维普资讯 http://www.cqvip.com

观音莲的工厂化组织培养

陈中林，王月英，姚丽娟，徐晓薇，曾爱平
（浙江省亚热带作物研究所，浙江 温州 325005）

摘 要：以黑叶观音莲为材料，根据试管苗工厂化生产的特点，研究了器官发生的诱导和随后的继代培养过程中影响丛生芽增殖系数的几个因子的效应以及降低成本的途径。

关键词：观音莲；子球茎；增殖；工厂化；组织培养
中图分类号：S682.360.38 **文献标识码**：B **文章编号**：0528-9017(2006)02-0143-03

观音莲（Alocasia）是多年生草本植物，是一种高档次、风格独特的室内观叶植物。目前，观音莲在国际观叶植物市场上很受欢迎，在高档次的室内摆饰及庭园和水景设计中，黑叶观音莲的应用比较广泛。其繁殖主要采用分株方法，由于繁殖系数低，限制了其在生产上的大规模栽培。应用组织培养繁殖观音莲已有一些报道，但这些研究多着重于外源激素对形态发生过程的调节和器官发生。而对观音莲在继代培养增殖过程中丛生芽的快速增殖及其影响因素以及降低生产成本则尚未见报道。

1 材料和方法

1.1 器官发生的诱导

取黑叶观音莲的子球茎为外植体，清水冲洗干净并吸干水分，先用75%酒精浸泡30～50 s，再用0.1%升汞灭菌8～9 min，用无菌水洗4～5次，然后将块茎一切为四，接种于MS + 6-BA 4 mg/L + NAA 0.5 mg/L的培养基上。

1.2 继代培养

从外植体形成的愈伤组织上切下再生的不定芽，接种在上述诱芽培养基上，如此重复继代培养多次后，进行各种因子对继代培养过程中不定芽增殖的影响试验。

1.3 培养条件

以MS、1/2MS（MS中大量元素减半、其他不变）为基本培养基，添加不同浓度组合的外源激

收稿日期：2005-10-09
基金项目：温州市科技计划项目（N2003A011）
作者简介：陈中林（1978－），男，浙江温州人，研究实习员，从事组织培养工作。
注：王月英为通讯作者。

3 结论

美人蕉作为优良的观赏植物，资源十分丰富。美人蕉叶多色艳，含有丰富的天然色素，而且易繁殖、生长快，是极具开发前景的天然色素资源。

美人蕉叶红色素提取的最适宜条件是：pH值1的40%乙醇作为提取剂，料液比1∶60（g：ml），提取时间90 min，提取温度80℃。美人蕉叶红色素应属于一种稳定性能较好的花色素苷类色素。有证据表明，花色素苷不仅无毒和无诱变作用，而且有治疗特性[4]。故美人蕉叶红色素作为食用天然色素具有良好的开发前景，但其化学结构、生理活性以及食用安全性还有待进一步研究。

参考文献：

[1] 丁利君，陈 珊．一品红红色素的稳定性研究［J］．食品工业科技，1999，20（6）：24－26．
[2] 赵吉寿，颜 莉．天然食用玉米黄色素提取与性质研究［J］．云南民族学院学报（自科版），1996，（3）：41－45．
[3] 瞿洪武．花卉栽培与盆景制作［M］．天津：天津科学出版社，1987．
[4] Annamaryjn D. sarma. Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidantion［J］. PHytochemistry, 1997, 45（4）：671－674.
[5] 高愿君．野生植物加工［M］．北京：中国轻工业出版社，2001：205－206．
[6] 王 辉．木棉花红色素的提取及性质研究［J］．林产化学与工业，2001，21（2）：57－61．

维普资讯 http://www.cqvip.com

素，蔗糖30 g/L，琼脂0.8 g/L。培养温度25±2℃，每天光照10 h，光强2 000 lx，pH值为5.8。

2 试验结果

2.1 器官分化的诱导

外植体接种后，在培养过程中先是外植体与培养基接触的基部膨大，培养23 d左右，体积膨大1倍，继续培养形成致密的表面有瘤状突起的愈伤组织，呈绿色。再继续培养30 d左右从愈伤组织上诱导产生丛生芽，将其切成单芽，并在此培养基上继续扩大培养形成愈伤组织，并产生大量的幼苗。

2.2 不同处理对不定芽增殖的影响

2.2.1 不同外源激素组合对不定芽增殖的影响

培养体为带1个芽的愈伤组织，将其接入不同激素组合培养基中，分别于接种后10 d、20 d、30 d进行分段观察记录，统计平均数。表1为5种不同的激素组合添加到继代培养基中继代培养观音莲的不定芽增殖情况。结果表明，以MS + 6-BA 4 mg/L + NAA 0.5 mg/L培养基效果最好，接种后30 d产生的不定芽数和接种数分别为4.51和4.08。另发现在培养过程中，1/2MS + BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L的愈伤组织呈现过条件化水浸状（即在一定时间范围内，促进管外细胞分裂的活性在增加，超过了最有效培养时间后，促进分裂的活性下降了，此现象称为过条件化（over-conditioning））。而把它转移到MS + BA 3 mg/L + NAA 1 mg/L + 2，4-D 0.2 mg/L上培养10 d左右即转为浅嫩绿。此机理可能是2，4-D有利于停止分裂的细胞启动脱分化（使已分化了的停止分裂的细胞失去分化特性，回复到未分化的幼龄状态，恢复细胞分裂的能力，叫做脱分化）。而1/2MS + BA 1 mg/L大部分是单芽出现，此方面的机理有待于研究。

表1 不同外源激素组合对不定芽增殖的影响

外源激素组合(mg/L)	不同培养天数(d)后不定芽数/接种数		
	10	20	30
MS + BA 3 + NAA 0.2	1.08/0.28	1.92/1.66	3.15/1.99
MS + BA 4 + NAA 0.5	2.00/1.41	3.00/2.53	4.51/4.08
MS + BA 3 + NAA 1 + 2,4-D 0.2	1.37/1.30	2.13/3.02	3.98/3.73
1/2MS + BA 1	0.34/0.28	1.60/1.66	1.92/1.99
1/2MS + BA 2 + NAA 0.2	1.36/0.63	2.00/1.15	2.40/1.67

注：单位是mg/L。

2.2.2 不同培养方式对不定芽增殖的影响

根据培养基中琼脂含量的多少将培养方式分为固体、半固体和液体3类。这里的半固体培养（在固体培养基的基础上琼脂含量减半且加入珍珠岩）即加入琼脂为4 g/L，珍珠岩4 g/L。培养体为带2芽的愈伤组织。

由表2可知，在不定芽增殖方面3种培养方式中以半固体培养的增殖系数最高，达4.30；另经观察用液体培养法培养1个月，每个芽基部长出4～5个不定芽，高至2～4 cm，且长出0.5～1 cm的根，可直接切出，进行下一代的培养或出瓶移栽，液体培养30～40 d为一代；固体培养中每个芽可长出3～4个不定芽，生长较慢，苗长到3.5～4 cm需培养50～60 d左右，因此固体培养50～60 d为一代；而半固体培养1个月，每个芽基部长出4～9个不定芽，高至2～3 cm，且长出0.5～1 cm的根，可直接切出移栽，半固体培养30～40 d左右为一代；因此从工厂化育苗来说半固体不定芽增殖培养的优势明显优于纯粹的固体与液体培养。

表2 不同培养方式对不定芽增殖的影响

培养方式	培养基	接种数	芽总数	新芽数	增殖系数	幼苗高度(cm)
固体培养	MS + BA 4 + NAA 0.5	26	107	81	3.13	2～3
液体培养	MS + BA 4 + NAA 0.5	22	112	90	4.09	2～4
半固体培养	MS + BA 4 + NAA 0.5	23	121	99	4.30	2～3

注：液体培养摇床速度为120 r/min；单位为mg/L；增殖系数 = 培养中产生的新苗数/原来的苗数；培养时间为30 d统计。

2.2.3 取材方式对不定芽增殖的影响

观音莲无性系在继代培养过程中，接种芽增殖形成的不定芽的数量差异较大，经培养30 d有的只有1～2个芽，而多的则可增殖到8～9个芽。表3表明，这种个体差异不能在继代培养过程中传递。2～3个芽和4个芽以上的芽丛切成单个芽接种后繁殖系数与本身为单个芽的相差不大。而且，从芽丛切下的单芽在培养中仍有的仅形成1个芽。但将这种单个芽切成两半或十字形切成4块，在培养过程中其基部迅速增大形成愈伤组织，并从愈伤组织上分化不定芽；切下这种带1个芽的愈伤组织块继代培养时，则可分化大量不定芽。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表3 不同取材方式对不定芽增殖的影响

取材方式	接种数	不定芽数	增殖系数
单芽	13	19	0.46
2~3个芽	18	26	0.44
4个以上芽	19	27	0.42
1芽纵切成2块	14	71	4.10
1芽十字形纵切	16	83	4.19

注：培养基为MS+BA 4+NAA 0.5，单位为mg/L，培养时间为30 d；增殖系数=培养中产生的新苗数/原来的苗数。

2.2.4 光照对不定芽增殖的影响

光照强度对芽苗增殖影响很大（表4），光照在2 000 lx时，增殖系数达3.05；而在光照低于100 lx以下（暗培养），增殖率明显下降，生长缓慢，苗长势弱，继代周期大大延长。这与赖钟雄等人（1998年，福建农业）得出的结论相似。将在560 lx与暗培养时形成的水浸状苗的愈伤组织转到2 000 lx的MS+BA 3 mg/L+NAA 1 mg/L+2，4-D 0.2 mg/L上8 d左右转为浅嫩绿。这可能与2，4-D启动脱分化有关。

表4 光照对不定芽增殖的影响

光照强度（lx）	接种数	不定芽数	增殖系数	说明
2 000	20	81	3.05	基部产生愈伤组织、苗高2.5 cm
560	24	74	2.10	苗有些黄化，高2 cm
暗培养	12	15	0.25	苗有些细弱且有些水浸状，高1~1.5 cm

注：培养基为MS+BA 4+NAA 0.5，单位为mg/L；培养体为带2个芽的芽丛；培养30 d统计。

3 讨论

培养基中外源激素成分是影响观音莲不定芽增殖的重要因素，本试验的结果也证明了这一点。在预备实验中，我们筛选了5种适合于观音莲不定芽增殖的培养基，对这5种培养基的进一步比较又发现其中尤以MS+BA 4 mg/L+NAA 0.5 mg/L最为适宜。经过9个多月的继代培养，不定芽仍以1:3~4的频率增殖。从而初步证明了这种培养基是观音莲继代培养中不定芽稳定增殖的适宜的培养基。

在试管苗的商品化生产中，除了提高不定芽的增殖率外，降低生产成本是提高经济效益的另一个重要方面。本实验的结果表明：固体培养法的繁殖系数约为3，每年可繁殖6~7代，一年由一个芽进行连续扩大繁殖，便可繁殖2 187株植物；液体培养法的繁殖速度则快些，其繁殖系数约为4，保守计算每年可繁殖8~9代，便可繁殖65 000株植物；半固体培养法的繁殖速度更快，其繁殖系数为4.30，保守计算每年可繁殖8~9代，便可繁殖116 882株。半固体培养可以显著提高观音莲的增殖速度，得到的再生苗多，短时间内便可获得大量具有优良性状且整齐均一的无性系后代。

在本试验中，我们观察到观音莲不定芽的增殖存在极大的个体差异，有的芽继代培养1个周期后仍只1个芽，而多的则可达9个不定芽。这种个体差异是不能通过继代培养传递的，可能与取材方式有关。通过将这种单个芽切割分块，诱导愈伤组织增生和从新形成的愈伤组织上分化不定芽，特别是切割后形成芽在下一代的培养中分化的不定芽数大大增加。证明了采用切割单芽诱导损伤效应对克服部分单芽不增殖的问题的可行性。

在批量生产过程中，用自来水代替蒸馏水，食用白砂糖代替分析纯蔗糖配制培养基，采用半固体培养（减少固定剂琼脂的用量）代替固体培养，不仅在诱导率和增殖率等主要指标上取得相仿效果，而且在提高瓶苗素质上有一定的促进作用，并可使其单项费用降低为原来的1/10~1/6。尤其是使用广口玻璃瓶（200 ml B型沙茶瓶）代替三角瓶烧瓶和硬质试管作为培养容器，其污染率没有增加，有效容积增大且破损率较低，与200 ml三角烧瓶相比，其所容纳的试管苗数增加了0.5倍，而沙茶瓶的价格约三角瓶的1/3，如以培养相同数量的试管苗所需容器成本计算，使用沙茶瓶约为三角烧瓶的1/4。在使用广口玻璃瓶同时配套使用聚丙烯塑料瓶盖封口，与使用聚丙烯塑料薄膜封口相比，在培养基配制、接种、出瓶等工序，可提高工效1倍以上；这样不仅节省投资、降低成本，更有利于工厂化规模生产。

参考文献：

[1] 赖钟雄，塔 峰．观音莲的试管育苗技术［J］．福建农业（果蔬园艺），1998，(9)：12．

[2] 梁国平．观音莲子球茎培养和快速繁殖［J］．广西热作科技，2000，(4)：11-13．

[3] 潭文澄，戴策刚．观赏植物组织培养技术［M］．北京：中国林业出版社，1991：60-69．

[4] 崔德才，徐培文．植物组织培养与工厂化育苗［M］．北京：化学工业出版社，2003．

[5] 黄学林，李菊筱．高等植物离体培养的形态建立及其调控［M］．北京：北京科学出版社，1995．

[6] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室．植物组织和细胞培养［M］．上海：上海科学技术出版社，1978．