

红掌组培快繁技术研究

何贵整, 陈丽文, 时群, 吴红英

(钦州市林业科学研究所, 广西 钦州 535000)

摘要:以红掌的顶芽、茎段、叶片、叶柄等为外植体, 通过以芽繁芽方式或愈伤组织诱导芽途径诱导无菌芽, 并获得再生植株, 以期建立一套完善的红掌组培快繁技术体系。结果表明: 改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基组合最适合红掌以芽繁芽的增殖芽, 繁殖系数达 4.5 以上; 而改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L 培养基组合更适合愈伤组织分化芽和增殖芽, 芽繁殖系数达 5.8 以上; 最好的生根培养基为 1/2MS+NAA 0.5 mg/L。

关键词:红掌; 外植体; 以芽繁芽; 组培快繁技术

中图分类号:S 682.1⁺4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)22-0115-04

红掌(*Anthurium andraeanum*)为天南星科(Araceae)花烛属(*Anthurium*)多年生附生常绿草本花卉^[1], 别名花烛、安祖花、火鹤花、红鹅掌, 性喜温热多湿而又排水良好的环境, 怕干旱和强光暴晒。其适宜生长昼温为 26~32℃, 夜温为 21~32℃。所能忍受的最高温为 35℃、最低温为 14℃。其株高一般为 50~80 cm, 因品种而异。具肉质根, 无茎, 叶从根茎抽出, 具长柄, 单生、心形, 鲜绿色, 叶脉凹陷。花腋生, 佛焰苞蜡质, 正圆形至卵圆形, 鲜红色、橙红肉色、白色, 肉穗花序, 圆柱状, 直立, 四季开花。

红掌原产于南美洲热带雨林潮湿、半阴的沟谷地带, 现在欧洲、亚洲、非洲皆有广泛栽培。荷兰在红掌的系统研究中居于领先地位。我国于 20 世纪 70 年代开始引种栽培。红掌作为珍贵的观赏花卉, 观赏价值极高, 深受人们的喜爱, 已跻身于国际市场, 且市场上的需求量越来越大, 我国 2008~2010 年红掌盆花的需求量逐年递增 30%。目前, 我国盆栽红掌生产用苗主要从荷兰进口, 如安祖公司、瑞恩公司都是荷兰著名的红掌种苗生产供应商。我国对红掌的组培快繁技术的研究已取得了一定的成效, 特别是广东、云南等省走在全国的前列, 但仍然存在繁殖系数偏低、继代苗保存难等问题, 特别是广西至今尚未建立高效快繁生产技术体系。目前, 广西所用的红掌种苗几乎是从广东购进, 而广西的红掌需求量近年来更是成倍增长。开展红掌的组培快繁技术研究, 研制出一套高效、实用的组培快繁技术体系, 不仅

可以形成红掌产业化生产, 给广西市场和周边城市, 乃至东盟邻国提供优质的红掌种苗和盆花, 以满足目前不同市场的需求, 而且能加快广西花卉产业化的进程, 提高了技术水平, 有效提高花卉产业的经济效益。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试红掌品种为“大哥大”、“阿拉巴马”等, 取其顶芽、茎段、叶片、叶柄等作外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌材料的获得 于晴天选取生长健壮、无病虫害的红掌植株, 剪取幼嫩叶片、叶柄、茎段、顶芽等作外植体, 在无菌条件下将外植体进行灭菌处理, 并介入培养基中进行培养, 操作方法: A: 茎段、顶芽→75%酒精浸泡 30 s^[2]→无菌水冲洗 2~3 次→0.1% HgCl₂ 灭菌 15 min→无菌水冲洗 4~5 次→切成 1~2 cm 长, 接入培养基中, 暗培养 7~10 d。B: 嫩叶片和叶柄→75%酒精浸泡 30 s→无菌水冲洗 2~3 次→0.1% HgCl₂ 灭菌 10 min→无菌水冲洗 4~5 次→切成约 0.5 cm 长小段, 接入培养基中, 暗培养 7~10 d。

1.2.2 芽增殖培养 诱导及继代增殖培养基本培养基为 MS、Nitsch 培养基以及改良 MS 培养基, 并添加不同浓度、不同种类的激素, 蔗糖 20~30 g/L, 进行诱导培养基和继代培养基的筛选。A: 以芽繁芽方式分化增殖芽: 将不经过愈伤组织获得的无菌芽转至培养基进行芽增殖培养; B: 通过愈伤组织分化增殖芽: 将获得的愈伤组织无菌材料切下转至培养基上可不断增殖继而分化形成丛生芽。

1.2.3 生根培养 生根培养在 1/2MS 培养基的基础上进行调配, 蔗糖 15 g/L, pH 值均为 5.8~6.0。芽条长至 1.5 cm 时, 将小芽从丛生芽上单个切下转至生根培养基

第一作者简介:何贵整(1966-), 男, 高级工程师, 现主要从事林木和花卉的引种栽培及无性繁殖技术研究工作。

基金项目:中央财政林业技术推广示范资助项目([2011]TG03)。

收稿日期:2012-07-23

上诱导生根。生根培养需要在弱光下进行培养,逐渐长成完整的小植株。

1.2.4 瓶苗移栽 当生根瓶苗高 2 cm 以上,生长正常、叶色浓绿、根系发达,并经过练苗后,将其移栽到温室大棚培养,让小苗逐渐适应外界环境,培育托盆苗。

2 结果与分析

2.1 不同部位外植体受污染情况分析

外植体的选取关系到是否能成功诱导出无菌芽及愈伤组织是组培快繁成功的第一步,为了探讨不同部位外植体对污染率、诱导率的影响,分别选取红掌的茎段、顶芽、叶片、叶柄为外植体,按照常规方法进行灭菌操

表 1 不同部位外植体受污染情况分析

外植体	培养基	外植体/个	污染数/个	污染率/%	萌动时间/d	萌动数/个	诱导率/%	备注
顶芽	Nitsh+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	50	40	80	20	7	14.0	直接诱导芽
茎段	Nitsh+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	50	26	52	22	21	42.0	直接诱导芽
叶片	MS+6-BA 2.0 mg/L+2,4-D 0.2 mg/L	40	22	55		0	0.0	
叶柄	MS+6-BA 2.0 mg/L+2,4-D 0.2 mg/L	40	18	45	60	5	12.5	形成愈伤组织
顶芽	改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L	50	30	60		25	25.0	直接诱导芽
茎段	改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L	50	22	44		35	70.0	直接诱导芽
叶片	改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L	50	30	60		0		
叶柄	改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L	50	25	50		0		
顶芽	改良 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L	50	28	56		6	12.0	直接诱导芽
茎段	改良 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L	50	30	60		15	30.0	直接诱导芽
叶片	改良 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L	50	25	50		0		
幼嫩叶柄	改良 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L	50	23	46		0		
顶芽	1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L	50	41	82	58	8	16.0	形成愈伤组织
茎段	1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L	50	32	64		0	0	
幼嫩叶片	1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L	50	30	60	60	12	24.0	形成愈伤组织
幼嫩叶柄	1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L	50	26	52	62	15	30.0	形成愈伤组织

2.2 不同抗生素对外植体培养过程中污染的控制作用

外植体诱导培养过程中,将轻微污染的材料转入含不同浓度抗生素的培养基中,抗生素种类选用硫酸阿米卡星及头孢唑林钠稀释溶解,并加入到装于 500 mL 大三角瓶中灭菌后冷却至 60℃左右的培养基中,摇匀,分装于广口瓶中。培养温度(25±2)℃,相对湿度 60%~80%,光强 800~2 000 lx,光照时间 12 h/d,培养基加入抗生素的浓度分别为 0、5、10、20、30 mg/L。试验结果表明,轻微污染的材料接种到加入抗生素的培养基中,外植体的污染程度得到一定的控制,不影响材料正常生长。对严重污染的材料可用 0.05% HgCl₂ 灭菌 6~10 min,无菌水冲洗 5~6 次;或用 50 mg/L 青霉素钠、10 mg/L 庆大霉素消毒 40 min,无菌水冲洗 3~6 次,等方法处理后,转入含抗生素的培养基中,可有效抑制污染的发生。将污染的红掌试管苗转接到添加不同浓度抗生素的培养基上,40 d 后观察结果见表 2。由表 2 可知,随着抗生素浓度的增加能有效抑制细菌的生长繁殖,同时,随着抗生素浓度的增加对红掌试管苗增殖和生长也有一定的影响,当浓度达 30 mg/L 以上时,尽管控制污染的效果增强,但增殖系数有所降低,叶片出现黄化现象,影响红掌正

常生长;由此可见,过量加入抗生素也会抑制试管苗的增殖与生长,而适量加入抗生素,则可明显改善污染红掌试管苗的生长情况,使污染的试管苗得以再利用。结果表明硫酸阿米卡星浓度为 10 mg/L 的抑菌效果较好,对红掌试管苗的生长影响最小,适合在外植体诱导和继代增殖中应用效果良好。

表 2 抗生素浓度对受污染试管苗的污染程度及生长状况的影响

处理	抗生素	抗生素浓度 /mg·L ⁻¹	污染程度	生长状况	增殖 系数	株高 /cm	根数 /条
1	硫酸阿米卡星	0	+++++	叶、茎绿色	0	1.5	0.3
2	硫酸阿米卡星	5	+	叶、茎绿色	4.0	3.0	3.2
3	硫酸阿米卡星	10	—	叶、茎绿色	4.5	3.1	4.0
4	硫酸阿米卡星	20	—	叶、茎轻微黄化	3.5	2.6	3.5
5	硫酸阿米卡星	30	—	叶、茎黄化	2.5	2.0	2.3
6	头孢唑林钠	0	+++++	叶、茎绿色	0	1.4	0.2
7	头孢唑林钠	5	+++	叶、茎绿色	3.0	2.5	1.2
8	头孢唑林钠	10	++	叶、茎绿色	3.5	3.0	2.5
9	头孢唑林钠	20	—	叶、茎轻微黄化	3.5	3.0	3.1
10	头孢唑林钠	30	—	叶、茎黄化	2.0	2.2	1.5

注:++++,较严重污染;+++;严重污染;++;中度污染;+;轻微污染;—;未污染。

2.3 不同培养基及细胞分裂素对芽分化生长的影响

不同的培养基及不同的激素组合对红掌芽增殖的

作用不同,要获得高的芽增殖率,必须选择出适宜的培养基及其激素组合。现分别以改良 MS、Nitsh 培养基为基本培养,添加不同的激素组合,将已有侧芽萌动的无菌顶芽、茎段和愈伤组织接种于不同的培养基上进行对比。由表 3 可知,改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L

培养基组合最适合红掌以芽繁芽增殖,增殖率达 4.5 倍,芽壮,叶色绿,正常,芽节间伸长;而用改良 MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L 培养基组合更适合愈伤组织分化芽和增殖芽,虽然分化出芽的时间长些,一旦分化出芽后,分化率可达 5.8 倍以上,且小芽生长良好。

表 3 不同培养基和激素组合对芽分化增殖生长的影响

培养基种类	6-BA/mg · L ⁻¹	KT/mg · L ⁻¹	2,4-D/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	芽分化率/倍	芽生长情况
Nitsh	1.0			0.5	0	芽不分化
Nitsh	2.0			0.5	3.2	分化芽多,芽壮,叶色绿,芽节间伸长
Nitsh	2.5			0.5	3.5	分化芽多,芽壮,叶色绿,芽节间伸长
Nitsh	3.0			0.5	4	分化芽较多,芽壮,叶色绿,芽节间伸长
改良 MS	1.0			0.5	0	芽不分化
改良 MS	2.0			0.5	4.5	芽直接分化芽多,芽壮,叶色绿,芽节间伸长
改良 MS	2.5			0.5	3.5	芽直接分化芽多,芽壮,叶色绿,芽节间伸长
改良 MS	3.0			0.5	3.0	芽直接分化芽较多,芽壮,叶色绿,芽节间伸长
改良 MS	1.5	1.0			5.5	愈伤组织分化芽多,芽壮,叶绿,芽节间较短,伸长时间长
改良 MS	2.0	1.0			5.8	愈伤组织分化芽多,芽壮,叶绿,芽节间较短,伸长时间长

2.4 生根培养试验

当继代苗长到 1.5 cm 以上时,选择生长正常、健壮的小芽,从丛生芽块上单个切下转至生根培养基上进行生根诱导,剩余的正常芽苗转至增殖培养基上继续增殖培养。生根接种后,放在弱光下培养 10 d 左右时,小苗的基部形成白色突起,并逐渐伸长,形成明显幼根,长成

完整小植株,此时宜逐步增加散射光照强度使小苗更粗壮。由表 4 可知,最好的生根培养基为 1/2MS+NAA 0.5 mg/L,其生根好,根数多,根系发达,小苗生长好,而当添加 IBA 时,红掌的生根苗的叶有些偏黄,其芽切口易变黑,生长欠正常,同时生根率略有下降。

表 4 不同生长素组合对红掌生根培养的影响

培养基	IBA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	2,4-D/mg · L ⁻¹	生根时间/d	生根率/%	生根数/条	芽生长情况
1/2MS	0	0.5		10	100	5.5	根粗壮、根绿、芽生长良好、叶绿
1/2MS	0	1.0		11	100	5.5	根粗壮、根绿、芽生长良好、叶绿
1/2MS	0.5	0.5		13	98	4	根粗壮、较上细些,根绿、芽生长良好、叶黄绿
1/2MS	0.5	1.0		13	95	3	根粗壮、根绿、芽切口略变黑,叶黄绿
1/2MS	1.0	0.5		11	92	3	根粗壮、根绿、芽切口变黑,叶黄
Nitsh			0.2	10	98	4	根粗壮、根绿、芽生长良好、叶黄绿

2.5 移栽试验

将已培养 30 d 以上、根系好、生长健壮的小苗移栽到温室大棚内进行瓶外培养。移栽时取出小苗,洗净培养基,移栽于经 0.1%高锰酸钾消毒过的用育苗托装的不同育苗基质上,每托移植约 100 株小苗,浇透定根水,并覆盖薄膜保持一定的温度和湿度,定期进行防病处理。移栽 1 个月后,对各种基质进行抽查统计,结果表明,不同的育苗基质对红掌组培苗的移栽成活有不同的影响。从表 5 可看出,红掌比较喜疏松、半干湿基质,在泥碳土与珍珠岩比为 4 : 1 的基质对红掌移栽生长最

好,移栽成活率 98%,小苗生长良好;黄心土 : 河沙 : 泥炭土 = 3 : 5 : 2 的基质配比移栽成活率也超过 95%,但苗木生长没有泥碳土与珍珠岩(4 : 1)的好,这说明了红掌移栽生长随着基质的疏松度、透气度的增加,红掌的长势也会变得越来越好,移栽时,特别要注意水分的控制,不能太干也不能太湿,过干不利于生长,过湿引起烂根甚至死亡,从表 6 还可以看出,含有椰糠多的基质小苗生长良好,但容易发生霉病,引起小苗感病死亡,可能由于椰糠用药物难以完全灭菌引起的污染。

表 5 不同的育苗基质对红掌移栽成活的影响

编号	基质	移栽数/株	死亡数/株	死亡率/%	存活率/%	小苗生长情况
1	黄心土	3 000	450	15	85	叶黄,未萌新芽,小苗长势差
2	50%黄心土+50%河沙	3 000	360	12	88	叶黄绿,少量萌出新芽,小苗长势较好
3	30%黄心土+50%河沙+20%泥炭土	3000	150	5	95	叶绿,小苗萌出新芽,长势良好
4	70%泥碳土+30%黄心土	3 000	450	15	85	叶绿,易长新芽,小苗长势较好
5	80%泥碳土+20%珍珠岩	3 000	540	18	82	叶绿,易长新芽,小苗长势好
6	80%泥碳土+20%珍珠岩	3 000	60	2	98	叶浓绿,小苗萌出新芽,长势良好,粗壮
7	60%泥碳土+20%珍珠岩+20%椰糠	3 000	600	20	80	叶浓绿,小苗萌出新芽,长势良好,粗壮
8	40%泥碳土+40%椰糠+20%珍珠岩	3 000	840	28	72	叶绿,小苗萌出新芽,长势良好,粗壮
9	80%椰糠+20%珍珠岩	3 000	1 740	58	42	叶绿,小苗萌出新芽,长势良好,粗壮

3 结论与讨论

以茎段为外植体,用以芽繁殖诱导无菌芽技术比通过愈伤组织获得无菌增殖芽材料更快、更容易,而且能有效避免继代增殖过程中出现的变异。不同部位的外植体,其污染程度不同,顶芽的污染率最高超过 80%,其次为茎段;带有侧芽和潜伏芽的外植体更容易直接诱导出无菌芽,其次为顶芽。轻微污染的材料在加入抗生素的培养基中污染得到有效的控制,其中硫酸阿米卡星浓度为 10 mg/L 的抑菌效果较好,不影响材料正常生长,充分提高了外植体的有效利用率;但是在继代增殖培养过程中长时间使用抗生素是否引起苗木生长不良,还有待研究。

试验结果表明,最佳的生根培养基为 1/2MS + NAA 0.5 mg/L,生根数多,生根率达 100%,小苗根粗壮、根系发达、生长良好^[1];而当添加 IBA 时,根的数量减少,生根苗的叶有些偏黄,其芽切口易变黑,生长欠正常,同时生根率略有下降。经过对比试验,选用泥炭土

与珍珠岩比(4:1)的混合基质为红掌的最佳移栽基质,移栽成活率 98%以上,小苗生长良好。同时试验也表明对基质的消毒杀菌处理不充分对红掌移栽的成苗率有一定影响。

通过对红掌进行组培快繁技术研究,形成一套完善的红掌组培快繁技术体系。用茎段腋芽以芽繁殖诱导无菌芽和扩繁增殖,繁殖系数达到 4.5 以上,利用该技术建立红掌微体瓶内种质资源库,有利于种质资源保存和生产利用,通过愈伤组织培养增殖芽,芽繁殖系数达到 5.8,生根率达到 100%,可为规模化生产提高芽条的利用率,并相应降低成本。

参考文献

- [1] 陈丽文,何贵整.红掌茎段侧芽离体快繁技术研究[J].亚热带植物科学,2011,40(2):42-43.
- [2] 关丽霞,谢永刚,彭世勇,等.红掌叶不同部位愈伤组织的诱导及植株再生[J].辽宁农业职业技术学院学报,2007,9(1):25-27.
- [3] 时群.红掌组织培养污染率控制研究[J].亚热带植物科学,2010,9(3):80-81.

Study on Technology of Tissue Culture and Rapid Propagation of *Anthurium andraeanum*

HE Gui-zheng, CHEN Li-wen, SHI Qun, WU Hong-ying

(Qinzhou Forestry Science Research Institute, Qinzhou, Guangxi 535000)

Abstract: With terminal bud, stem, leaf stall, leaf as explants, the tissue culture and rapid propagation of *Anthurium andraeanum* were studied, by the way of bud proliferation or bud induction from the callus. The results showed that the optimal medium for bud proliferation was modified MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L, whose proliferation coefficient reached 4.5; the optimal medium for bud induction from the callus was modified MS + 6-BA 2.0 mg/L + KT 1.0 mg/L, and the proliferation coefficient more than 5.8; the optimal medium for rooting was 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L.

Key words: *Anthurium andraeanum*; explants; bud proliferation; tissue culture technology

《北方园艺》征订启事

《北方园艺》是由黑龙江省农科院主管,黑龙江省园艺学会和黑龙江省农科院主办的以科学研究和技术普及相结合的园艺类综合性中文核心期刊。国内外公开发行。刊号:ISSN 1001-0009, CN23-1247/S;半月刊,每月 15 日、30 日出版,大 16 开本,200 页内文。每册定价 7.0 元,国内邮发代号:14-150,国外邮发代号 SM5011。

本刊现辟有试验研究、研究简报、设施园艺、栽培技术、园林花卉、生物技术、植物保护、贮藏保鲜加工、食用菌、中草药、新品种选育、土壤与肥料、产业论坛、专题综述、经验交流、农业经纬等栏目。适合大专院校师生、科研单位技术人员、农技推广人员、园艺作物种植者、农产品经销商等人员参阅。有需要者可从邮局订阅或直接汇款至编辑部订阅。

地 址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《北方园艺》编辑部
电 话:0451-86674276

邮 编:150086
投稿邮箱:bfyybjb@163.com