

花叶绿萝的组织培养与快速繁殖

张 瑜¹, 关 力¹, 杨 晓 贺²

(1. 黑龙江农业职业技术学院,黑龙江 佳木斯 154007;2. 黑龙江省农业科学院 佳木斯分院,
农业部佳木斯作物有害生物科学观测实验站,黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:分别以绿萝茎尖、茎段(不带节)、叶片、带节茎段作为外植体,在不同培养基上对花叶绿萝进行不定芽的诱导、继代、生根以及移栽等研究,以期在短时间内获得大量性状优良的花叶绿萝种苗,建立其快繁体系。结果表明:最佳的外植体是带节的茎段,最佳的不定芽诱导培养基和增殖培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,诱导率和增殖率均为 100%,而且增殖的不定芽数量较多,可达 7~10 个;生根培养基以 1/2MS+NAA 0.5 mg/L 为最好,生根率 100%,而且幼苗长势旺盛。可以利用该方法建立花叶绿萝的快繁体系,实现其规模化生产。

关键词:绿萝;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S 682.36 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2012)12—0155—03

花叶绿萝(*Scindapsus aurus* cv. *Wilcoxii*)为天南星科绿萝属常绿大型攀援藤本植物,叶片心形光亮呈嫩绿色,有黄色斑纹,金绿镶嵌,十分美观,常作柱式盆栽或悬垂式盆栽,广受青睐^[1]。特别是随着人们环境意识的增强,花叶绿萝的需求量和需求范围更是在逐年扩大,然而,到目前为止,关于花叶绿萝的研究报道却很少,我国对花叶绿萝的研究主要集中在传统的扦插繁殖方面^[2~3],扦插繁殖不仅繁殖速度慢,而且费工费时,很难满足规模化生产的要求,因此,生产上迫切需求高抗优质的优良品种以及快速高效的繁殖方式^[4~5]。该试验采用植物组织培养的方式利用带节茎段直接再生途径对花叶绿萝进行快速繁殖,简化了操作步骤、缩短了周期、降低了生产和劳动成本,为花叶绿萝的产业化生产提供有效途径,同时也为花叶绿萝遗传转化研究奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料来自于黑龙江农业职业技术学院无土栽培实训基地,分别选取生长健壮的无病虫害植株的茎尖、茎段(不带节)、叶片、带节茎段作为外植体。

1.2 试验方法

试验于 2009 年在黑龙江农业职业技术学院植物组织培养实验室和实训基地进行。

1.2.1 材料灭菌 材料取来后,先用小毛刷轻轻刷去表

面的污垢,置于烧杯中用纱布包好烧杯口,置于 4℃条件下处理过夜,然后于流水下冲洗 30 min 以上,转入超净工作台,将外植体材料先用 75% 酒精消毒 30 s,再置入 0.1% 的升汞溶液中消毒 10 min,最后用无菌水冲洗 5~6 次,备用。

1.2.2 初代培养基的筛选 以 MS 为基本培养基,添加不同浓度的激素,蔗糖 3%,琼脂浓度 0.7%,pH 5.2~5.7,对外植体进行培养,每个处理接种 32 个,2 次重复,以筛选出最适的诱导激素配比。初代培养基配方:
①6-BA(1.0 mg/L)+NAA(0.1 mg/L);②6-BA(2.0 mg/L)+NAA(0.1 mg/L);③6-BA(1.0 mg/L)+NAA(0.5 mg/L);④6-BA(2.0 mg/L)+NAA(0.5 mg/L)。

1.2.3 继代培养基的筛选 分别以①、②为增殖培养基,对绿萝进行进一步培养,以求筛选出最佳的继代培养基配方。

1.2.4 生根培养基的筛选 当绿萝生长到一定高度(大约 3~5 cm)后,就可置于生根培养基上进行生根培养,分别以配方⑤、⑥为生根培养基,对绿萝的生根情况进行统计,每个处理接种 30 株花叶绿萝无根幼苗,2 次重复,以筛选出最佳的生根培养基。生根培养基配方:⑤ 1/2MS+NAA 0.1 mg/L 蔗糖 3%,琼脂浓度 0.7%,pH 5.2~5.7;⑥1/2MS+NAA 0.5 mg/L 蔗糖 3%,琼脂浓度 0.7%,pH 5.2~5.7。

1.2.5 培养条件 将灭过菌的叶片切成 0.5 cm×0.5 cm 的小块(带中脉),正面向上接种到初代培养基上;将灭过菌的带节茎段和不带节茎段切成 1 cm 左右的小段,竖直置于初代培养基中。在 23~27℃ 条件下培养,光照时数 10 h/d,光照强度 2 000~3 000 lx,空气相对湿度为

第一作者简介:张瑜(1981-),女,黑龙江佳木斯人,硕士,讲师,现主要从事生物技术与应用研究工作。E-mail: zhangyu7992@163.com。

收稿日期:2012—03—19

80%~90%。

2 结果与分析

2.1 不同外植体对初代培养的影响

由表1可知,绿萝诱导产生不定芽的最佳外植体为带节茎段,出芽率为100%,而且诱导周期短,产生的新芽质量较好,颜色浓绿;其次是茎尖,茎尖出芽率为92.2%,出芽率较高,质量也较好,但是会受到取材的限制;茎段(不带节)诱导产生的愈伤组织较多,出愈率为95.3%,但是愈伤组织在诱导过程中的褐化现象较为明显,如果处理不当,很难进行继代增殖培养;叶片的诱导率最低,出芽率为0,出愈率为14.0%,而且大部分的叶片边缘都褐化死亡。综合以上结果,认为绿萝诱导培养最佳的外植体是带节的茎段。

表1 不同外植体对初代培养的影响

外植体部位	总数/个	出芽率/%	出愈率/%	死亡率/%
茎尖	64	92.2	7.0	0.8
茎段(带节)	64	100.0	0	0
茎段(不带节)	64	0	95.3	4.7
叶片	64	0	14.0	86.0

2.2 不同激素对初代培养的影响

将带节的茎段分别置于初代培养基的4个配方中,经过20 d的培养,发现节间周围会有不同程度的不定芽长出,但是在不同激素梯度下,诱导率明显不同。由表2可知,配方②6-BA(2.0 mg/L)+NAA(0.1 mg/L)出芽率最好,为100%,不定芽长势旺盛、茎节粗壮、叶片肥厚,其它激素配比虽然也能诱导产生不定芽,但诱导率都不如配方②。

表2 不同激素对初代培养的影响

配方	总数/个	出芽率/%	出愈率/%	死亡率/%
①	64	82.8	6.2	11.0
②	64	100.0	0	0
③	64	70.3	4.6	25.1
④	64	78.1	3.1	18.8

2.3 不同激素配比对继代培养的影响

将节间产生的不定芽置于①、②2种不同激素配比的培养基中进行继代培养,每20 d更换1次培养基,经过一段时间的培养,得出以下结果。配方②中的激素配比(6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L)产生不定芽较多,有7~10个,幼芽叶片较小,不定芽粗矮密集,这种形态的不定芽最有利于快繁增殖。而绿萝组培苗在①(6-BA为1.0 mg/L,NAA为0.1 mg/L)中增殖时,产生的不定芽较少,只有2~3个。而且幼芽叶片较大,茎段细长,年繁殖倍数低,不利于快繁增殖。

2.4 不同激素配比对生根培养的影响

待小苗到3~5 cm时即可将其转移到⑤、⑥配方中进行生根培养。由表3可知,配方⑥中NAA为0.5 mg/L时,生根率最高,为100%,而且平均每株苗生

根数≥4,根系粗壮。而配方⑤NAA为0.1 mg/L时,根系纤细、根数少。说明NAA对绿萝的生根有着明显的促进作用。当苗长到5~6片叶时即可练苗、移栽。

表3 不同配方对绿萝生根的影响

配方	接种幼苗数/株	生根率/%	每株苗的根数	生根质量
⑤	60	90	1~2	纤细
⑥	60	100	4~5	粗壮

2.5 驯化移栽

将生根的组培苗在温室的散射自然光下练苗4~5 d,注意中午太阳直射时需遮荫。组培苗练苗后颜色深绿,取出苗洗净根部培养基,将其移栽到苗床上。切记不要伤根同时还要注意苗床土质一定要疏松、透气、保水,可以采用肥沃田园土、蛭石、草炭土等组成,这样的土壤有利于绿萝苗的生长。组培苗移栽管理期间,要求温度在25~30℃,保持85%以上空气相对湿度^[6]。早晚要注意保温,中午要通风透气,还要采用间歇喷雾浇水的方法,保持叶面湿润。5 d后,移栽的组培苗开始长出新生根时幼苗开始生长,15 d后生长出第1片新叶,30 d后统计成活率在90%以上。幼苗成活后应施叶面肥。培育绿萝小苗要放在没有日光直射的条件下,不然会导致新叶变小,叶色暗淡。在25~30℃的高温季节,绿萝生长迅速,5~6 d便能抽出新叶,30~40 d后能长出5~6片叶,便可销售,满足市场需求。

3 结论与讨论

该试验的最佳外植体为带节茎段,最佳的不定芽诱导培养基和增殖培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,诱导率和增殖率均为100%,生根培养基以1/2MS+NAA 0.5 mg/L为最好,生根率100%,而且幼苗长势旺盛。

研究发现,在天南星科植物组织培养中,植物生长调节剂对外植体的形态建成及其调控起着十分关键的作用,其种类的选择和浓度的配比影响着植株的再生方式和再生频率^[7~13],因此,该试验在各阶段配方筛选中,着重对植物生长调节剂浓度在外植体不定芽的诱导、不定芽分化与增殖及生根等过程中的重要调节作用进行研究,研究结果表明,细胞分裂素6-BA在不定芽的诱导和不定芽的分化中作用最为明显,且最佳的浓度是2.0 mg/L,这与郭英等^[14]的报道一致,但与王越铭等^[15]报道的3.0 mg/L 6-BA结果有所不同,另外,该试验结果表明,生长素NAA的生根效果很显著,最佳浓度为0.5 mg/L,这与黄凤兰等^[4]的研究结果也不相同。在试验中发现,产生的不定芽和愈伤组织要及时继代,如果继代不及时,褐变的现象比较严重,所以一定要把握继代的时机。另外,活性炭具有一定的吸附作用,在培养基中可以进行适量添加,试验表明,添加活性炭的植株褐变率远远小于没有添加活性炭的植株,活性炭添加量

最佳为 0.2%。

该试验主要通过直接途径实现离体再生,该途径变异率小、快繁周期短、种苗质量好。虽然花叶绿萝市场前景很好,但还是品种较少,希望在今后的研究工作中,能将组织培养和转基因技术结合起来,培养出更多优质的新品种,更好地满足市场需求。

参考文献

- [1] 王越铭,李康.绿萝的组织培养及快速繁殖[J].新疆农业科学,1998(3):138-139.
- [2] 罗林会,王勤,韩露,等.花叶绿萝水培技术[J].西南园艺,2005,33(3):49.
- [3] 罗林会,王勤,韩露,等.花叶绿萝水培技术[J].特种经济动植物,2005(6):27.
- [4] 黄凤兰,梁冰,卢宝伟,等.小叶绿萝的组织培养技术研究[J].北方园艺,2004(6):76-78.
- [5] 张兴翠.花叶绿萝的多倍体诱导及快速繁殖[J].西南农业大学学报,2004,26(1):58-60.
- [6] 李凌明.植物组织培养教程[M].北京:中国农业大学出版社,1996.
- [7] 韩美丽,唐玉贵.几种天南星科萌生观叶植物组织培养研究[J].广西林业科学,1998,27(2):52-56.
- [8] 朱根发.天南星科植物组培快繁技术[J].花木盆景,2001(6):4-5.
- [9] 白丽,高山林.半夏组织培养诱导胚状体的正交试验[J].植物资源与环境学报,2003,12(4):12-20.
- [10] 王怀宇,陈明昭.花叶万年青的组织培养[J].植物生理学通讯,1987(4):57.
- [11] 高挺,陈继敏,杨振明,等.海芋的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2006(5):91.
- [12] 鲁雪华,郭文杰.皇宝石的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2001,37(4):530-531.
- [13] 谢向坚,王秀华.琴叶树的组织培养与快速繁殖[J].广东园林,1991,51(4):37.
- [14] 郭英,梁国鲁.小叶绿萝同源多倍体诱导研究初报[J].西南园艺,2002,30(4):1-3.
- [15] 王越铭,李康.绿萝的组织培养及快速繁殖[J].新疆农业科学,1998(3):138-139.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Scindapsus aurus*

ZHANG Yu¹, GUAN Li¹, YANG Xiao-he²

(1. Heilongjiang Agricultural College of Vocation Technology, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. Branch of Jiamusi, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pests of Jiamusi, Ministry of Agriculture, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: Chosen stem tip, the stem section (without bud), young leaves and the stem section as explants, adventitious buds induction, subculture, rooting and transplanting in different hormone levels and media were studied. The results showed that the stem section was the best explant. The best medium was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L for adventitious buds induction and subculture, the induction rate and subculture rate were all 100%, the quantity of adventitious buds was 7~10; The best medium of rooting medium was 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L, the rooting rate was 100% and the seedling growth vigour exuberantly. The method should be used to establish the rapid propagation system and realize scale production for *Scindapsus aurus*.

Key words: *Scindapsus aurus*; tissue culture; rapid propagation