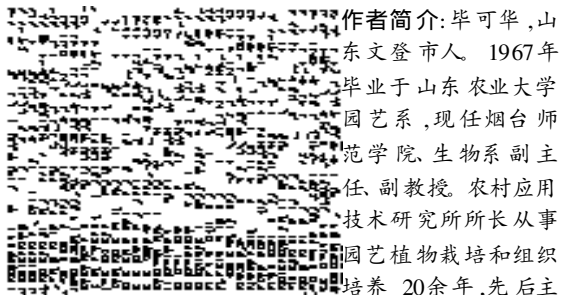


# 芋试管苗离体培养与保存技术研究<sup>①</sup>

毕可华

(山东烟台师范学院生物系)



作者简介:毕可华,山东文登市人。1967年毕业于山东农业大学园艺系,现任烟台师范学院、生物系副主任、副教授。农村应用技术研究所所长从事园艺植物栽培和组织培养 20 余年,先后主持省科委、省教委和

省区划委等数项课题的研究工作,并多次获奖。对佛手瓜、南瓜、樱桃的育苗和组织培养技术进行过深入研究并取得了显著成绩。其中佛手瓜和“艾西丝”南瓜组织培养技术为国内外首创。所编著的主要著作有《现代大樱桃栽培》、《佛手瓜栽培与贮藏技术》、《北方栽种佛手瓜》、《植物生物技术与作物改良》、《植物生理学》等。另发表论文 30 余篇。

**提要:**通过芋的无性系快速繁殖和试管苗常温保存试验。结果表明,芋芽分化和继代繁殖适合的培养基为  $MS+2mg/LBA+0.2mg/LNAA$  在  $MS+0.5mg/LBA+0.25mg/LNAA$  培养基中,芋试管苗的生根率为 80%,且根系发育良好,是芋较适合的生根培养基。高浓度细胞分裂素和琼脂配合使用,可明显减缓芋试管苗的生长和分化速度,延长保存期。在  $MS+8mg/LBA+0.2mg/LNAA, 8g/L$  琼脂的培养基中,芋无根试管苗可常温下保存 370 天,苗存活率达 92%

**关键词:**芋 试管苗 BA 琼脂 保存

芋 (*Colocasia esculenta* Schott) 又名芋头、芋艿,为天南星科宿根草本植物,原产我国和印度、马来半岛等热带沼泽地区。芋生长强健、适应性广,产量高,是世界上广为栽培的蔬菜和粮食兼用作物。据 FAO 生产年鉴报导,1989 年全世界芋栽培面积约 100 万公顷,总产量达 540 万吨,消费量在蔬菜中居第 14 位。芋在

我国栽培历史悠久,经过长期的自然选择和人们的选种培育,形成了多种类型的品种资源。国家种质武汉水生蔬菜资源圃现已收集到 270 份芋种质资源材料。对芋种质资源保存进行研究具有重要的实际意义。利用离体培养技术,在试管内保存种质具有许多优点。以往人们多从低温、调整培养基渗透压、添加生长抑制剂等手段来研究种质试管苗保存技术。本试验从添加高浓度细胞分裂素和琼脂等方法来探讨芋试管苗的常温保存方法,并对其无性系快速繁殖技术进行了研究。

## 1 材料和方法

1.1 供试品种 “莱阳孤芋”,系山东省重要芋头出口基地莱阳市的主栽品种。

1.2 材料处理 于 4~5 月份将种芋球茎仔用肥皂水和自来水浸泡冲洗,然后置于  $25^{\circ}C$  条件下进行催芽处理。待大量侧芽萌发后,剥去芽周围的环状鳞片和鳞片毛,再用自来水冲洗干净。将洗净的球茎于超净台上切取  $0.5 \times 1.0$  厘米的带芽芋块。芋块经 70% 乙醇浸泡 5s, 15% 新洁尔灭浸泡 10min, 然后在放大镜下剥取芋芽外部 2 层幼叶,随即去叶芋块置入 0.1% HgCl<sub>2</sub> 浸泡 10min, 无菌水冲洗三次后切取芋芽备用。

1.3 快速繁殖 以 MS 培养基为基本培养基,根据附加 BA、Kt、Zn 和 NAA 的浓度差异,共配置了 9 种分化培养基和 5 种生根培养基。培养温度为  $25 \pm 2^{\circ}C$ ,每日光照时间 12h, 光强 2000lx。

1.4 试管保存 于室温下, MS 培养基内,分别添加细胞分裂素 BA 0mg/L (CK), 4mg/L, 6mg/L, 8mg/L, 10mg/L, 12mg/L 和琼脂 6g/L, 8g/L, 10g/L, 12g/L。培养室光强 2000lx, 每日光照时间 10h。

## 2 结果与分析

### 2.1 试管苗的快速繁殖

2.1.1 外植体取样时期 于不同时期剥取经灭菌处理的顶芽或侧芽为外植体。试验表明,芋培养取材最佳时期为 5~6 月份。此期贮藏种芋经催芽后,侧芽能大

① 山东省教委资助课题

量萌发易于剥离,表面灭菌效果好,污染少。(表 1)  
 2.1.2 芽分化与增殖 为了研究细胞分裂素对芋芽分化和生长的影响,在 MS培养基上进行了不同浓度的 BA、Zn和 Kt试验。结果表明,在生

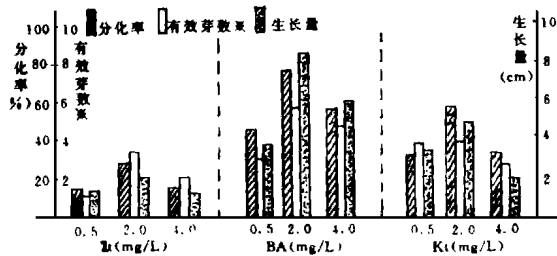
表 1 不同接种时期对芋外植体污染率的影响

接种日期(年/月/日)	外植体类型	接种数	污染数	污染率(%)
1996.2.4	顶芽	20	19	95
1996.3.10	顶芽	20	20	100
1996.4.4	侧芽	20	12	60
1996.5.4	侧芽	20	7	35
1996.6.6	侧芽	20	7	35
1996.7.4	侧芽	20	10	50
1996.8.4	侧芽	20	15	75

表 2 琼脂对芋试管苗生长、分化和保存期的影响

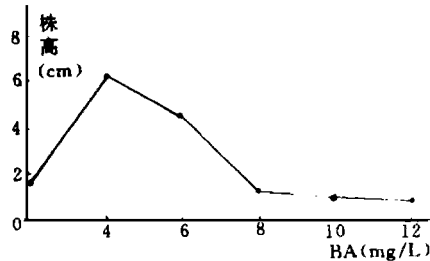
琼脂浓度 (g/L)	接种数	平均株高 (cm)	分化总芽数	存活率 (%)	保存期 (日)
6	20	6.6	110	34.1	60
8	20	3.7	52	94.0	180
10	20	1.4	54	87.7	180
12	20	0.3	22	19.2	90

注:不同处理均加 2mg/LBA,0.2mg/LNAA



※有效芽—高 1.5cm,基部粗 0.2cm以上的芽

图 1 不同细胞分裂素对芋芽生长和分化的影响



(不同处理均加 0.2mg/LNAA)

图 2 高浓度 BA对芋无根苗生长的影响

素 NAA为 0.2mg/L的情况下,BA对促进芋芽分化和生长效果最好,其次是 Kt,Zn表现最差。(图 1)从 BA影响情况看,在 0.5~ 4.0mg/L浓度范围内,较高浓度 BA,无论对芽分化率,还是对芽生长量都有更好的影响。其中以 BA2.0mg/L效果最好。因此,本试验

确定芋芽分化培养基为 MS+ 2mg/LBA+ 0.2mg/LNAA 试验还表明,上述培养基也可做为芽继代培养基,其月增殖系数为 5~ 8,平均月生长量达 8cm以上,生长健壮,叶色浓绿。

2.1.3 诱导生根 当芋芽高 2cm以上时,将其转接到配有生长素的培养基中诱导生根。培养基中不加生长素不能诱导芋芽生根。附加一定量 NAA对根的分化和生长质量有显著的促进作用。但 NAA浓度过高也不利于根的分化和生长。在 MS+ 0.5mg/LBA+ 0.25mg/LNAA的条件下,生根率高,根系质量好,是芋适宜的生根培养基。

## 2.2 试管苗的保存

2.2.1 高浓度细胞分裂素对试管苗保存期的影响 将继代繁殖的芋无根苗转入含 BA0~ 12mg/L的培养基中。结果表明,培养基添加高浓度的 BA能够明显抑制试管苗的生长。(图 2)这种抑制作用随 BA浓度的增加而增强。进一步的试验表明,在 BA浓度为 8mg/L的情况下,试管苗不但生长受到抑制,而且能明显延缓保存期,其保存期达 210天,苗存活率 90%以上。而常温下 BA浓度偏低或超过 8mg/L,则前者导致生长过快,后者生长过分受到抑制,都会加快衰老死亡过程,不利于长期保存。

2.2.2 琼脂浓度对试管苗保存期的影响 在 MS培养基中加入不同量的琼脂,发现琼脂浓度的高低对试管苗生长、分化以至保存期长短也有明显的影响。(表 2)由表 2可见,琼脂浓度为 6mg/L的情况下,芋试管苗生长速度快,分化芽数量大,但保存期最短。到第 60天,芽存活率只有 34.1%,室温下,试管苗大部分在 45~ 60天内衰老死亡。当琼脂浓度增加到 8~ 10g/L,试管苗的生长速度和分化能力大大下降,但保存期也显著延长。接种 180天后调查,存活率为 94.0~ 87.7%。试验还表明,琼脂浓度过高,试管苗生长过分受到抑制,也会导致存活率下降、保存期缩短(见表 2)。

2.2.3 细胞分裂素和琼脂对芋试管苗保存期的综合效应 将高浓度细胞分裂素和琼脂配合使用,能取得延长芋试管苗保存期的更好效果。试验表明,芋无根试管苗在 MS+ 8mg/LBA+ 0.2mg/LNAA,琼脂 8g/L的培养基中,常温下保存期长达 370天,苗存活率为 92%。芋试管苗在 0~ 9℃较低温度下,采用上述培养条件,芋苗很快黄化、死亡,保存效果不好。

将上述条件下保存的芋试管苗接种在 MS+ 2mg/LBA+ 0.2mg/LNAA,琼脂 6.2~ 6.5g/L的培养基中,培养温度 25± 2℃,光照强度 2000lx,每日光照 12h,芋苗可很快恢复生长与分化,并能进行继代繁殖。所得无根苗在 MS+ 0.5mg/LBA+ 0.25mg/LNAA培养基中,生根率达 95%以上且根系发育良好。(邮编 264025)