

文章编号:1001-4829(2008)03-0775-04

彩色马蹄莲组培快繁的研究

何俊蓉¹, 吴洁¹, 袁宁², 阎文昭¹, 蒲志刚¹, 许培芳², 何锐², 李萍^{2*}, 王建春¹

(1. 四川农科院生物技术核技术研究所, 四川 成都 610066; 2. 西南交通大学, 四川 成都 610031)

摘要:对彩色马蹄莲进行组培快繁研究, 结果表明: 丛芽增殖的最佳因素组合为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + TDZ 2 mg/L; 在诱导愈伤组织出芽时, 先用适当浓度的 6-BA 来诱导愈伤组织产生不定芽, 再将其转接到低浓度的 NAA 上以促进不定芽成苗。MS + NAA 0.5 mg/L + 活性炭 5% 有利于生根。

关键词:彩色马蹄莲; 组培研究; 快速繁殖

中图分类号:S682.2+64 **文献标识码:**A

Tissue culture and rapid propagation of *Zantedeschia antedeschia*

HE Jun-rong¹, WU Jie¹, YUAN Ning², YAN Wen-zhao¹, PU Zhi-gang¹, XU Pei-fang², HE Rui², LI Ping^{2*}, WANG Jian-chun¹

(1. Institute of Biotechnology and Nuclear Technology, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Sichuan Chengdu 610066, China; 2. Southwest Jiaotong University, Sichuan Chengdu 610031, China)

Abstract: Cell culture was made of *Zantedeschia antedeschia* for its rapid propagation. Orthogonal design indicated that MS + 6-BA 0.5 mg/L + TDZ 2 mg/L was the best culture medium to induce proliferation buds from its tuber. The prime process of inducing buds from the callus was to use the 6-BA at the first step and then treat the buds with low concentration of NAA. The best culture medium for multiplication of cluster shoots was MS + NAA 0.5 mg/L + AC 5%.

Key words: *Zantedeschia antedeschia*; tissue culture; rapid propagation

彩色马蹄莲是天南星科 (Araceae) 马蹄莲属多年生球根花卉, 原产于非洲南部, 包括黄花马蹄莲 (*Z. albomaculata*), 红花马蹄莲 (*Z. rehmannii*) 以及近几年来国外出现的不少杂交园艺品种。其花型为肉穗花序, 佛焰苞呈红、黄、粉红、橘红、橙黄或黄红复色等, 色彩艳丽; 叶形独特并带有白色斑点或条纹, 是具有较高观赏价值的配叶材料, 也可作为春秋两季花坛或花境的素材。因为彩色马蹄莲色彩富丽、形态高雅、用途广泛, 所以其被誉为“二十一世纪的花卉之星”, 是近几年来发展较快、最具有发展潜质的球根花卉, 在国际市场上占有越来越重要的地位, 供不应求。

彩色马蹄莲繁殖方法有种子、分球、组培繁殖等多种。用种子繁殖培育出的种球, 经 2~3 年培育便

可开花, 但种子繁殖培育的种球变异较大, 生产的产品商品性差, 生产上一般没有使用。分球繁殖是生产上采用的常规方法, 但分球繁殖法繁殖系数低, 且经过多年生产繁殖, 植株体内病毒含量会不断积累增高, 易造成后代种性退化, 生产的彩色马蹄莲商品性下降。利用组培快繁技术生产彩色马蹄莲种苗、种球是近几年发展使用的先进技术, 而且繁殖系数高, 在较短时间内就可以获得大量优质种苗种球^[1~7]。因此, 本试验拟从引进的彩色马蹄莲优良品种入手, 研究彩色马蹄莲种苗组培快繁技术, 建立种球繁育体系, 以迅速扩大优良品种的基数, 解决生产上推广应用的种源问题。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为四川省农科院生核所收集的 3 个彩色马蹄莲品种, 切取球茎的顶芽作为外植体。

1.2 试验方法

将彩色马蹄莲块茎清洗干净, 剥去芽表褐色皮

收稿日期: 2008-03-01

基金项目: 四川省应用基础研究项目 (03JY029-096-2)

作者简介: 何俊蓉 (1962-), 女, 副研究员, 主要从事经济植物组培快繁研究, * 为通讯作者。

表 1 因数水平表
Table 1 Factors and levels

	培养基(A)	TDZ*(B)	6-BA(C)
1	1/2 MS	0	0
2	MS	1 mg/L	0.5 mg/L
3	花宝 1 号	2 mg/L	1 mg/L

注: *TDZ 中文名噻苯隆。

层,挖取 0.5 cm² 大小的顶芽,为接种芽块,在 0.1 % 的升汞溶液中浸泡 20 min,切除四周少许组织,放入 2 % 次氯酸钠溶液中浸泡 10 min,无菌水洗 4 次,以除去残留消毒液,剥取茎尖接种于初代诱导培养基中。诱导培养基为:MS + BA 1 mg/L + NAA 0.1 mg/L,将彩色马蹄莲初代培养成的单苗接入增殖培养基,增殖培养基设 3 因素 3 水平正交试验 9 个处理(表 1,表 2),每种培养基接种苗数为 50 苗。获得的愈伤组织转接入以 MS 为基本培养基,添加植物生长素 6-BA 和 NAA 的分化培养基中,每种培养基接种 20 块愈伤组织,观察愈伤组织出芽的情况。生根培养基为 2 个处理(MS + 0.1 mg/L NAA + 活性炭 5 %,MS + 0.5 mg/L NAA + 活性炭 5 %)。培养基 pH 5.8,含蔗糖 3 %、琼脂 0.65 %。在温度 25 ℃、光强 1500 ~ 2500 lx、每天光照 9 ~ 10 h 的环境下进行培养。

表 2 正交试验设计
Table 2 Orthogonal design

实验号	A(培养基)	B(TDZ)	C(6-BA)
1	1(1/2 MS)	1(0)	1(0)
2	1(1/2 MS)	2(1 mg/L)	2(0.5 mg/L)
3	1(1/2 MS)	3(2 mg/L)	3(1 mg/L)
4	2(MS)	1(0)	2(0.5 mg/L)
5	2(MS)	2(1 mg/L)	3(1 mg/L)
6	2(MS)	3(2 mg/L)	1(0)
7	3(花宝 1 号)	1(0)	3(1 mg/L)
8	3(花宝 1 号)	2(1 mg/L)	1(0)
9	3(花宝 1 号)	3(2 mg/L)	2(0.5 mg/L)

2 结果与分析

2.1 彩色马蹄莲丛芽增殖的正交试验

在彩色马蹄莲的组织培养中,丛芽的增殖数量直接影响到组培效率和繁殖系数。将彩色马蹄莲初代培养成的单苗接入上述 9 种丛芽增殖培养基中,分别在接种第 30 天和 50 天时统计彩色马蹄莲的丛芽增殖倍数(表 3),并对第 50 天的丛芽增殖倍数进行极差分析(表 4)。

极差分析结果表明:每个因素各水平之间的丛

表 3 粉红色彩色马蹄莲丛芽增殖倍数

Table 3 The proliferation times of clumpy buds of pink *Zantedeschia antedeschia*

接种后 天数(d)	实验号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
30	0.34	0.90	0.16	0.38	1.00	1.12	0.76	0.24	0.12
50	0.38	1.00	0.38	2.76	2.00	3.88	1.00	0.50	0.52

注:丛芽增殖倍数为 >0.5 cm 的芽苗数/接种外植体数。

Note: multiplication rate of shoot clump: proliferation buds (>0.5 cm)/ total number of explants.

表 4 丛生芽增殖倍数极差分析表

Table 4 Variance analyze of the result in the table 3

观察值	基本培养基	TDZ	6-BA
T ₁	1.76	4.14	2.90
T ₂	8.64 *	3.50	5.88 *
T ₃	2.02	4.78 *	3.64
极差	<6.88 >	1.28	2.98

注:各因素各水平的平均增殖倍数分别相加得各观察项目的 T_i(i=1,2,3)值,各项目 T_i 最大值和最小值的差为该因素观测项目的极差。

* 表示各因素各观测项目 T_i 的最大值; < > 表示各观测项目极差的最大值。

Note: T_i(i=1,2,3) is the summation of multiplication average rate of each factor levels. Variance is the discrepancy of maximum and minmum of T_i.

* denotes the maximum of T_i of each factor levels. < > denotes the maximum of variance.

表 5 不同彩色马蹄莲丛芽增殖倍数

Table 5 The proliferation times of clumpy buds of different *Zantedeschia antedeschia*

彩色马蹄莲品种	1	2	3	4	5	6	7	8	9
粉色	0.38	1.00	0.38	2.76	2.00	3.88	1.00	0.50	0.52
黄色	0.12	0.88	1.12	0.62	0.34	0.40	1.38	0.20	0.50
黄色黑心	0.68	0.60	0.54	0.22	0.28	0.30	0.12	0.26	0.56



图1 粉色彩色马蹄莲丛芽增殖

Fig. 1 The proliferation of clumpy buds of pink *Zantedeschia anted-schia*

生芽增殖倍数都有一定差异,其中培养基不同产生的极差最大为 6.88。增殖倍数随培养基从 MS 到花宝 1 号再到 1/2 MS 逐渐减小。说明培养基是影响丛生芽增殖的主导因子。其次是 6-BA, T_1 、 T_2 和 T_3 之间的差异均较大。再次是 TDZ,其各水平在此过程中差异相对较小,说明对丛生芽增殖的效应不突出。从以上数据可得出,丛生芽增殖倍数的最佳培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + TDZ 2 mg/L (图 1)。

2.2 不同品种彩色马蹄莲丛生芽增殖

将黄色和黄色黑心 2 个品种的彩色马蹄莲接入表 1 所示正交试验的 9 种处理中进行丛生芽增殖试验,在第 50 天时统计其丛生芽增殖倍数(表 5)。并与粉色品种进行对照,结果发现,这 2 种彩色马蹄莲的丛生芽增殖效果并不理想,最高增值倍数仅为 1.12 和 0.68。因此,要达到组培快繁黄色和黄色黑心这两个彩色马蹄莲品种,需要再进一步研究。

2.3 愈伤组织不定芽诱导结果

在 MS 和花宝 1 号培养基上的粉色马蹄莲在 1 周以后基部出现了愈伤组织,在第 30 天时将愈伤组织块切成 0.5 cm × 1.0 cm,接入以 MS 为基本培养基、植物生长素为 6-BA 和 NAA 的分化培养基中,每一种培养基接种 20 块愈伤组织,观察愈伤组织出芽的情况(图 2),并得到不定芽和愈伤组织成苗的平均结果(表 6)。

从表 6 中可知,一定浓度的 6-BA 能促进愈伤组织胚性化,在 6-BA 浓度为 4.0 mg/L 时最高,每块愈



图2 彩色马蹄莲愈伤组织诱导成苗

Fig. 2 The seedling from callus of *Zantedeschia anted-schia*



图3 生根情况

Fig. 3 Rooting

伤组织块上平均达到了 35 个不定芽,但是在 6-BA 浓度为 8.0 mg/L 时,不定芽数目反而有所下降,说明 6-BA 浓度太高,会抑制愈伤组织形成不定芽。

另外,当 NAA 浓度较低时,不定芽能正常生长成苗。如在 NAA 为 0.05 mg/L, 6-BA 为 1.0 mg/L 时的,每块愈伤组织平均有 10 个不定芽成苗, 6-BA 为 2.0 mg/L 时,有 8.8 个不定芽成苗。随着 NAA 的浓度提高,成苗的数目减少了,说明低浓度的 NAA 能促进不定芽成苗,高浓度的 NAA 有抑制作用。

2.4 不同 NAA 浓度对生根的影响

无菌苗在瓶内生长高度达 3 cm 时,转入生根培养基进行生根培养,7 d 后 30 % 以上的幼苗生根,20 d 后生根率达 100 %。在 MS + NAA 0.5 mg/L + 活

表 6 愈伤组织在分化培养基上形成的不定芽及成苗数

Table 6 No. of clumpy buds and seedling from callus in differentiation medium

编号	NAA 水平 (mg/L)	6-BA 水平 (mg/L)	每块愈伤组织 平均不定芽数	每块愈伤组织 平均成苗数
1	0.05	0.50	10.50	7.30
2	0.05	1.00	10.75	10.00
3	0.05	1.50	15.10	2.15
4	0.05	2.00	10.25	8.80
5	0.10	0.50	17.80	2.35
6	0.10	1.00	15.35	3.40
7	0.10	1.50	9.90	3.50
8	0.10	2.00	22.15	0.85
9	0.15	0.50	19.20	2.05
10	0.15	1.00	9.60	3.85
11	0.15	1.50	15.00	3.75
12	0.15	2.00	21.15	1.15
13	0.20	0.50	10.00	0.90
14	0.20	1.00	20.05	3.00
15	0.20	1.50	16.15	0.00
16	0.20	2.00	9.45	0.00
17	0.50	4.00	35.00	2.15
18	1.00	8.00	28.10	0.00

性炭 5 % 培养基中,幼苗产生的平均根数与平均根长都高于在 MS + NAA 0.1 mg/L + 活性炭 5 %,且在 MS + NAA 0.5 mg/L + 活性炭 5 % 培养基中幼苗产生的幼根粗壮,新叶也较浓绿。MS + NAA 0.1 mg/L + 活性炭 5 % 培养基中幼苗产生的幼根相对较细弱,叶色也较淡(图 3)。

3 讨论与小结

TDZ(塞苯隆)是一种已被广泛用于植物组织培养形态发生的新型高效生物调节剂。它能诱导外植体从愈伤组织形成到体细胞胚胎发生的一系列不同反应,还能有效诱导侧芽和不定芽的生成,具有生长素和细胞分裂素双重作用的特殊功能^[8]。在本试验中发现,TDZ 与 6-BA 配合使用时,6-BA 对于彩色马蹄莲的丛芽诱导作用大于 TDZ。对这两种植物生长素分别对彩色马蹄莲的丛芽诱导作用还有待进一步研究。因此,建议在彩色马蹄莲组培快繁体系中,用 MS + 6-BA 0.5 mg/L + TDZ 2 mg/L 与 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基中二者轮用,效果更佳,马蹄莲组培苗既有丛生芽增殖,又有愈伤组织的产生。

实验发现 BA 浓度高,利于愈伤组织的增殖,不利于芽的分化,随着 BA 浓度降低,可促进愈伤组织

分化成苗。故若要愈伤组织增殖较多不定芽,可以在 MS 培养基中加 6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L,然后再将不定芽转接到 MS 培养基加 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L 中,便可形成丛生苗。通过此两种培养基的培养,可获得大量的分生苗,且苗的长势良好。

参考文献:

- [1] 李倩中,谭国华,周建涛. 彩色马蹄莲组培技术[J]. 江苏农业科学,2003(6):86-87.
- [2] 李国义,龚束芳,张丽梅,等. 彩色马蹄莲组培快繁技术的研究[J]. 北方园艺,2004(2):64-66.
- [3] 彭 峰,陈嫣嫣,郝日明,等. 彩色马蹄莲 Parfait 不定芽诱导增殖培养条件的优化和筛选[J]. 植物资源与环境学报,2006,15(2):47-49.
- [4] 钱丽华,沈国正,戴丹丽,等. 彩色马蹄莲的离体繁殖试验[J]. 浙江农业科学,2005(2):112-113.
- [5] 钱丽华,孙坚红. 彩色马蹄莲的组培快繁技术初探[J]. 杭州农业科技,2004(1):7-8.
- [6] 吴丽芳,熊 丽,屈云慧,等. 彩色马蹄莲组培研究[J]. 西南农业大学学报,1999,21(5):423-246.
- [7] 王进忠,高 文,高遐虹,等. 粉色马蹄莲组织培养研究[J]. 北京农学院学报,2005,20(2):10-13.
- [8] 徐晓峰,黄学林. TDZ:一种有效的植物生长调节剂[J]. 植物学通报,2003,20(2):227-237.

(责任编辑 李 洁)