

大头芋的组织培养^①

罗远华 朱文丽 伍立锋 莫 饶^②

(海南热带农业大学农学院 海南儋州 571737)

摘 要 以海南野生大头芋 (*Amorphophallus dunnii* Tutcher, 也称南蛇棒) 的叶柄、主叶脉为外植体, 筛选适宜各培养阶段的培养基。结果表明: 以叶柄、主叶脉为外植体进行愈伤组织诱导, 诱导率和分化率均可达 100%, 且增殖系数较高; MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基适宜愈伤组织诱导及继代增殖培养; MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基适宜不定芽诱导及增殖培养; MS+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基适宜壮苗及生根培养。

关键词 大头芋; 南蛇棒; 魔芋; 磨芋; 叶柄; 主叶脉; 组织培养

分类号 Q813.1

Tissue Culture of *Amorphophallus dunnii* Tutcher

LUO Yuanhua ZHU Wenli WU Lifeng MO Rao

(College of Agronomy, SCUTA, Danzhou, Hainan 571737)

Abstract Media for tissue culture of *Amorphophallus dunnii* Tutcher with the petiole and midrib as the explants were screened. The results showed that the inducing and differentiation rates of the explants were upto 100% on the media screened, and that the propagation coefficient was very high. The optimum media found at each culture stages were: MS + 6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + sucrose 3% for formation of callus and multiplication; MS + 6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L + sucrose 3% for formation of adventitious buds and multiplication, and MS + NAA 0.2 mg/L + sucrose 3% for robust growth of the seedlings and for rooting.

Keywords *Amorphophallus dunnii* Tutcher; konjac; tissue culture; petiole; midrib

魔芋 (konjac, 磨芋) 为天南星科 (Araceae) 魔芋 (磨芋) 属 (*Amorphophallus* Blume ex Decne) 多年生宿根性草本植物, 主要分布在长江流域, 以花魔芋分布最广。其产品器官为球茎, 内含丰富的葡萄糖、果胶、生物碱、淀粉、灰粉及 17 种氨基酸和多种微量元素, 可食用、药用及工业用^[1]。魔芋的大田生产需要大量的种芋 (球茎), 但其自然繁殖系数低, 且易导致种质退化。开展魔芋组织培养研究, 有利于试管育种和良种繁育。

魔芋的组织培养研究已有报道^[2~6]。主要采用白魔芋 (*A. rivieri* Liu et Chen)、花魔芋 (*A. rivieri* Durieu) 等主栽培品系 (种) 的球茎、茎尖、幼芽、叶柄基、幼鳞片等进行组织培养, 其愈伤组织诱导

率、分化率及生根率普遍不高。野生品种的组织培养技术研究及开发利用还未见报道。大头芋 (*A. dunnii* Tutcher) 又名南蛇棒^[9, 10], 是野生品种, 多生长在深山, 具有很高的开发和利用价值。研究大头芋的组织培养技术, 对野生魔芋资源保护、新品种选育及快繁等具有积极意义。

1 材料与方法

1.1 材料

材料采自海南五指山林间湿地。选取健壮、无病虫害的大头芋叶柄、主叶脉作为外植体。

1.2 方法

用洗衣粉将材料洗净; 流水冲洗干净, 置于超

① 收稿日期: 2005-10-14

责任编辑/曾莉娟

<http://rdnk.chinajournal.net.cn/> E-mail: rdnk@chinajournal.net.cn

② 通讯作者。莫 饶 (1963~), 男, 博士, 副教授。联系电话: (0898) 3111 2414; E-mail: xiaotaomo@tom.com。

净工作台上; 75%(体积分数)酒精浸泡 30 s; 无菌水冲洗 2 次; 1 g/L 的升汞(HgCl_2)溶液振荡消毒 10 min; 无菌水漂洗 4~6 次。剥去消毒后外植体的表皮; 切取 0.8~1.5 cm 长的外植体, 接种(浅插)到 MS 培养基上。

6-BA 的添加浓度为 1.0~6.0 mg/L, NAA 的为 0.01~0.3 mg/L, 另加 5.6 g/L 卡拉胶进行固化, pH 5.8, 培养温度 25~28 °C, 光照强度 1500 lx, 光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织诱导与继代培养

外植体培养约 3 周后, 切口表面明显膨大, 并出现乳白或乳黄色愈伤组织; 4 周后, 愈伤组织增大至外植体的 3~5 倍, 且组织致密。将诱导出的愈伤组织切割后进行继代培养, 1 周后可见愈伤组织开始增殖; 4 周后, 愈伤组织增殖为原来的 2~4 倍(见图 1)。MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L 诱导的愈伤组织致密, 且继代培养 6 代后仍具有分化能力。说明这种配方的培养基最适宜愈伤组织诱导与继代培养。



图 1 增殖培养的愈伤组织

2.2 不定芽的诱导及增殖培养

不定芽诱导发现, 经过约 4 周的分化培养, 均能分化出淡绿色的不定芽。将其切割后进行增殖培养, 30 d 增殖 3~4 倍(见图 2)。在相同的新鲜培养基上不断分化继代培养, 芽苗大量增殖, 长势旺盛。但 MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基最适宜不定芽的诱导及增殖。

2.3 壮苗及生根培养



图 2 增殖培养的不定芽

将 3~4 cm 长的不定芽分切成单芽接种到壮苗及生根培养基中, 1 周后可见不定根突起, 30 d 后长出 5~8 条白色带有根毛的不定根, 形成完整根系, 生根率达 100%, 苗高达 8 cm 以上(见图 3)。MS+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基最适宜幼芽壮苗及生根, 生根的同时又壮苗。

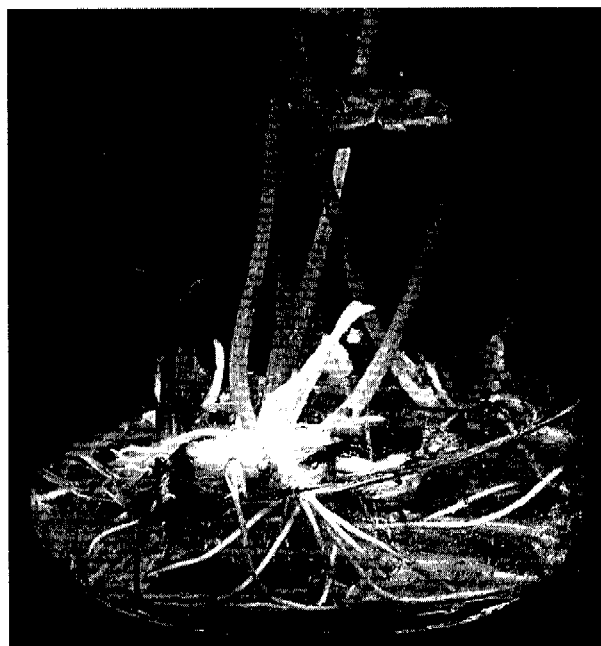


图 3 生根培养的再生苗

2.4 试管苗的移栽

将具有完整根系的试管苗移置荫棚内, 炼苗 2 周后, 打开瓶塞再炼苗 2 d。清水洗净附着在根系上的培养基后, 将试管苗浸泡在 2 g/L 的多菌灵溶液中, 20 min 后假植在沙床上(注意保湿、遮阴), 成活率可达 90% 以上。6 周后移栽于营养杯中, 按常

规育苗方法管理。

3 结论与讨论

3.1 结论

MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基适宜愈伤组织诱导及继代增殖培养; MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基适宜不定芽诱导及增殖培养; MS+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基适宜壮苗及生根培养, 生根率可达 100%。合理的 6-BA 与 NAA 的浓度比是影响愈伤组织诱导、增殖和分化以及不定芽增殖的关键因素。6-BA 用量低, 则外植体膨大不够, 愈伤组织诱导率、增殖率低, 形成的不定芽粗壮, 但数量少, 不利于大量增殖; 6-BA 用量过高, 则愈伤组织过于膨大、疏松, 且分化率低, 形成的不定芽虽多, 但生长细弱。

3.2 讨论

外植体的合理选择是植物组织培养成功与否的重要因素。已报道的魔芋组织培养所用外植体, 主要是球茎、茎尖、幼芽、叶柄基、幼鳞片、花器、种子、幼根等。除苏承刚等报道的桂平魔芋 (*Albus guripingensis*) 球茎、鳞片的愈伤组织诱导频率可达 100% 外, 其它的愈伤组织诱导率一般在 80% 以下, 分化率 60%~97%^[2~6]。本研究首次用大头芋的叶柄、主叶脉作为外植体诱导愈伤组织, 其诱导率和

分化率均可达 100%, 增殖系数也较高。且选取叶柄、主叶脉作为外植体对母株伤害小, 操作简便, 是理想的快繁途径。

参考文献

- 1 刘贵周, 谢庆华, 赵庆云, 等. 魔芋组织培养技术研究进展. 中国农学通报, 2003, 19(4): 101~102, 125
- 2 徐刚, 王彩莲, 慎玫, 等. 魔芋茎尖组织培养和植株再生的研究. 生物技术, 1994, 4(1): 19~21
- 3 曾昭初, 高翔, 罗鸿源, 等. 白魔芋组织培养快速繁殖技术的研究. 贵州农业科学, 1997, 25(1): 28~31
- 4 彭昌操. 花魔芋愈伤组织诱导研究. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2000, 18(3): 1~3
- 5 黄远新, 何凤发, 张盛林. 魔芋组织培养与快繁技术研究. 西南农业大学学报(自然科学版), 2003, 25(4): 309~312
- 6 吕世安, 沈艳芬, 黄元勋, 等. 魔芋组织培养及快繁技术研究. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2003, 21(2): 6~8
- 7 曾昭初, 罗鸿源, 葛菁华, 等. 魔芋组织培养技术研究初报. 贵州农业科学, 1994(5): 19~21
- 8 苏承刚, 张兴国, 张盛林. 桂平魔芋组织培养研究. 西南农业大学学报, 2001, 23(3): 228~229
- 9 广东省植物研究所. 海南植物志. 第4卷. 北京: 科学出版社, 1977. 138~139
- 10 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第13卷第2分册. 北京: 科学出版社, 1979. 92~93

(上接第2页)

3 结论与讨论

由于受大雨影响, 25% 叶面净 I WP 800 倍液的防效较 15% 叶面净 II WP 的低, 但二者差异不显著。因此, 若无雨水影响, 25% 叶面净 I WP 800 倍液也是防治香蕉褐缘灰斑病的有效药剂。建议使用浓度为 300~500 倍, 每公顷施药量为 3 kg。

15% 叶面净 II WP 沟施、淋灌均对香蕉褐缘灰斑病有明显防效。在用量为 10 g/株的情况下, 防效可达 85%~88%, 与对照药剂 25% 敌力脱 EC 1000 倍液的防效相当。在试验浓度范围内对作物安全, 可作为防治香蕉褐缘灰斑病的有效药剂。在雨季初期、香蕉树将要封行时施药, 一造香蕉施药 1 次,

便可有效防治病害; 病害严重流行年份, 香蕉挂果后, 视病害情况, 叶面喷施 1 次其它药剂, 如多菌灵、敌力脱等, 即可有效防治病害, 又可降低劳动强度, 节约成本。

参考文献

- 1 张运强, 谢艺贤, 张辉强. 香蕉叶斑病主要种类、发生规律及防治. 热带农业科学, 1998, 18(6): 32~44
- 2 李郭平, 陆炳片, 宁章全, 等. 敌力脱等杀菌剂防治香蕉叶斑病药效试验. 广西植保, 1996(1): 32~33
- 3 林伟, 黎起素, 卢维海, 等. 25% 施立脱防治香蕉叶斑病. 植物保护, 2000, 26(6): 35~37
- 4 符瑞益, 李增平. 25% 电光乳油防治香蕉叶斑病试验初报. 广西热带农业, 2001(3): 9~10