

心叶喜林芋茎段植株再生技术体系研究

郑义红¹, 王永清¹, 李俊强²

(1. 四川农业大学 四川 雅安 625014; 2. 宜宾职业技术学院 四川 宜宾 644000)

摘要:以心叶喜林芋带芽茎段作外植体,建立了完善的组织培养体系。结果表明:外植体最适取材时间是春季,尤其是4月份;芽启动萌发的最佳培养基为MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,萌发率达88.86%;是增殖培养的理想培养基MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,增殖倍数可达5.7;最适生根培养基为:1/2MS+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.2 mg/L+0.1% AC,生根率可达100%;以珍珠岩:河沙:蛭石(1:1:2)为无菌苗的移栽基质,移栽成活率达到92.5%,且在基质温度达15~20℃,室温22~25℃时无菌苗生长情况最好。

关键词:心叶喜林芋;茎段;组织培养

中图分类号:S 682.360.36 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)06-0165-03

喜林芋属(*Philodendron*)是天南星科(Araceae)最富多样性的属,约有270多种,包含了许多著名的室内观叶植物^[1,2]。其中心叶喜林芋(*Philodendron gloriosum Andre*)是多年生蔓性观叶植物,叶片大、质地厚而晶莹浓绿,因其清雅飘逸,柱形美观大方深受人们喜爱^[3]。生产上常采用侧芽茎段做扦插繁殖,但扦插繁殖率太低,且浪费种源,而利用组织培养技术则可以在很短时间内快速繁殖,生产大批苗木,及时满足市场需求^[4,5]。关于心叶喜林芋的组织培养,目前仅有极少报道^[6],其报道中也没有详细地涉及关于取材时间,不同植物生长调节剂对不定芽诱导、增殖的影响,试管苗驯化适宜温度和练苗移栽等问题。试验旨在前人的基础上建立完善的心叶喜林芋组织培养体系,为利用植物组织培养技术加速心叶喜林芋的开发研究及工厂化生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

心叶喜林芋采自宜宾职业技术学院实验场苗圃。

1.2 试验方法

1.2.1 消毒 选健壮、无病虫母株,剪取生长力较强的侧芽茎段,用软毛刷刷净表面,流水冲洗0.5 h后转至超净工作台上,75%酒精浸泡12 s,0.1% HgCl₂消毒9 min,无菌水冲洗5~6遍,将带芽茎段剪成长0.5~1 cm长的小段,立即接种于诱导培养基上。

1.2.2 最佳取材时间的筛选 试验在3~12月,每月分别取生长旺盛、无病虫害的健壮心叶喜林芋的茎段接种在最适的初代培养基上,以期找到最适的取材时间。

1.2.3 培养基的筛选 试验采用正交设计,诱导和继代培养以MS为基本培养基,将不同浓度的生长素和细胞分裂素进行组合,分别见表1、表2。生根培养基为1/2MS,分别添加不同浓度的IBA(1.0、2.0、3.0、4.0、5.0)mg/L、NAA(0.1、0.2、0.3 mg/L)、AC(0%、0.1%、0.2%) (见表3)。MS培养基中蔗糖为30 g/L,1/2MS为20 g/L, pH5.8。培养温度是(25±2)℃,光照14 h/d,光照强度1500~2000 lx。每种组合为1个处理3次重复。每28 d计量1次,计量3次,调查和统计不定芽诱导率、芽数、芽生长情况、生根率、平均根数和根生长情况。

1.2.4 练苗移栽 试验分别于3~5月和10~11月进行移栽,将生根培养基中根系生长良好的试管苗取出,用75%百菌清浸泡30 min后栽入以不同比例珍珠岩、河沙、蛭石组成的基质中(见表4)。移栽后每7 d喷1次百菌清,每10 d喷1次营养液。

1.3 数据统计分析

试验数据借助Excel和SPSS 13.0 2个软件进行数据整理、差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同取材时间对外植体污染、褐变和萌芽的影响

由图1可知,取材时间对外植体褐变和污染有很大影响,在4月和12月取材,顶芽和带芽茎段,褐变率最低,为1.67%,在夏季取材,顶芽和带芽茎段褐变率均高,在8月份达到最大值,为15%,之后逐渐下降。不同取材时期对心叶喜林芋外植体的污染也具有较大影响。在冬季取材,外植体的污染率较低,12月份最低为1.67%,11月份次之为3.33%,说明冬季污染率最小。夏季污染率都较高,8月最高达到28.34%,秋季是病原菌最活跃的季节,外植体的污染率也较高,分别达16.67%和15%。

第一作者简介:郑义红(1984),女,在读硕士,现从事园林植物组织培养工作。E-mail: dahongscms@126.com.

通讯作者:王永清(1957),男,博士,教授,现主要从事植物发育生物学及分子生物学方面研究工作。E-mail: yqw14@sicau.edu.cn.

收稿日期:2009-12-20

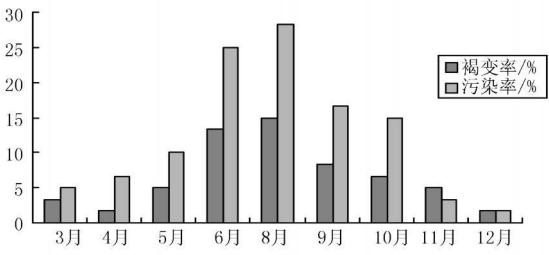


图1 不同取材季节对外植体褐变和污染的影响

由图2可知,取材时间对外植体萌芽也有一定影响,心叶喜林芋茎段芽萌发率在整个取材时期都比较高,均在70%以上,并以4月份的萌芽率最高,达到90.94%,夏季生长也较旺盛,然后逐渐降低。而在冬季,温度过低心叶喜林芋的生长已进入休眠状态停止生长,所以12月份取材的萌芽率最低,为70.68%。就外植体萌芽时间而言,春季生长旺盛,4月最短,19 d左右芽开始萌动,夏季和秋季逐渐增长,到冬季的12月需要46 d后才开始萌动。

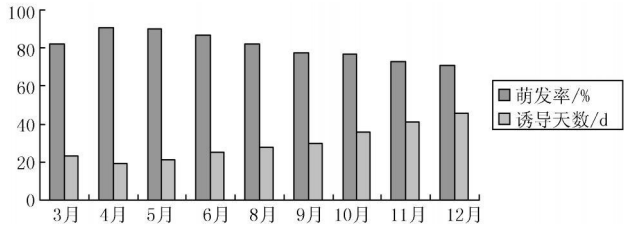


图2 不同取材季节对茎段萌芽的影响

2.2 不定芽的诱导

不同培养基的不定芽诱导结果见表1。处理7与其它处理差异极显著,为最好的配方。处理3、处理6、处理9极显著低于其它处理,且处理3与处理6、处理9之间在0.05水平上差异显著。

表1 不同处理组合对不定芽诱导的影响

处理编号	培养基/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	芽诱导率均值/%	不定芽生长情况
1	6-BA 1.0+NAA 0.05	67.80 dC	单芽,粗壮
2	6-BA 1.0+IBA 0.1	65.56 dC	单芽且矮小
3	6-BA 1.0+IAA 0.2	50.80 fD	单芽且矮小
4	6-BA 2.0+NAA 0.2	75.28 dB	芽较多,粗壮
5	6-BA 2.0+IBA 0.05	75.70 dB	芽较多,粗壮
6	6-BA 2.0+IAA 0.1	57.36 eD	芽较多,细弱
7	6-BA 3.0+NAA 0.1	88.86 aA	芽多,粗壮
8	6-BA 3.0+IBA 0.2	80.95 bB	芽多,粗壮
9	6-BA 3.0+IAA 0.05	56.30 eD	芽较多,细弱

注:数据用邓肯氏新复极差法进行检验(a, b=0.05 A, B=0.01),下同

对外植体的不定芽诱导反应进行比较可发现,6-BA浓度和生长素种类对茎段不定芽诱导的质量有较大的影响。当6-BA浓度为1.0 mg/L时,诱导的都是单芽,当6-BA浓度为2.0 mg/L或3.0 mg/L时诱导的则多数为丛芽;添加生长素种类为IAA时,诱导的芽比较细弱、矮小,而添加NAA、IBA激素的处理中,所诱导的芽则比较粗壮,叶子翠绿。因此,心叶喜林芋芽诱导的最佳配

方为6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

2.3 继代培养

由表2可知,随着NAA质量浓度的增大,芽苗增殖倍数呈现低—高一低的变化规律,相同质量浓度6-BA情况下,NAA为0.2 mg/L时的增殖倍数普遍大于0.1 mg/L和0.3 mg/L。固定NAA的质量浓度不变,随着6-BA质量浓度的加大,增殖倍数均呈递增趋势。6-BA 4.0 mg/L和5.0 mg/L时,增殖倍数均较其他浓度处理的大,但当6-BA为5.0 mg/L,芽苗长势较差,表现为叶薄,茎细弱,甚至约10%的瓶苗出现玻璃化情况。经多次继代后,分化的芽逐渐形成独立小植株,少部分长出细根,但极细弱。适合心叶喜林芋增殖的培养基为MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

表2 不同处理组合对心叶喜林芋增殖的影响

NAA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	6-BA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$				
	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
0.1	1.9 iGH	2.5 hFG	3.6 gE	4.8 cdBC	5.0 cdBb
0.2	1.5 iJHI	2.7 hF	4.3 eCD	5.7 aA	5.3 abAB
0.3	1.2 kI	1.9 iGH	4.1 fDE	5.2 bcAB	4.7 deBCD

2.4 生根培养

由表3可知,不同处理组合间无菌苗生根率存在显著差异,但整体生根率都较高,处理3、4、5、6、8、9几个配方生根率都达到100%。不同处理组合间无菌苗生根数量存在显著差异,处理6最高,为7.33条,显著高于其它处理组合。对无菌苗根生长情况进行观察发现,当培养基中不添加活性炭时,根都较粗短且无须根;当培养基中添加0.1%的活性炭时,根生长情况最好,根细而长,且根毛多,须根多,整条根都为浅绿色;当活性炭增加为0.2%时,根长度、根毛数和须根数都较0.1%活性炭时少。综合考虑生根率、生根条数、根质量,1/2MS+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.2 mg/L+AC 0.1%为心叶喜林芋无菌小苗生根最佳处理。

表3 不同处理组合对生根的影响

处理编号	培养基/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	小苗生根率/%	小苗生根条数/条	小苗生根情况
1	NAA 0+IBA 0.1	89.83eC	4.33eD	根细而短,须根少
2	NAA 0.05+IBA 0.2	96.12bB	5.33cdBCD	根粗而短,须根少
3	NAA 0.1+IBA 0.5	100aA	5.67bcdBCD	根粗而短,须根少
4	NAA 0+IBA 0.5	100aA	4.67dD	根细而长,须根多
5	NAA 0.05+IBA 0.1	100aA	6.67abAB	根细而长,根毛多
6	NAA 0.1+IBA 0.2	100aA	7.33aA	根细而长,须根多
7	NAA 0+IBA 0.2	96.40bB	5.00deCD	根细而短,根毛较多
8	NAA 0.05+IBA 0.5	100aA	6.33abcABC	根粗而短,根毛较多
9	NAA 0.1+IBA 0.1	100aA	4.33eD	根细而短,须根少

2.5 环境对试管苗移栽驯化的影响

不同季节对心叶喜林芋试管苗驯化结果可知,平均日温低于20℃,基质温度低于10℃时试管苗地下部分停止生长,叶片生长亦呈停滞状态。当平均日温20~25℃,基质温度15~20℃时,试管苗恢复生长迅速,平均每16 d萌发出1个新叶。

由表4可知,基质对试管苗驯化移栽的影响显著,在珍珠岩:河沙:蛭石(1:1:2)中的移栽成活率最高,为92.5%;在珍珠岩:河沙(1:1)中的成活率最低,为60%。

表4 不同栽培基质对无菌小苗移栽成活率的影响

移栽基质	珍珠岩:河沙 (1:1)	珍珠岩:蛭石 (1:1)	珍珠岩:河沙:蛭石 (1:1:2)	珍珠岩:河沙:蛭石 (3:2:1)
成活率/%	60.0aB	72.5bAB	92.5aA	85.0aA
小苗生长情况	长势差	生长良好	有少数干叶长势旺盛	长势旺盛

3 讨论

植物生长调节剂是组织培养中重要的调控因子^[7,9]。植物的器官分化受2大类激素(生长素和细胞分裂素)的互作控制^[10],在组织培养的不同阶段,要适当调节生长素和细胞分裂素的比值,通过多次试验,寻求一个最佳的比值达到最好的效果。试验中不同种类和浓度的生长素与6-BA组合的结果表明,6-BA浓度和生长素种类对茎段芽诱导的效果有较大的影响,同时还发现IAA不利于其芽的启动萌发。在同科属其它植物的组织培养中,初代培养基中6-BA浓度较高^[11-12],试验中6-BA浓度相对较小,其原因可能是由于品种不同造成的,也可能是由于外植体内源激素含量不同造成的,其原因有待进一步研究。

试验利用NAA和IBA生根效果很好,生根率达到100%,说明NAA和IBA是适宜诱导心叶喜林芋生根的植物生长调节物质,证明了心叶喜林芋属于易生根的植物^[5]。活性炭在组织培养中的作用主要是通过吸附培养基中某些物质来影响培养物生长发育^[13]。这些物质包括培养基中的激素、维生素、琼脂中的不纯抑制物等以及在生长过程中释放到培养基中的不良分泌物如酚类物质。这些物质中有些会严重影响培养物的生长及发育。试验培养基中添加0.1%的活性炭对心叶喜林芋

生根的促进作用可能与吸附这些有害物质有关。

不同比例的珍珠岩、河沙、蛭石对心叶喜林芋无菌苗移栽成活率影响较大,分析其原因可能是:根系的生长需要较湿润的基质,蛭石的保湿性、保温性均较好,珍珠岩吸水能力强,河砂的透水性好,保湿性差,故珍珠岩、蛭石、河沙的合理配比可以部分克服以上的缺点,创造适宜的湿度和通气条件。环境条件是影响无菌苗移栽驯化的因素之一,合适的外在条件能有效提高其成活率,使无菌苗在最短时间内恢复生长。因此,选择适宜的环境条件也是植物无菌苗移栽时的关键。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] Sasikalak, Bajravelu, Daniel, et al. Anisaema, Echinatum (wall) Schott; An addition to the Araceae of Peninsular India[J]. Journal of the Bombay natural history society, 2001, 98(3): 495-497.
- [3] 陈坤灿. 室内观叶植物[M]. 汕头: 汕头大学出版社, 2006.
- [4] 林伯年, 堀内昭, 沈德绪. 园艺植物繁育学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1994.
- [5] 朱根发. 天南星科植物组培快繁技术[J]. 花木盆景, 2001(6): 4-5.
- [6] 蒋泽平, 韩杰峰, 刘根林, 等. BA与NAA对红宝石、箭叶、心叶3种喜林芋试管苗增殖和生长的影响[J]. 江苏林业科技, 1999, 26(4): 26-28.
- [7] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.
- [8] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国林业出版社, 2002.
- [9] 谭文澄. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [10] Smulder M J M, Croes A F, Wallem G J. Polar transport of 1-naphthaleneacetic acid determines the distribution of flower buds on explants of tobacco[J]. Plant Physiol, 1988, 88: 752-756.
- [11] 兰贺胜. 红帝王喜林芋的组织培养和快速繁殖[J]. 西南农业大学学报, 1998, 20(4): 311-314.
- [12] 黄玉源, 张施君. 天南星科观赏植物重要品种及其繁育技术[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2002, 15(4): 54-59.
- [13] 卜学贤, 陈维纶. 活性炭对培养基中植物生长调节物质的吸附作用[J]. 植物生理学报, 1988, 14(4): 401-405.

Studies on the Tissue Culture of *Philodendron gloriosum* Andre

ZHENG Yi-hong¹, WANG Yong-qing¹, LI Jun-qiang²

(1. College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Ya'an Sichuan 625014; 2. Yinbin Vocational and Technical College, Yibin Sichuan 644003)

Abstract: Using stem segments as explants, systematic researches were carried out to develop a plant regeneration system for *Philodendron gloriosum* Andre. The results showed that the best season of isolating explants was spring, especially april; The medium MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L was suitable for bud sprouting, in which the bud sprouting rate was 88.86%; The medium MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L was suitable for the multiplication of shoots, resulting in a multiplication rate of 5.7; The optimum culture medium for rooting was 1/2MS+NAA 0.1 mg/L+IBA 0.2 mg/L+0.1% AC. The transplanting medium of perlite, sand and vermiculite by 1:1:2 was optimal, in which the ratio of survival could reach 92.5%, and the plants could grow normally when medium temperature and room temperature reached 15~20℃ and 22~25℃ respectively.

Key words: *Philodendron gloriosum*; tissue culture; stem segment with bud