

红掌盆栽品种组织培养及种苗快繁技术

吴海红, 印东生, 赵兴华, 闫立萍

(辽宁省农业科学院 花卉研究所, 辽宁 沈阳 110161)

摘要:对红掌(*Authurium andraeanum*)盆栽品种“北京成功”和“粉色的爱”的组织培养和快速繁殖进行了研究,采用叶片、叶柄、茎段作为外植体进行诱导,结果表明:叶片的诱导效果最好;BA与KT混合使用比单一使用效果好;基本培养基改良MS优于1/2 MS,1/2 MS优于MS。红掌愈伤组织诱导以改良MS+BA 1+KT 1+NAA 0.1+IBA 0.1培养基效果最好,试管苗在MS+BA 1+IAA 0.05培养基上增殖倍数最高。

关键词:红掌;组织培养;种苗快繁

中图分类号:S 642.1⁺4;S 603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)09-0159-03

红掌(*Authurium andraeanum*)又名火鹤花、安祖花、花烛,为天南星科花烛属多年生附生常绿草本植物,原产哥伦比亚,1876年由法国著名植物学家 Elouard Andr. 首次发现,故有安祖花的谐音名。1940年以后许多国家进行引种、育种,培育出许多不同花色花型的品种,已知的约有500个品种,荷兰、哥伦比亚栽培较多,既可作盆花,也可作切花,以切花为主。所有红掌品种其原生环境均为热带和亚热带森林,为附生性植物,对栽培介质、光线、温度、相对湿度、水质、营养等条件的要求较高。

第一作者简介:吴海红(1972-),女,助理研究员,主要从事名优花卉组织培养工作。E-mail:wuhh1997@yahoo.com.cn。

基金项目:辽宁省重点实验室建设资助项目(200740315);沈阳市科技创新人才团队引进资助项目(1071275-0-02)。

收稿日期:2008-03-28

盆栽红掌株高40~50 cm,茎极短;叶自根茎抽出,心形,颜色鲜绿、革质;单生顶花,花梗长约50 cm,佛焰苞广心形,颜色鲜红,肉穗花序圆柱状,黄色。别致的叶形加之火红挺直的佛焰苞,犹如精美灯台上燃着的蜡烛,高雅别致、气势非凡。因此,红掌已成为当前国际上流行的名贵切花材料与盆栽品种。20世纪以来,荷兰将红掌作为一类重要的切花研究,并培育出许多切花和盆栽新品种。20世纪70年代引入我国,目前已经成为我国高档名贵的盆花和切花品种。

目前,国内外均采用组织培养的方法对红掌进行繁殖,国外的技术已经比较成熟,国内从事红掌组培研究的单位比较多,但存在建立再生系统慢、繁殖速率不高、种苗整齐度不均以及种苗易退化等问题。辽宁省农业科学院花卉研究所的组织培养研究室利用盆栽品种“北京成功”和“粉色的爱”2个品种针对国内存在的技术难题展开试验,探索出适合红掌脱分化和再分化的培养

Relationship Between Cell Differentiation and Aloin Production in the Callus of *Aloe Vera*.

LI Jing-yuan¹, CHAI Zhi-yan¹, DING Wei-hua¹, ZHAO Hong-yan¹, DAI Lei¹, HU Zheng-hai²

(1. College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007, China; 2. College of Life Science, Northwest University, Xi'an Shanxi 710069, China)

Abstract: The callus was induced from the leaf of *Aloe vera*, and the cell differentiation of the callus was observed with transmission electron microscopy (TEM). The aloin content in callus was determined by means of high performance liquid chromatography (HPLC). Based on this result, compared the relations with the extent of cell differentiation of callus and the production of aloin. The results showed it was appropriate for the callus to be induced and growing on the medium of MS+NAA 1 mL/L+0.5 mg/L. The lower the extents of cell differentiation of the callus were, the lower aloin contents were. Thus, firstly plant growth regulators affected the extents of cell differentiation of the callus and further affected the production of aloin. In a word, there were considerable relations between aloin content and cell differentiation of the callus.

Key words: Aloe; Tissue Culture; Cell differentiation; Aloin

基,以及使种苗长势均匀的繁殖方法和母苗抗退化的保存方法,从而建立一套红掌优良品种的快速繁殖体系。经培养的组培苗目前已经在温室中开花,植株长势和花色都可以和进口盆花相媲美。

1 材料与方法

1.1 外植体选择及处理

供试材料为荷兰引进红掌盆花“北京成功”和“粉色的爱”。选取生长势旺盛、植株强壮、单株着花数多的优良母株,剪下植株下部 8~10 cm 以下分蘖苗,将叶片、叶柄及茎段用洗衣粉清洗,流水冲洗 30~40 min。在超净工作台上用 75% 酒精将外植体浸泡 30 min,再用 0.1% 的氯化汞溶液消毒 8~10 min,然后用无菌水冲洗 3~5 次后备用,在无菌的培养皿上将叶片切成 1 cm 小方块,叶背朝下平放在诱导培养基上;叶柄切成 1 cm 长小段,平放在诱导培养基上;茎段尽量去除外苞片,保留茎尖,有极性地接种在诱导培养基上。经过 20~40 d 的培养,将诱导出的愈伤组织块切下,接入不定芽诱导培养基,2 周后愈伤组织上可见到不定芽(因品种的不同由愈伤组织产生不定芽的时间不同,最快的只有 15 d,慢的要经过 1~2 代转接),继续培养不定芽可长成具有明显根茎叶结构的小植株。

1.2 培养基设计

1.2.1 愈伤组织诱导培养基 基本培养基分别设置为改良 MS、1/2 MS、MS,6-苄基氨基腺嘌呤(BA)浓度分别为 0.1、2、3、4、5、6 mg/L,6-糠基腺嘌呤(KT)浓度分别为 0.05、1 mg/L,萘乙酸(NAA)浓度分别为 0、0.05、0.1 mg/L,吲哚丁酸(IBA)浓度分别为 0、0.05、0.1 mg/L,2,4-D 浓度分别为 0、0.1、0.2 mg/L,共计 21 个组合。

1.2.2 不定芽诱导培养基 基本培养基分别设置为改良 MS、1/2 MS、MS,6-苄基氨基腺嘌呤(BA)浓度分别为 0.1、0.5、1 mg/L,吲哚乙酸(IAA)浓度分别为 0、0.05、0.1 mg/L,共计 9 个组合。

1.2.3 培养条件 温度为(25±2)℃,光照强度 1 000~2 000 lx,光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

叶片及叶柄在愈伤组织诱导培养基上培养 2~8 周后,在叶片和叶柄切口处,可见到明显的淡绿色膨大组织和突起。茎尖培养 3~4 周后可直接长成小苗,根部长出愈伤组织块。表 2 表明,改良 MS 培养基的诱导率高于另 2 种培养基处理;BA 浓度在 1~2 之间效果比较好;由诱导愈伤组织效果最好的 A₆ 和 A₈ 都没加 2,4-D 分析,在诱导愈伤组织方面 2,4-D 不是必需的;随着细胞分裂素/生长素比值的增大,愈伤组织的诱导率下降;由 A₁₂ 和 A₁₄ 的诱导率和诱导速度没有大的差别分析 NAA 和 IBA 只用一种就可以。

诱导培养基筛选采用正交表 L₂₁(7×3⁵)安排试验,试验选择的因素与水平见表 1。

表 1 诱导培养基成分正交试验的因素水平

因素/mg·L ⁻¹	BA	KT	NAA	IBA	2,4-D	培养基
水平						
1	0	0	0	0	0	改良 MS
2	1	0.5	0.05	0.05	0.1	1/2MS
3	2	1	0.1	0.1	0.2	MS
4	3					
5	4					
6	5					
7	6					

表 2 筛选诱导培养基的正交试验结果

因素/mg·L ⁻¹	BA	KT	NAA	IBA	2,4-D	培养基	诱导率/%	诱导速度/d
培养基代号								
A ₄	1	0	0	0	0.1	1/2MS	40	26
A ₆	1	1	0.1	0.1	0	改良 MS	95	15(叶片)
A ₈	2	0.1	0.05	0.05	0	改良 MS	86	15(叶柄)
A ₁₂	3	0.5	0.1	0	0.2	改良 MS	73	30
A ₁₄	4	0	0.05	0.1	0.2	改良 MS	70	30
A ₁₅	4	0.5	0.1	0	0	1/2MS	67	40
A ₂₀	6	1	0.05	0	0.1	改良 MS	50	45
A ₂₁	6	0	0.1	0.05	0.2	1/2MS	45	56

2.2 不定芽的诱导

将上述诱导出的愈伤组织转接到不定芽诱导培养基上,2 周后愈伤组织上可见到不定芽,继续培养不定芽可长成具有明显根茎叶结构的小植株。每 5~6 周继代 1 次,将小苗切下接种到生根培养基上生根,下部的组织块切下接种到分化培养基上可不断增殖。表 4 表明,试验中各因素的最优方案为 A₁B₂C₂,即正交表中的 S₂ 培养基为不定芽分化率最高的培养基。

表 3 不定芽诱导培养基筛选采用正交表 L₉(3³)

因素/mg·L ⁻¹	培养基	BA	IAA
培养基代号			
1	改良 MS	0.5	0
2	1/2 MS	1	0.05
3	MS	2	0.10

表 4 筛选不定芽诱导培养基的正交试验结果

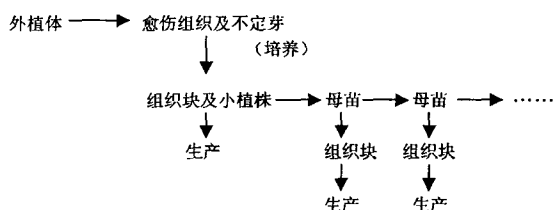
因素/mg·L ⁻¹	培养基	BA	IAA	分化率
培养基代号				
S ₁	改良 MS	0.5	0	0.59
S ₂	改良 MS	1	0.05	0.88
S ₃	改良 MS	2	0.10	0.72
S ₄	1/2MS	0.5	0.05	0.36
S ₅	1/2MS	1	0.10	0.49
S ₆	1/2MS	2	0	0.33
S ₇	MS	0.5	0.10	0.23
S ₈	MS	1	0	0.08
S ₉	MS	2	0.05	0.31

2.3 母苗的保存和再利用

2.3.1 母苗保存 将愈伤组织块及其上面诱导出的不定芽培养 5~6 周后,在组织块增大的同时,不定芽形成许多小植株,将长势最好的植株切下,剥取茎尖接种到

分化培养基上,作为母苗保存;将其余部分切块转接,纳入继代生产环节。

2.3.2 母苗再利用 接种到分化培养基上的茎尖经过5~6周的培养后,下部形成愈伤组织,上部形成小植株,仍将组织块切下纳入继代生产环节,上部小植株继续剥取茎尖接种到分化培养基上,作为母苗。如此周而复始,示意图如下:



2.4 继代增殖及完整植株形成

将用于生产环节的组织块切成6~8 mm³小块继续培养,每5~6周继代培养1次。每继代1次都可观察到组织块增殖和无数具有茎叶的植株,部分植株带有根。在A₁B₂C₂组合的培养基上,每块组织上可形成8~10株具有茎、叶的小植株和无数的不定芽。组织块上具有茎叶的植株可以切下栽到生根培养基上生根,加快生产速度并且达到壮苗的目的;也可以直接增加培养时间,让其在原有培养基上生根,简化培养环节,缺点是苗子比较细弱。另外,组织块在继代过程中要进行零激素处理,以解决激素积累问题。

表5 红掌试管苗移栽基质试验结果

移栽基质	移栽苗数	成活株数	成活率/%
沙·珍珠岩=2:1	2 000	1 580	79
水苔	2 000	1 998	99.9
草炭	2 000	1 968	98.4

2.5 试管苗移栽

接入生根培养基上的试管苗,待长出4~5片叶,有两节根以后进行出瓶移栽,移栽一周内不要浇营养液,此后每周喷施1次自配营养液。

结果表明,水苔作为基质成活率最高;草炭土采用加工比较好的,成活率稍低于水苔,两者植株生长都较快、植株健壮。考虑到成本,建议选择草炭土。试管苗移栽1个月后,可长出2~3片新叶,此时即可上盆定植。

3 结论与讨论

该试验中A₁A₂A₃均没有诱导出愈伤组织,由此得出不用细胞分裂素BA,只用KT没有效果;加BA和不加KT的组合只有A₄A₁₄A₂₁3个组合诱导出愈伤组织,BA和KT混合使用的有5个组合诱导出愈伤组织。由此看出细胞分裂素BA和KT混合使用比单独一种诱导愈伤组织的效果好。

从基本培养基上看,MS组合在60 d的培养时间内没有一个诱导出愈伤组织,1/2 MS组合有3个诱导出愈伤组织,改良MS组合有5个诱导出愈伤组织。由此可见,基本培养基改良MS优于1/2 MS,1/2 MS优于MS。

该试验中,A₆接种的叶片15 d诱导出明显愈伤组织,叶柄30 d后诱导出愈伤组织;A₈叶柄15 d诱导出明显愈伤组织;A₂₀、A₂₁只有叶片诱导出愈伤组织。由此可见,试验中生长素/分裂素的比值相对大一些的有利于叶片诱导愈伤组织,比值相对小一些的有利于叶柄诱导愈伤组织。

该试验结果表明,红掌愈伤组织诱导以叶片为外植体效果最好,其次是叶柄;培养基以改良MS+BA 1+KT 1+NAA 0.1+IBA 0.1培养基效果比较好,不定芽的诱导以MS+BA 1+IAA 0.05培养基效果较好。

参考文献

- [1] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1997.
- [2] 毛荣森. 花烛的组织培养[J]. 植物生理学通讯,1991,27(6):43.
- [3] 杨增海. 园艺植物组织培养[M]. 北京:农业出版社,1987.
- [4] 程治英. 几种热带观叶植物的组织培养[J]. 植物生理学通讯,1986,21(1):41.

Studies on Tissue Culture and Quick Propagation Technology for New Variety of Pot-Flower *Authurium*

WU Hai-hong, YIN Dong-sheng, ZHAO Xing-hua, YAN Li-ping

(Liaoning Flourcal Research Institute of Liaoning Academy of Agriculture Sciences, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: "Beijing Success" and "Fantasy love" was used to probe the method of tissue culture and quick propagation. The result showed that use laminae for inducing was the best; use mixture of BA and KT was better than use one single; the mended MS was better than 1/2 MS, 1/2 MS was better than MS. For inducing *Authurium* callus the best medium was: MS+BA1+KT1+NAA 0.1+IBA 0.1; for quick propagation the best medium was: MS+BA1+IAA 0.05.

Key words: *Authurium andraeanum*; Tissue culture; Quick propagation