	11	55
25 min	14	0	6	30

2.2 不同激素浓度对外植体诱导的影响

从表2可以看出,用②MS+BA 5+IAA 0.2培养基对合果芋外植体进行诱导培养,诱导的不定芽数和芽长势明显优于其它2个培养基。试验中观察到茎基部产生较明显的愈伤组织,在侧边可明显观察到不定芽的产生。第2个周期取出切分后,继续用此培养基进行诱导培养,30 d后,即可观察到基部已诱导出较多的丛生芽,高度在0.8~1.2 cm,小苗颜色正常生长势强,增殖数高。相反,培养基①诱导的状况虽然有较多愈伤组织、玻璃化较严重,只有极少的不定芽被诱导出来,质量较差。培养基③诱导的状况无愈伤组织、无玻璃化,但只有极少的不定芽被诱导出来。可见,用MS+BA 5+IAA 0.2培养基对合果芋外植体进行诱导培养效果良好。

从表3可以看出,激素浓度是影响不定芽长高的关键因素,处理③不定芽平均高度高于其它2个处理。处理①植株较矮,繁殖系数低,可见合果芋组培中BA浓度低则植株高,浓度超过5 mg/L则抑制不定芽分化。处理②的繁殖系数在4.3以上,在正常范围内并达到了组培快繁的高速度。可见,BA 0.2+NAA 0.1处理对合果芋的增殖效果最好。

效果最好,生根率可达100%,根系呈放射状,而且根密色白。IAA对促进生根有明显的诱导作用,未加IAA的处理中,生根时间相对较长,生根量少,根粗色黄。NAA

对根系诱导有明显的抑制作用, 处理①、②可以看出, NAA 浓度愈高生根率愈低。

2.5 不同基质对合果芋过渡效果的影响

从表 5 可以看出, 处理①基质过渡的平均苗高和根

表 5 不同基质对过渡效果的影响

Table 5

Effect of transplant result in different medium

处理 Treatment	移栽数 Number of transplant/ 个	成活数 Number of living/ 个	株高 Height of plant/ cm	根长 Length of root/ cm	茎叶色泽 Color of stem and leaf	成活率 Living rate/ %
①净腐殖土 Net humus soil	50	35	3.21	3.50	翠绿	70
②腐殖土:珍珠岩:壤土 Humus:perlite:soil=1:1:1	50	47	3.40	3.61	叶深绿	94
③净珍珠岩 Net perlite	50	20	3.01	2.88	叶深绿	40

2.6 练苗和移栽管理

已长根的合果芋组培苗移栽到装有基质的黑色塑料钵中, 浇透定根水, 并用 75% 的遮阳网遮荫, 相对湿度保持 85%~90%, 白天温度为 20~25℃, 夜晚温度为 15~18℃。每隔 7 d 浇 1 次水, 25 d 后用 0.5% 的复合肥 (N:P:K=15:10:15) 叶面施肥。10~15 d 定期喷洒 70% 代森锌可湿性粉剂 800 倍液, 防止叶斑病和灰霉病危害。一般情况, 组培苗移栽成活率达 90% 以上。

3 讨论

外植体灭菌是否成功是组培诱导成败的基础。由于合果芋茎秆内含有大量的分泌液, 且植株较矮, 幼嫩侧芽基本都是从靠近土壤生长, 故灭菌较难, 成功率最高也只有 75%。而试验采用的灭菌药物是氯化汞和氯化钠, 是否除以上 2 种药物外还有其它灭菌效果更好的药物, 有待进一步研究。

在植物组培研究中, 如何提高诱导率和增殖系数一直是各种植物组培快繁的关键, 都希望获得一个愈伤组织或不定芽诱导时间短、效率高、无玻璃化的理想激素配方, 但没有最好的, 只有更好的。该试验中, MS+BA 5+IAA 0.2 相对于其它 2 个处理是最好的配方。

不同激素浓度组合对不定芽分化的差异明显, 固定

长都优于其它 2 个处理, 而且成活率高达 94%。净珍珠岩效果最差, 主要是基质中养分含量不足所致。这说明合果芋适宜生长在土质疏松、富含有机质和排水良好的环境里。

NAA 或 IAA 浓度, 随着 BA 浓度的逐渐增加, 不定芽分化的数量和增殖率呈不断增加的趋势。但 BA 增加到一定浓度时, 相反会抑制不定芽的分化, 说明 BA 浓度与不定芽的增殖率成正相关, 但随着 BA 浓度的增加, 苗体的长势和叶色均受到一定的影响, 可能是高浓度的 BA 促进细胞衰老所致。因此, 不能以不定芽的分化数量作为衡量 BA 浓度的唯一指标。

一定浓度范围内, NAA 对诱导合果芋不定芽生根具有促进作用, 这与徐安辉^[3]的研究结果一致。但 NAA 浓度不能太高, 当 NAA 浓度达到 0.5 mg/L 时, 生根率反而下降。这说明高浓度的 NAA 对诱导生根会产生抑制作用。另外, IAA 对诱导生根也有很好的诱导作用, 在未加 IAA 的处理①、②中, 生根率较低, 只有 7%~27%, 而在加有 IAA 的处理③、④的处理中, 生根率大大提高到 71%~100%, 而且根系较好。该试验认为 NAA 0.3+IAA 0.1 是较为理想的诱导生根的激素组合。

试验采用过渡基质相对单一, 也可以采用其它的栽培基质进行试验, 如椰康、泥炭、菌渣饼和河沙等基质, 但总原则是选择价格较低和材料丰富的基质, 以便降低生产成本。



图 1 初代培养

Fig. 1 The introduction of explants



图 2 增殖诱导

Fig. 2 The reproduction



图 3 生根诱导

Fig. 3 Rooting introduction of buds



图 4 过渡移栽

Fig. 4 The transplant of in vitro plants

参考文献

- [1] 金礎. 合果芋试管微繁技术的研究[J]. 江苏林业科技, 2000 27(5): 35-37.
- [2] 熊丽, 吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 12.

业出版社, 2002: 12.

- [3] 徐安辉, 刘奕清, 陈泽雄, 等. 银叶合果芋离体培养与快速繁殖研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2007, 29(10): 134-138.

儿茶素对蝴蝶兰叶片离体培养褐变发生的影响

谭汝芳¹, 周文灵¹, 许传俊^{1,2}, 李 玲¹

(1. 华南师范大学 生命科学院 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广东 广州 510631; 2. 福建省亚热带植物研究所, 福建 厦门 361006)

摘 要: 用 0.3 g/L 儿茶素处理蝴蝶兰叶片外植体, 在 MS+3 mg/L 6-BA (pH 5.8) 培养基上培养 4 d, 外植体褐变率高于对照 227.6%。用香草醛-盐酸溶液染色反应法发现鞣质分布在维管束和细胞间隙。叶片剪切的外植体(培养 0 d)鞣质含量较高, 培养 4 d 降低, 8 d 后再升高。儿茶素处理的外植体鞣质含量明显高于对照。在培养期间, 儿茶素处理的外植体 PPO、POD 和 PAL 活性高于对照外植体, 其中 POD 活性在第 8 天达到最大值, PPO 和 PAL 活性在培养第 12 天达到高峰。

关键词: 儿茶素; 蝴蝶兰; 叶片外植体; 褐变; 鞣质

中图分类号: S 682.31; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)03-0065-04

蝴蝶兰(*Phalaenopsis* sp.) 在组织培养过程中, 外植体的褐变问题是影响培养成功的重要因素。有关褐变发生的条件和影响因素已有报道, 如培养基中蔗糖浓度增加到 4.0% 时, 容易褐化^[1]。MS 培养基中 Fe 盐含量增加会导致褐变情况加重, 6-BA 会影响褐变的发生, 光照强度增加导致外植体褐变加剧^[2]。蝴蝶兰叶片外植

体离体培养 5 d 开始出现褐变, 培养 14 d 外植体已经全部褐变, 证实蝴蝶兰外植体培养过程中细胞产生鞣质^[3]。用鞣质处理外植体是否影响其褐变的发生还不明确。

目前认为植物组织培养中的褐变主要是由酶催化引起的, 引起褐变的酶的底物主要是酚类化合物^[4]。在外植体褐变发生过程中, 过氧化物(POD)和多酚氧化酶(PPO)共同氧化酚成醌, 醌转变成缩合型鞣质, 最后形成褐色的聚集体。鞣质在褐变发生的作用与 PPO 和 POD 活性变化如何, 儿茶素类鞣质(简称儿茶素)是缩合型鞣质的代表^[5], 该试验研究儿茶素对蝴蝶兰叶片褐变发生的影响, 以及与过氧化物(POD)和多酚氧化酶(PPO)活性变化的关系, 为认识其在植物体组织培养过

第一作者简介: 谭汝芳(1981-), 女, 广东清远人, 硕士, 现从事植物生理学研究。E-mail: lilab@scau.edu.cn.

通讯作者: 李玲(1958-) 女, 湖南桂阳人, 博士, 教授, 博士生导师, 现从事植物细胞工程研究工作。E-mail: lilab@scau.edu.cn.

基金项目: 广东省科技计划资助项目(2005B20901019)。

收稿日期: 2008-11-11

In vitro Culture and Rapid Propagation of *Syngonium Podophyllum* Schott

JIANG Ya-lian, GUI Min, LI Xia, LONG Jiang, WU Min

(Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650205, China)

Abstract: The lateral tender buds of *Syngonium Podophyllum* Schott as explants were used. Effect on tissue culture of MS containing different content BA, NAA and IAA were studied. The results indicated that the rate of survived buds could approach to 75% when they were sterilized for 35 min in 0.1% HgCl₂+3 drops Tween20. The medium MS+BA 5.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L was suitable for introduction of callus or adventitious buds. The medium BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L was the best for multiplication. The optimum rooting medium was MS+NAA 0.3 mg/L+IAA 0.2 mg/L. After the rooting plantlets in vitro were treated for 7 d in natural light, they were transplant in medium containing humus, perlite and soil (1:1:1), the living rate of the plantlets could reach 94%.

Key words: *Syngonium Podophyllum* Schott; Tissue culture; Rapid propagation; Culture medium