

曼氏袋鼠爪组培快繁研究*

王明启, 王馨悦, 彭立新, 史滢滢
(天津农学院 园艺系, 天津 300384)

摘要: 以曼氏袋鼠爪 (*Anigozanthos manglesii*) 的根颈、花茎、叶为外植体, 接种于不同浓度激素配比的 MS 培养基上。结果表明: 根颈是曼氏袋鼠爪组培快繁的最适外植体; 诱导芽生长的最适培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 诱导率为 93.3%; 芽增殖的最适培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 增殖倍数为 7; 诱导生根的最适培养基为 1/2 MS+6-BA 0.01 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 每苗生根数为 6~8 个; 蛭石+草炭土+河沙 (2:2:1) 是组培苗成活及生长的最适基质配比, 成活率达 98%。

关键词: 曼氏袋鼠爪; 组培; 快繁; 培养基

中图分类号: S68

文献标识码: A

Studies on Tissue Culture and Fast Propagation of *Anigozanthos manglesii*

WANG Ming-qi, WANG Xin-yue, PENG Li-xin, SHI Yan-yu

(Department of Horticulture, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

Abstract: The root neck, scape and foliage of *Anigozanthos manglesii* were used as explants, which were inoculated to the MS substrate with different hormonal concentration. The results show that the root neck is the best explant of tissue culture and fast propagation for *Anigozanthos manglesii*. The best substrate to induce the growth of sprout is MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, and the inductivity is 93.3%. The most suitable substrate for proliferation of bud is MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L, and it proliferated 7 times. The best substrate to induce root is 1/2 MS + 6-BA 0.01 mg/L + NAA 0.1 mg/L, and every seedling proliferates 6~8 roots. The best substrate for living and growing of tissue culture seedling is compound of vermiculite, plant ash and sand (2:2:1), and the survival rate reaches 98%.

key words: *Anigozanthos manglesii*; tissue culture; fast propagation; substrate

曼氏袋鼠爪 (*Anigozanthos manglesii*) 又名袋鼠脚爪, 为石蒜科 (*Amaryllidaceae*) 袋鼠爪属 (*Anigozanthos*) 多年生草本植物, 原产澳大利亚, 是澳洲一种很有价值的栽培花卉。既适合私家花园种植, 又是一种非常好的切花。现已出口到世界的很多地方, 尤其是美国、英国、荷兰、以色列、日本等国家^[1]。在我国, 关于曼氏袋鼠爪的报道则很少。

2002年4月, 本课题组将曼氏袋鼠爪引入天津, 并在天津市农业高新技术示范园区进行了栽培试验, 对其育苗、栽培管理、切花采收等进行了研究^[2]。因其观赏价值和经济价值均较高, 因此, 可用以丰富我国绝大多数地区冬末春初切花种类单调的花卉市场。但是, 在华北地区, 温室栽培的曼氏袋鼠爪很难产生种子, 用分株法繁殖, 繁殖系数也较低, 难以满足大量繁殖的需求。为此, 我们从2005年春季开始对曼氏袋鼠爪进行快速繁殖研究, 试图利用组织培养方法提高曼氏袋鼠爪的繁殖系数, 扩大其种苗数量, 达到合理开发利用的目的。

* 收稿日期: 2006-10-08

资助项目: 天津市农业(植物)新品种引进计划项目“名优花卉新品种引种及开发”(02080)

作者简介: 王明启(1957-), 男, 吉林公主岭人, 教授, 硕士, 主要从事园林植物和园林绿地规划的教学与科研工作。联系电话: (022) 23781301, E-mail: wmingqi@yahoo.com.cn。

1 试验材料及方法

1.1 材料

曼氏袋鼠爪 (*Anigozanthos manglesii*) 的外植体取自天津市农业高新技术示范园区曼氏袋鼠爪植株。实验于 2005 年 3 月—2006 年 4 月进行。

1.2 外植体的消毒和接种

采用根颈、花茎、幼叶 3 种外植体, 首先用 70% 的酒精消毒 30 s, 再用 0.1% 的氯化汞溶液消毒 8~10 min, 最后用无菌水冲洗 5~6 次, 按其极性接种在选定的培养基上^[3]。

1.3 诱导、增殖与生根培养

以 MS 为基本培养基, 加琼脂 6.5 g/L, 蔗糖 30 g/L, pH 值调至 5.8 左右, 不同激素的配比见表 1。分装, 高压灭菌 20 min。在超净工作台上将外植体分别接种于诱导培养基上, 置于培养室中培养, 光照强度为 1 800~2 000 Lx, 温度为 22~25 °C, 光照时间每天为 10~12 h, 并观察、记录。

表 1 不同激素对比对芽诱导的影响

培养基代号	6-BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	接种芽数/个	形成芽数/个	成芽率/%	差异显著性	
						F _{0.05}	F _{0.01}
D ₂	2	0.10	30	28	93.30	a	A
D ₁	1	0.10	30	22	73.30	b	A
D ₃	3	0.10	30	17	56.70	c	B
D ₄	1	0.20	30	14	46.74	c	B
D ₅	2	0.20	30	12	0	c	B
D ₆	3	0.20	30	11	36.70		
D ₇	1	0.50	30	9	30.00		
D ₈	2	0.50	30	8	26.70		
D ₉	3	0.50	30	6	20.00		

将诱导培养基中生长的芽切割成长度为 2 cm 左右的小段, 在无菌条件下接种于增殖培养基 (激素配比见表 2) 中进行培养, 每瓶接 2~3 个芽。接种后置于培养室中培养, 条件同诱导培养, 接种 7 d 后开始观察、记录增殖情况。

表 2 不同激素对比对芽增殖的影响

培养基代号	6-BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	接种芽数/瓶	增殖芽数/瓶	增殖倍数
D ₁₀	0.1	0.01	1	1	0
D ₁₁	0.5	0.01	1	1	0
D ₁₂	1.0	0.01	1	1	0
D ₁₃	0.1	0.05	1	2~3	2~5
D ₁₄	0.5	0.05	1	2~3	2~5
D ₁₅	1.0	0.05	1	2~3	2~5
D ₁₆	0.1	0.10	1	4~6	5
D ₁₇	0.5	0.10	1	8~10	7
D ₁₈	1.0	0.10	1	3~5	4

将增殖培养基生长中的无根苗分离出来, 在无菌条件下接种于生根培养基 (激素配比见表 3) 中, 每瓶 2 株, 之后置于相同条件下培养。

表 3 不同激素对比对生根的影响

培养基代号	6-BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	接种无根苗数/瓶	生根数/苗
D ₁₉	0.00	0.01	2	1
D ₂₀	0.01	0.01	2	1
D ₂₁	0.50	0.01	2	1
D ₂₂	0.00	0.05	2	2~3
D ₂₃	0.01	0.05	2	2~3
D ₂₄	0.50	0.05	2	2~3
D ₂₅	0.00	0.10	2	3~5
D ₂₆	0.01	0.10	2	6~8
D ₂₇	0.50	0.10	2	2~4

1.4 栽培基质的筛选

共设置 9 种栽培基质, 见表 4。将生根组培苗洗去培养基, 栽植在经过消毒的栽培基质中, 栽植密度为 2 cm×3 cm, 覆盖塑料薄膜, 保持相对湿度为 65%, 观察、记录幼苗的生长情况。

表 4 不同栽培基质对组培苗成活率及生长情况的影响

基质类型	成活率/%	幼苗生长情况
蛭石+草炭土+河沙	98	叶片油绿, 幼苗生长 20 d 高约 15 cm
蛭石+草炭土	95	叶片油绿, 幼苗生长 25 d 高约 15 cm
蛭石+河沙	92	叶片嫩绿, 幼苗生长 25 d 高约 12 cm
蛭石+园土	88	叶片嫩绿, 幼苗生长 25 d 高约 10 cm
河沙+草炭土	80	叶片嫩绿, 幼苗生长 25 d 高约 8 cm
蛭石	76	叶片黄绿, 幼苗生长 25 d 高约 7 cm
河沙	69	叶片黄绿, 幼苗生长 25 d 高约 7 cm
园土	66	叶片发黄, 幼苗生长 25 d 高约 5 cm
草炭土	60	叶片发黄, 幼苗生长 25 d 高约 5 cm

1.5 统计分析

将根茎、花茎和幼叶消毒后分别接种到诱导培养基上, 分别在接种 7 d 和 30 d 后观察生长状况。生长良好、长出丛生芽最多的为最适合组织培养的外植体。对各种外植体的发芽株数进行统计分析, 对不同激素配比诱导率进行方差分析, 测定其在 0.01 水平上的方差显著性。成芽率=(萌芽数/接种外植体数)×100%; 增殖倍数=增殖培养 3 周后丛生芽数/接种芽数; 生根率=(生根数/接种外植体数)×100%。

2 结果与分析

2.1 外植体的选择

从表 5 可以看出 3 种外植体接种在诱导培养基 (MS+ 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L) 上的生长情况。接种 1 周后, 40% 的根颈长出绿色芽原基, 一个月后长出 4~5 个丛生芽, 高 1.5~2.0 cm。花茎和幼叶无任何生长迹象, 并逐渐变黄, 失去活力。因此, 根颈为曼氏袋鼠爪组培快繁的最佳外植体。

表 5 不同外植体接种后调查结果

外植体种类	接种数/个	接种 7 d	接种 30 d
根颈	10	40% 长出绿色芽原基	每个外植体长出丛生芽 4~5 个, 高 1.5~2.0 cm
花茎	10	变黄	枯萎
幼叶	10	变黄	枯萎

2.2 不同激素水平对芽诱导的影响

以根颈为外植体, 接种在不同浓度激素配比的 MS 培养基上, 观察丛生芽的诱导情况。接种 3 周后的调查结果见表 1。从表中可以看出, 将不同浓度的细胞激动素 (6-BA) 和生长素 (NAA) 进行配比后, 对丛生芽的诱导作用不同。方差分析表明, 曼氏袋鼠爪组培丛生芽诱导的最适激素配比为 D₂ (6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L), 成芽率为 93.3%。

2.3 不同激素对比对芽增殖的影响

不同激素对比对芽增殖的诱导情况见表 2。试管苗经过初代培养后, 如果在原培养基上继续培养, 增殖倍数很低, 须将其转移到适宜的培养基中, 才能提高增殖倍数。培养基中植物激素的状况在诱导植物组织形成器官的过程中起着重要作用。从表中可见, 随着 NAA 浓度的增加, 增殖倍数提高, 当 NAA 浓度达到 0.1 mg/L 时, 增殖倍数可达 7。6-BA 对幼芽增殖的影响与 NAA 不同。首先, 幼芽增殖对 6-BA 浓度要求较高; 其次, 随着 6-BA 浓度的增加, 增殖系数提高, 但当 6-BA 浓度达一定值后, 如果再增加, 增殖系数反而下降; 6-BA 浓度为 0.5 mg/L 时增殖倍数最高。本研究筛选出最佳的增殖激素配比为 D₁₇ (6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L), 4 周为一个继代周期, 每个芽可增殖 8~10 个。

2.4 不同激素配比对生根的影响

不同激素配比对生根的影响情况见表 3。植物激素在植物体内的作用可由基因控制, 从而控制植物的生长发育^[4]。外植体对激素的需求量取决于它本身内源激素的水平, 这一水平又随植物种类、组织部位及生长期等因素而变动^[5-6]。在生根培养基中, 接种 7 d 即可看到有根原基形成, 培养 4 周后即可将生根苗从瓶中取出。不同激素配比的生根效果不同, 随着 NAA 浓度的增加, 生根数提高, 当浓度达到 0.1 mg/L 时, 生根数可达 6~8 条。6-BA 的影响与增殖时相似, 当浓度达到一定值时, 浓度再增加, 则生根数下降。按平均生根数计, 诱导曼氏袋鼠爪生根的最佳激素配比为 D₂₆ (6-BA 0.01 mg/L+NAA 0.1 mg/L), 每苗的生根数达 6~8 条 (见图 1)。

2.5 不同基质对幼苗移栽成活率及生长的影响

对幼苗进行不同基质的移栽试验, 结果见表 4。从表中可以看出, 第一种基质移栽试验的成活率可达 98%, 且幼苗生长健壮, 叶片油绿, 移栽后一个半月便形成花序 (见图 2); 尽管第二种基质的幼苗成活率可达 95%, 但幼苗需要较长时间才能达到与第一种基质相同的效果; 第三、四、五种基质上的幼苗生长状况也较好, 但是高度稍低; 至于第六、七种基质, 虽然幼苗的成活率可达 70% 左右, 但由于透气性较差, 幼苗叶片黄绿、生长缓慢; 幼苗在最后两种基质上生长的效果最差, 可能是由于基质中既缺乏营养, 又缺乏透气性。

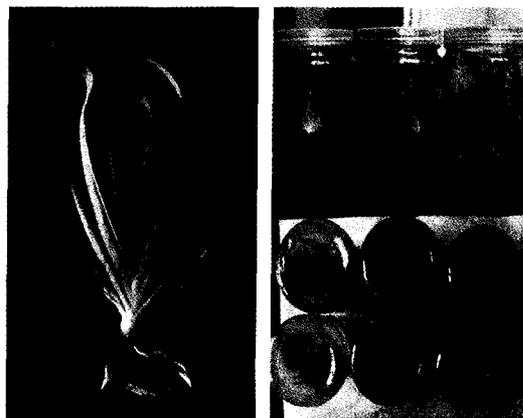


图 1 曼氏袋鼠爪组培苗生根培养 1 个月

3 小结

3.1 根颈是曼氏袋鼠爪组培快繁研究的最佳外植体。

3.2 在 MS 培养基中添加 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 最有利于丛生芽的诱导, 诱导率达 90% 以上。

3.3 最佳增殖培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 此时增殖倍数达 7 倍。

3.4 最佳生根培养基为 1/2 MS+6-BA 0.01 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 每苗生根数可达 6~8 条。

3.5 通过对栽培基质的比较试验发现, 有 2 种基质较适合曼氏袋鼠爪的移栽, 分别为蛭石+草炭土+河沙和蛭石+草炭土。



图 2 曼氏袋鼠爪组培苗生长情况

参考文献:

- [1] 王意成, 王祥, 姚欣梅. 新潮花卉养护与欣赏[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2002: 14-15.
- [2] 王明启, 鲁福成, 王姝, 等. 曼氏袋鼠爪的引种栽培研究[J]. 天津农学院学报, 2004, 11 (4): 12-15.
- [3] 彭立新, 韩志慧, 王姝. 中国芦荟组织培养快繁技术研究[J]. 天津农业科学, 2001, 7 (1): 46-48.
- [4] Rkoog F, Miller C O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro[J]. *Symp Soc Exp Biol*, 1957, 11: 118-130.
- [5] 高景辉. 植物生长与分化[M]. 台北: 茂昌图书有限公司, 1987: 48-98.
- [6] 徐妙珍. 林木组织培养的障碍因素及对策 (一) [J]. 林业科技, 1991, 16 (4): 5-9.