

黑叶观音莲组培快繁技术体系研究

秦鹏, 罗燕羽, 黄绍力, 刘伟光 (广州市农业科学研究院, 广东广州 510890)

摘要 [目的]建立黑叶观音莲组培快繁技术体系。[方法]以黑叶观音莲的顶芽作为外植体,通过对外植体的消毒时间、不定芽诱导、增殖继代和生根培养等环节技术探究,建立黑叶观音莲组培快繁技术体系。[结果]最佳的外植体消毒时间为19 min,污染率为5.6%,褐变率为4.4%;培养基MS+6-BA 5.00 mg/L+NAA 0.20 mg/L最适合不定芽的诱导,诱导率62.2%;最佳的丛生芽增殖培养基为MS+6-BA 3.50 mg/L+NAA 0.30 mg/L,增殖倍数为4.3;最佳的生根培养基为1/2MS+NAA 0.20 mg/L+0.50 g/L活性炭,生根率达100%。[结论]该研究建立了黑叶观音莲组培快繁技术体系,为其工厂化生产提供了理论依据。

关键词 观音莲;组培;诱导;增殖;生根
中图分类号 S682.36 **文献标识码** A
文章编号 0517-6611(2020)02-0117-02
doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.02.031



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Acanthopanax amazonica*

QIN Peng, LUO Yan-yu, HUANG Shao-li et al (Guangzhou Institute of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510890)

Abstract [Objective] To establish the tissue culture regeneration system of *Acanthopanax amazonica*. [Method] With the top bud of the *A. amazonica* as the explant, the tissue culture regeneration system was established by the disinfection time, adventitious bud induction, proliferation and rooting culture. [Result] The best explant disinfection time was 19 min, the contamination rate was 5.6%, and the browning rate was 4.4%. MS+6-BA 5.00 mg/L+NAA 0.20 mg/L was suitable for adventitious buds in the medium of *A. amazonica*, the induction rate was 62.2%; MS+6-BA 3.50 mg/L+NAA 0.20 mg/L was suitable for bud proliferation, the proliferation coefficient was 4.3; 1/2MS+NAA 0.20 mg/L+0.50 g/L AC was suitable for rooting, the rooting rate reached 100%. [Conclusion] This study established a tissue culture regeneration system of *A. amazonica*, which provided a theoretical basis for its factory production.

Key words *Acanthopanax amazonica*; Tissue culture; Induction; Proliferation; Rooting

黑叶观音莲(*Alocasia amazonica*)是天南星科海芋属多年生草本植物,又名美叶芋、黑叶芋^[1-2]。近几年随着人们生活水平的提高和对室内环境的重视,黑叶观音莲作为一种室内观叶植物,因其别致的叶型、奇特的叶姿,又具有净化空气的功能,广受消费者欢迎^[3-4]。传统黑叶观音莲的繁殖方式是以分株繁殖为主,其繁殖系数低,繁殖速度慢,且生长整齐度低,既无法满足消费者的需求,也不利于黑叶观音莲的工厂化发展。该研究以黑叶观音莲茎尖为外植体,探究了不同消毒时间对外植体污染率和褐变率的影响,以及不同植物生长调节剂对丛生芽诱导、增殖和生根的影响,建立了完整的黑叶观音莲组培快繁技术体系,解决其快速繁殖问题的同时,还能在短时间内提供大量的优质种苗,不仅能满足消费者的需求,还能实现其工厂化生产和快速发展。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料取自广州市农业科学研究院花都基地。

1.2 方法

1.2.1 外植体的选取与消毒。在外植体采集前7 d,对所选取的植株采用50%多菌灵800倍液进行浇灌。去除叶片、根部,留叶柄长度1~2 cm。在超净工作台中,使用75%乙醇消毒30 s,无菌水清洗2~3次,再分别用0.1% HgCl₂溶液消毒,时间设置为15、17、19、21 min,共4个处理,设为A₁~A₄,然后用无菌水清洗5次,在消毒和清洗过程中持续摇晃。消毒完成后去除外植体苞叶,留下大小为0.5 cm×0.5 cm的茎尖,然后接入不定芽诱导培养基中。5 d后观察统计污染率和褐变

情况,污染率=污染数/接种数×100%;褐变率=褐变数/接种数×100%。

1.2.2 不定芽的诱导。将经过上述消毒处理的茎尖分别接入如下培养基中,B₁:6-BA 3.00 mg/L+NAA 0.05 mg/L; B₂:6-BA 4.00 mg/L+NAA 0.10 mg/L; B₃:6-BA 5.00 mg/L+NAA 0.20 mg/L; B₄:6-BA 6.00 mg/L+NAA 0.30 mg/L; B₅:6-BA 7.00 mg/L+NAA 0.40 mg/L,共5个处理,每处理接种45瓶,每瓶接入2个茎尖,重复3次。30 d后观察生长情况,统计丛生芽诱导率,不定芽诱导率=诱导数/接种数×100%。

1.2.3 丛生芽的增殖。将成功诱导的丛生芽,分别接入如下增殖培养基中,C₁:6-BA 2.00 mg/L+NAA 0.15 mg/L; C₂:6-BA 2.50 mg/L+NAA 0.20 mg/L; C₃:6-BA 3.00 mg/L+NAA 0.25 mg/L; C₄:6-BA 3.50 mg/L+NAA 0.30 mg/L; C₅:6-BA 4.00 mg/L+NAA 0.35 mg/L,每瓶接入6丛,每丛带有2~3个不定芽,每个处理接45瓶。每20 d继代1次,连续继代3次生长性状稳定后统计丛生芽增殖率,丛生芽增殖倍数=增殖数/接种数。

1.2.4 生根培养。选择株型粗壮的不定芽,切割成单株后接入含有0.5 g/L活性炭的生根培养基中,D₁:MS+NAA 0.10 mg/L; D₂:MS+NAA 0.20 mg/L; D₃:MS+NAA 0.30 mg/L; D₄:1/2MS+NAA 0.10 mg/L; D₅:1/2MS+NAA 0.20 mg/L; D₆:1/2MS+NAA 0.30 mg/L,共6个处理,每个处理接45瓶,每瓶8株,重复3次。培养20 d后,观察生根情况,统计生根率。

2 结果与分析

2.1 不同消毒时间对污染率和褐变率的影响 由表1可知,随着消毒时间的增加,污染率逐渐降低,但外植体的褐变率逐渐提高。消毒时间为15 min时,污染率最高,为12.2%;消毒时

间为 17 min 时,污染率有所下降,外植体开始出现褐变的情况;消毒时间为 19 min 时,污染率为 5.6%,褐变率为 4.4%;当消毒

时间达 21 min 时,虽然污染率降到了 2.2%,但此时的褐变率为 12.2%。因此,消毒时间为 19 min 时效果最好。

表 1 不同消毒时间对污染率和褐变率的影响

Table 1 Effects of disinfection time on pollution rate and browning rate

处理 Treatment	消毒时间 Disinfection time//min	外植体个数 Number of explant	污染数 Pollution number	褐变数 Browning number	污染率 Pollution rate//%	褐变率 Browning rate//%
A ₁	15	90	11	0	12.2	0 d
A ₂	17	90	7	3	7.8	3.3 c
A ₃	19	90	5	4	5.6	4.4 b
A ₄	21	90	2	11	2.2	12.2 a

2.2 不同生长调节剂浓度组合对不定芽诱导的影响 由表 2 可知,B₁ 处理无法诱导出不定芽,且外植体出现死亡;B₂ 和 B₃ 处理不定芽的诱导率较低,B₃ 处理还会出现大量的愈伤

组织,不利于丛生芽的诱导;B₃ 和 B₄ 处理的丛生芽诱导率差异不大,但 B₄ 处理会产生较多的愈伤组织。综合比较,B₃ 处理最适合于丛生芽的诱导。

表 2 不同培养基对不定芽诱导的影响

Table 2 Effects of different medium on adventitious bud induction

处理 Treatment	6-BA mg/L	NAA mg/L	接种瓶数 Number of vacci- nation bottles	不定芽诱导数 Adventitious buds induction number	诱导率 Inductivity %	性状 Traits	
						不定芽 Adventitious bud	愈伤组织 Callus
B ₁	3.00	0.05	45	0	0	无	无
B ₂	4.00	0.10	45	16	35.6	少量	无
B ₃	5.00	0.20	45	28	62.2	较多	少量
B ₄	6.00	0.30	45	39	86.7	较多	较多
B ₅	7.00	0.40	45	21	46.7	少量	大量

2.3 不同生长调节剂浓度组合对丛生芽增殖的影响 由表 3 可知,C₁ 与 C₂ 处理的丛生芽增殖倍数较低,且增殖的不定芽纤弱,影响继代增殖效果;C₃ 处理,虽然增值倍数能达到 3.4,但是芽体膨松,并且有较多的愈伤组织;C₃ 和 C₄ 处理虽然都只会产生少量的愈伤,但是 C₄ 处理的增殖倍数能达 4.3,

与 C₃ 处理的的增殖倍数相差 1.9,且增殖的丛生芽芽体饱满、粗壮,有利于丛生芽的增殖,产生的愈伤组织也比较少,增殖效果最佳。因此,最佳的丛生芽增殖培养基为 MS+6-BA 3.50 mg/L+ NAA 0.30 mg/L。

表 3 不同生长调节剂浓度组合对丛生芽增殖的影响

Table 3 Effects of different growth regulator concentration combinations on multiple shoots proliferation

处理 Treatment	6-BA mg/L	NAA mg/L	丛生芽数 Cluster bud number	增殖倍数 Proliferation multiple	生长情况 Bud growth
C ₁	2.00	0.15	270	1.3	丛生芽较少、纤弱
C ₂	2.50	0.20	270	1.6	丛生芽较少、纤弱
C ₃	3.00	0.25	270	2.4	丛芽纤细、少量愈伤
C ₄	3.50	0.30	270	4.3	丛芽饱满、粗壮、少量愈伤
C ₅	4.00	0.35	270	3.4	芽体膨松、较多愈伤

2.4 不同生根培养基对生根的影响 由表 4 可知,虽然不同的基础培养基和不同浓度的 NAA 都会影响黑叶观音莲组培苗的生根,且存在一定的差异,但其生根率基本能达 90%。在同一基础培养基下,随着 NAA 浓度的升高,生根率也逐渐提高;与全量 MS 培养基相比,1/2MS 培养基更有利于生根;当基础培养基为 1/2MS,NAA 浓度为 0.30 mg/L 时,生根率达 100%。

3 结论与讨论

此次试验中,消毒处理以 0.1% 升汞消毒 19 min 时效果最好,污染率为 5.6%,褐变率 4.4%。在丛生芽诱导培养基

表 4 不同生根培养基对生根的影响

Table 4 Effects of different medium on rooting

处理 Treatment	基础培养基 Basic medium	NAA mg/L	生根率 Rooting rate//%
D ₁	MS	0.10	86.4
D ₂	MS	0.20	92.5
D ₃	MS	0.30	94.5
D ₄	1/2MS	0.10	96.3
D ₅	1/2MS	0.20	98.4
D ₆	1/2MS	0.30	100

苗源,这些都不利于柑橘在绿化中推广应用;要想在城市园林绿化中大力推广应用柑橘,应充分利用现代互联网电商平台等技术,使柑橘苗木供货信息快速方便地让需求方知晓,从而加快柑橘苗木的销售、推广应用。

3.3 受养护成本影响在园林绿化中的利用率较低 虽然果树的果实带来了更好的观赏性,但是也增加了养护成本,果树的病虫害相对于一般树种也更多,并且果实成熟后会招致人们大量采摘,从而导致对果树的破坏,后期对腐坏掉落的果实进行清理也是一项花费巨大人力物力的工作。据《南方果树病虫害原色图鉴》记载柑橘病害达49种,虫害达82种,想要柑橘在绿地当中达到理想的观赏效果难度不小。在养护过程中观赏果树的整形修剪不能单纯按常规的果树栽培管理要求进行,除遵循果树的生长特性外,还要求与它的绿化功能相适应。观赏果树修剪分冬季修剪和夏季修剪,冬季修剪一般包括短截、缩剪、疏剪、长放等;夏季修剪一般包括摘心、剪梢、扭梢等。观赏果树一般以冬剪为主,适当配合夏剪^[13]。随着柑橘省力化栽培技术的逐渐成熟,将来也可借鉴用于观赏柑橘管理,养护成本高、利用率低的问题会得到逐步解决。

4 结语

果树一旦离开果园被应用于城市园林绿化当中去,其作为其果实生产的属性就已经弱化了^[14],更多的是继续发挥它的观赏价值、生态价值。一方面由于城市园林绿化养护过程中使用农药以控制园林植物病虫害,因此药物残留状态不

明;另一方面水果生产需配套相应的栽培技术规范,才能培育出外观美丽、风味醇厚的水果,而作为城市园林绿化中的观赏果树结出的果子风味相对差一些,因此不建议食用。随着人们生活水平的提高,园林绿化养护水平也逐渐提高,应趋利避害,合理运用,作为常用的观赏果树之一柑橘将越来越广泛地应用于园林绿化当中。

参考文献

- [1] 谢兰禹,王焕进,孟凡志.观赏果树在园林绿化中应用前景初探[J].山东林业科技,2017(3):115-119.
- [2] 张林,柯甫志,罗文杰.浙江省郁闭橘园更新改造情况及政策建议[J].浙江柑橘,2014(3):2-4.
- [3] 卢瑞嫦.破题柑橘机械化[J].现代农业装备,2014(5):12-15.
- [4] 成都天杰有机农业发展有限公司.柑橘衰老更新期的施肥管理[J].农化市场十日刊,2017(20):34-36.
- [5] 苏咏衣.柑橘文化[J].农家致富,2018(16):64.
- [6] 刘义满.我国古籍中柚的名实考定—兼谈柚的起源[J].中国农史,1989(4):62-71.
- [7] 华南农业大学农业历史遗产研究室.农史研究:第九辑[M].北京:农业出版社,1990:113-118.
- [8] 刘义满,魏玉翔.柑柑嫁接史考[J].浙江柑桔,1990(2):3-7.
- [9] 吴娅娜,易法银,橘井泉香[J].中华医史杂志,2011(6):377-379.
- [10] 刘静波,李卫东,陈鹏,等.观赏果树发展历史及研究进展[J].湖南农业科学,2015(5):149-151.
- [11] 舒巍,熊兴耀.长沙橘洲景区柑橘类果树在园林绿化中的应用[J].湖南林业科技,2008,35(2):54-55,65.
- [12] 满志敏.历史时期柑橘种植北界与气候变化的关系[J].复旦学报(社会科学版),1999(5):72-77.
- [13] 迟跃飞.分析观赏果树栽培管理技术措施[J].城市建筑,2016(2):283.
- [14] 白秀文,苏彩霞,包小明,等.本土观赏果树在内蒙古兴安盟园林绿化中的应用对策研究[J].中国园艺文摘,2014(11):81-83.

(上接第118页)

中,以MS+6-BA 5.00 mg/L+NAA 0.20 mg/L时效果较好,诱导率达62.2%,且产生的愈伤组织较少。在丛生芽增殖培养基中,以MS+6-BA 3.50 mg/L+NAA 0.30 mg/L的增殖倍数达4.3,增殖的丛生芽芽体饱满、粗壮,产生的愈伤组织也比较少,利于后期的生根培养。生根培养时,以1/2MS+NAA 0.30 mg/L+0.50 g/L活性炭时生根率最高,达100%。

前人研究^[5]表明,观音莲在增殖继代过程中容易生根,增殖苗在增殖培养过程中即可实现根芽同长,所以增殖苗无需再转入生根培养基,可直接进行炼苗移栽。但廖飞雄等^[6]认为,在增殖过程中生根会影响组培苗的增殖生长,如果能够抑制根系的生长,可促进增殖生长。虽然陈春满等^[7]和魏贤彪等^[8]认为多效唑对观音莲可以起到壮芽的作用,但是多效唑是一种三唑类药物,对植物后期的生长具有一定的副作用,不利于工厂化生产。该试验的增殖培养基既不会造成增殖芽生根,增殖的丛生芽芽体饱满、健壮,后期也能进行正常的生根培养,适合于黑叶观音莲的工厂化生产。

在黑叶观音莲生根方面,有研究者认为^[8-10],NAA对观音莲的生根无影响,培养基添加生长调节剂与否生根率都能达100%,但该试验结果表明,适当的NAA浓度是有助于生

根的,当以1/2MS为基础培养基,NAA浓度为0.30 mg/L时才能100%生根,这可能与增殖继代时所用的外源生长调节剂的种类、浓度和继代次数有关,具体影响因素还有待于进一步探究。

参考文献

- [1] 刘奕清.观音莲属组培苗的移植与管理技术[J].农业科技通讯,2006(3):51-52.
- [2] 冯美芳,吴华青,柯沛强.“小仙女”观音莲工厂化组织培养技术研究[J].山东林业科技,2017,47(5):46-48.
- [3] 来伊楠,陈波,卢山.天南星科室内观赏植物对苯的净化研究[J].浙江理工大学学报(自然科学版),2015,33(3):280-284.
- [4] 冯嘉仪,蔡颖华,肖云,等.5种天南星科观赏植物水培试验[J].广东农业科学,2015,42(4):35-39.
- [5] 陈荣,李庆玲,朱昌参.TDZ在观音莲组织培养中的应用[J].安徽农业科学,2011,39(36):22224-22225.
- [6] 廖飞雄,王恒明,邹春萍.黑鹅绒观音莲的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2005,41(1):63.
- [7] 陈春满,何蜜丽,伍绍建.多效唑对仙女观音莲组培苗和小盆栽苗生长的影响[J].广东农业科学,2011,38(23):51-53.
- [8] 魏贤彪,欧阳少林,胡庆.观音莲的组织培养[J].福建林业科技,2005(4):108-110.
- [9] 刘芳,韦鹏霄,岑秀芬,等.观音莲的组织培养研究[J].亚热带植物科学,2009,38(1):31-33.
- [10] 张施君,郑迎冬,杨承勇,等.6-BA和NAA对观音莲组织增殖和生根的影响[J].仲恺农业技术学院学报,2000,13(1):33-35,49.