

# 安祖花叶片组织培养的研究

牛红云<sup>1</sup>, 王 臣<sup>2</sup>, 薛贵彬<sup>3</sup>, 李凤兰<sup>1</sup>, 胡宝忠<sup>1</sup>

(1. 东北农业大学 生命科学院 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 哈尔滨师范大学, 黑龙江 哈尔滨 150025; 3. 黑龙江农业工程职业学院, 黑龙江 哈尔滨 150088)

**摘 要:**以安祖花的叶片为材料, 研究安祖花组织培养的适宜条件。结果表明: 最佳消毒条件为 0.1% 的升汞消毒 5~6 min; 诱导产生愈伤组织的最佳培养基为: 1/2MS+KT 0.1 mg/L+6-BA 0.05 mg/L+2.4-D 0.4 mg/L; 诱导产生丛生芽的最佳培养基为: 1/2MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 0.05 mg/L; 诱导生根的最佳培养基为: 1/2MS+NAA 0.05 mg/L。

**关键词:**安祖花; 叶片; 组织培养

**中图分类号:**S 682.1<sup>+</sup>4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)06-0162-03

安祖花(*Anthurium andraecium* Lind)又名大叶花烛、红掌, 天南星科安祖花属多年生附生常绿草本热带花卉, 原产热带美洲, 多数具有美丽的佛焰苞, 具有很高的观赏价值。安祖花通常采用分株繁殖, 育种时采用种子繁殖<sup>[1]</sup>, 偶有扦插繁殖, 但速度很慢<sup>[2]</sup>。黑龙江省目前生产主要靠引进荷兰的种苗, 然后进行分株繁殖, 但由于肉质根生长缓慢, 分蘖少, 难以扩大生产<sup>[3]</sup>。试验通过组织培养的方式提高安祖花的繁殖系数, 以摆脱靠进口种苗生产的不利局面, 来满足安祖花规模化、产业化生产的需求。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以安祖花种苗(哈尔滨欧亚花卉公司从荷兰进口)的幼嫩叶片为外植体。

### 1.2 试验方法

1.2.1 在 1/2MS 培养基上进行最佳消毒时间筛选 在无菌条件下用 70% 的酒精浸泡 30 s, 无菌水冲洗 1 次, 然后用 0.1% 的升汞进行消毒, 分别设消毒时间为 2、3、4、6、8 min, 最后用无菌水冲洗 6~8 次, 分割成所需大小进行接种, 进行培养观察。

1.2.2 在 1/2MS 培养基上进行最佳激素浓度的筛选 以 MS 为基本培养基, 加蔗糖 20 g/L, 琼脂 7 g/L, 水解乳蛋白 0.5 g/L, pH 5.8~6.2。附加不同浓度 6-BA (0.05~0.4 mg/L), 2,4-D (0.05~2.0 mg/L), KT (0.1~0.4 mg/L), 利用正交表  $L_6(4^3)$  进行正交设计, 筛选出最佳的诱导愈伤组织的激素浓度; 附加不同浓度的 6-BA (0.1~0.3 mg/L), NAA (0.1~0.4 mg/L), KT (0.05~0.2 mg/L),

利用正交表  $L_9(3^4)$  进行正交设计, 筛选出最佳的诱导丛生芽的激素浓度; 以 1/2MS 为基本培养基, 附加 NAA (0.05~0.2 mg/L), IBA (0.1~0.4 mg/L) 筛选出最佳生根培养基。

1.2.3 培养条件 培养温度为 25~28℃, 光照强度为 1 500~2 000 lx, 光照时间 8~12 h/d。

## 2 结果与分析

### 2.1 最佳消毒时间

由表 1 可知, 随着 0.1%  $HgCl_2$  消毒时间的延长, 初代培养物的污染率下降。消毒 4~6 min 时, 污染率急剧下降, 当消毒时间达到 8 min 时, 绝大多数的污染菌已被杀死。但褐化率随时间的延长呈直线上升, 其原因可能是在灭菌时  $HgCl_2$  游离出汞离子, 外植体受到汞离子的毒害而死亡。因此, 对安祖花初代培养的外植体用 0.1%  $HgCl_2$  消毒时, 消毒时间 5~6 min 有较好的灭菌作用, 但处理过的材料要多次用无菌水冲洗, 这样才能将残留的药剂洗净。在考虑低污染率的同时还应考虑降低褐化率, 因此不宜采用过长增加消毒时间的办法。

表 1 不同消毒时间对外植体的影响

消毒时间 / min	接种外植体 数 个	污染的外 植体数/个	污染率 / %	褐化率 / %
2	50	44	88	0
3	50	39	78	0
4	50	35	70	2
6	50	4	8	6
8	50	0	0	52

### 2.2 愈伤组织诱导培养基中 PGR 的筛选结果

在诱导愈伤组织的过程中, 采用 3 因素 4 水平的正交设计  $L_6(4^3)$ , 并设 3 次重复。在培养 20 d 后对萌动率及愈伤组织的状态进行调查, 调查结果如表 2 所示。

利用方差分析对所得数据进行处理表明, A、C 各因子水平间存在显著差异, 2 因子水平的改变对愈伤组织的诱导有极显著的影响, 而 B 因子的各水平改变对愈

第一作者简介: 牛红云(1975), 女, 黑龙江哈尔滨人, 在读博士, 讲师, 现从事植物发育生物学及分子生物学的教学与科研工作。

通讯作者: 胡宝忠(1962), 男, 博士, 教授, 现主要从事园林植物与观赏园艺方面的研究工作。E-mail: hubz@neau.edu.cn

收稿日期: 2009-12-20

伤组织诱导无显著的影响,故进一步对A、C 2 因子水平处理平均数差异进行多重比较,结果见表 3、表 4。

表2 PGR 浓度及对比对安祖花愈伤组织诱导的影响

组合	A	B	C	重复			平均值
	KT/ mg · L <sup>-1</sup>	6-BA/ mg · L <sup>-1</sup>	2,4-D/ mg · L <sup>-1</sup>	1	2	3	/ %
1	1(0.1)	1(0.05)	1(0.1)	46.7	33.3	39.7	39.9
2	1	2(0.1)	2(0.2)	13.3	6.70	8.90	9.6
3	1	3(0.2)	3(0.3)	22.2	20.0	26.7	22.9
4	1	4(0.4)	4(0.4)	73.3	76.3	71.1	73.6
5	2(0.2)	1	2	6.70	0.00	6.70	4.5
6	2	2	1	11.0	5.00	13.3	9.8
7	2	3	4	13.3	6.70	11.1	10.1
8	2	4	3	41.0	39.0	46.0	42
9	3(0.3)	1	3	6.70	6.70	4.50	5.9
10	3	2	4	66.7	66.7	64.5	65.9
11	3	3	1	20.0	13.3	17.8	17.0
12	3	4	2	2.00	6.70	7.70	5.5
13	4(0.4)	1	4	53.30	53.3	48.9	51.8
14	4	2	3	66.70	57.8	46.7	57.1
15	4	3	2	36.70	36.7	38.9	37.4
16	4	4	1	26.7	13.3	20.0	20.0

注:萌动率(%)=长愈伤的外植体数(个)/接种的外植体数(个)。

通过多重比较结果表明,A 因素的 A<sub>4</sub>、A<sub>1</sub> 水平下的处理无显著差异,故可以选用 A<sub>4</sub>、A<sub>1</sub> 2 个水平进行处理,即 KT 的浓度分别为 0.4 mg/L、0.1 mg/L; C 因素的 C<sub>4</sub> 水平显著好于其它水平,故选 C<sub>4</sub> 水平进行处理,浓度为 0.4 mg/L。由于 B 因素各水平间无显著差异,从降低生产成本的角度考虑选 B<sub>1</sub> (0.05 mg/L)。因此,试验诱导愈伤组织的最优组合是 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>4</sub> 及 A<sub>4</sub>B<sub>1</sub>C<sub>4</sub>。但是这并不能说在 3 种因素的配合下产生的愈伤组织越多其效果就越好,而要综合各方面的因素加以判断。结合愈伤组织的状态、颜色、进一步分化的效果以及降低药品消耗与降低生产本来考虑生长调节物质的最优组合,最佳植物生长调节剂组合为 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>4</sub> 即 KT 0.1 mg/L+6-BA 0.05 mg/L+2,4-D 0.4 mg/L。

表3 A 因素 4 水平新复极差测试结果

A 因素	平均值	0.5%	0.1%
A <sub>4</sub>	41.58	A	A
A <sub>1</sub>	36.53	A	A
A <sub>3</sub>	23.61	B	B
A <sub>2</sub>	16.65	C	B

表4 C 因素 4 水平新复极差测试结果

C 因素	平均值	0.5%	0.1%
C <sub>4</sub>	50.43	A	A
C <sub>1</sub>	32.00	B	B
C <sub>2</sub>	21.68	C	C
C <sub>3</sub>	14.25	D	C

2.3 芽分化培养基诱导中 PGR 的筛选结果

在芽诱导中采用 1/2MS 基本培养基,激素选用 6-BA、NAA、KT,采用 3 因素 3 水平的正交设计 L<sub>9</sub> (3<sup>3</sup>),

在培养 20 d 后对芽的分化率、增值率进行了调查,并对丛生芽平均分化率进行极差分析,结果如表 4 所示。

表5 PGR 浓度及对比对安祖花芽分化的诱导效果

处理 序号	D (6-BA)	E (NAA)	F (KT)	接种 块数	分化 块数	分化 芽数	分化率 /%	增值率 /%
1	1	1	1	120	32	54	26.7	45.0
2	1	2	2	120	38	82	31.7	68.3
3	1	3	3	120	27	51	25.5	42.5
4	2	1	2	120	76	128	63.3	106.7
5	2	2	3	120	51	105	42.5	87.5
6	2	3	1	120	64	115	53.3	95.8
7	3	1	3	120	54	103	45.0	85.8
8	3	2	1	120	107	171	89.2	142.5
9	3	3	2	120	41	85	34.2	70.8
T <sub>1</sub>	83.9	135	169.2					
T <sub>2</sub>	159.1	163.4	129.2					
T <sub>3</sub>	134.2	113	113					
R	75.2	50.4	56.2					

表 5 的极差分析结果表明,植物生长调节剂 6-BA 的水平不同产生的极差最大为 75.2,说明 6-BA 是影响丛生芽分化的主导因素。其次为 NAA 与 KT,二者的极差值相近。细胞分裂素 6-BA 与 KT 促进细胞分裂 促进芽的分化与增殖,因此对丛生芽数影响较大。在茎尖和腋芽诱导分化试验中,6-BA 的作用稳定,KT 活性较弱,单独使用效果不理想,6-BA、KT 与 NAA 搭配比 6-BA、KT 单独使用效果要好。

表 5 可以看出,对芽诱导效果最好的组合为 8 号,即:1/2MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 0.05 mg/L。在此植物生长调节剂的浓度组合下,诱导芽分化的分化率为 89.2%,芽增值率为 142.5%,并且芽分化的速度比较快,在接种后第 3 周开始便陆续开始分化,效果明显好于其它组合。

2.4 不同激素浓度对生根的诱导效果

试验以 1/2MS 为基本培养基,以 NAA 和 IBA 为 2 个种类,分 3 个水平进行试验,观察根的生长情况,并在 20 d 后开始统计生根率。从表 6 中可以看出,NAA 浓度越高,生根效果越差,当 NAA 的浓度为 0.05 mg/L 和 0.10 mg/L 时,生根率在 100%,NAA 为 0.20 mg/L 时,生根率为 70%,并且根比较细弱;而以 IBA 为主的培养基,培养效果普遍比较差 虽然在 0.10 mg/L 的浓度下,根比较粗壮,但生根率仅为 56.7%。所以,以 1/2MS+NAA 0.05 mg/L 为生根培养基最适宜。

2.5 移栽

当小苗长至 4~5 cm 时(约 3~4 片叶),就可进行移栽,移栽前试管苗现在实验室内打开瓶盖进行炼苗 4 d,然后用自来水冲净根部残留的培养基,然后移入由泥炭土:珍珠岩:腐叶土(1:1:2)组成的培养土中,荫蔽度为 90%,保持高湿度,适当遮光培养,10 d 左右长出新叶,成活率达到 85%以上。

表6 PGR 浓度及配比对生根的影响

序号	PGR/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	接种数	生根数	生根率/%	根的情况
1	NAA 0.05	30	30	100	粗壮
2	NAA 0.1	30	30	100	较粗壮
3	NAA 0.2	30	21	70	细弱(有愈伤发生)
4	IBA 0.1	30	17	56.7	粗壮
5	IBA 0.2	30	28	93.3	细(有愈伤发生)
6	IBA 0.4	30	10	33.3	细(有愈伤发生)

3 结论与讨论

在安祖花的组织培养过程中,用 0.1%升汞进行外植体消毒的最佳时间为 5~6 min,时间过长,外植体的褐化程度加深,并且影响其萌动。

在 1/2MS 基本培养基上诱导愈伤的最佳培养基为 1/2MS+KT 0.1 mg/L+6-BA 0.05 mg/L+2,4-D 0.4 mg/L,试验直接在叶片上诱导不定芽没有成功,这与以叶片、茎段为外植体诱导芽的产生,一般先产生愈伤组织后产生芽结论相同<sup>[4]</sup>。也有的以茎尖为外植体直接产生芽<sup>[5,6]</sup>,可选用其茎尖进行试验,以期直接获得不定芽,从而缩短繁殖周期。

诱导产生丛生芽的最佳培养基为: 1/2MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 0.05 mg/L,一般 6-BA

在较低浓度可得较多的芽,芽分化过多时也抑制节间的伸长,影响成苗;KT 诱导芽分化能力差,但能促进幼苗节间、叶片的伸长,容易成苗,将 6-BA 与 KT 搭配使用可得良好效果。

诱导生根的最佳培养基为 1/2MS+NAA 0.05 mg/L, IBA 生根效果差。李静<sup>[7]</sup>通过试验认为 IBA 可用于试管苗的瓶外生根,因此简化组织培养程序,降低成本。

参考文献

[1] 张秀省,黄勇.安祖花的栽培技术[J].特种经济动植物,2001(8):27.  
[2] 北京市花卉研究所.室内花卉一新引进的国外观赏植物[M].北京:中国经济出版社,1989:128-130.  
[3] 郑卓辉,柯宣东.红掌无性繁殖系的组织培养技术[J].广东农业科学,1999(4):27-28.  
[4] 李志荣.花烛的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,1997,33(3):162-163.  
[5] 张云开.白鹤芽试管苗快速繁殖及移栽试验[J].广东农业科学,1994(4):29-31.  
[6] 商遐虹,李梅.安祖花叶片的离体培养[J].北京农学院学报,1995,10(2):35-38.  
[7] 李静.几种名贵观赏植物的快速繁殖[J].河北农业大学学报,1997,20(1):30-35.

Studies on Tissue Culuture of The Leaf in *Anthurium andraeanum*

NIU Hong-yun, WANG Chen, XUE Gui-bin, LI Feng-lan, HU Bao-zhong

(1. College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. College of Life Sciences, Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang 150025; 3. Heilongjiang Agricultural Engineering Vocational College, Harbin, Heilongjiang 150088)

**Abstract:** By using leaves of *Anthurium andraeanum* as materials, the experiment was made to find out the best culture process and proper culture medium. The results showed that the explants sterilized in 0.1% aqueous mercuric chloride for 5~6 min had best effect; the preferable medium of callus was 1/2MS+KT 0.1 mg/L+6-BA 0.05 mg/L+2,4-D 0.4 mg/L; the preferable medium of differentiation was 1/2MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 0.05 mg/L; the preferable medium of rooting was 1/2MS+NAA 0.05 mg/L.

**Key words:** *Anthurium andraeanum*; the leaves; tissue culuture