

韩晓勇, 宋婷婷, 王立, 等. 靖江香沙芋组织培养快繁技术[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(1): 50-52.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.015

靖江香沙芋组织培养快繁技术

韩晓勇¹, 宋婷婷², 王立¹, 张培通¹, 郭文琦¹, 李春宏¹, 殷剑美¹

(1. 江苏省农业科学院经济作物研究所, 江苏南京 210014; 2. 江苏建康职业学院, 江苏南京 211800)

摘要:以靖江香沙芋茎尖为外植体进行快速繁殖技术研究。结果表明,75%乙醇浸泡 30 s 和 84 消毒液消毒 10 ~ 15 min 配合使用灭菌效果最好;芽诱导最适培养基为 MS + 0.5 mg/L TDZ,培养 25 d 后芽诱导率最高,为 80%,芽高度为 2.3 cm;继代增殖最适培养基为 MS + 1.0 mg/L TDZ,月增殖倍数可达 4.3;生根培养最适培养基为 1/2MS + 0.1 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA + 0.02% 活性炭,平均生根时间为 11 d,生根率达 100%,根系最长为 2.9 cm;生根培养 45 d,将试管苗移入营养土中生长,30 d 后移栽成活率达 100%。

关键词:靖江香沙芋;组织培养;芽诱导;快繁

中图分类号: S632.304+.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0050-03

靖江香沙芋属天南星科 (Araceae) 芋属 (*Colocasia*) 多子芋类型,是靖江市农民栽培的芋类作物当家品种。其块茎中淀粉含量高,既可以当粮食,又可做蔬菜,是老幼皆宜的滋补品,并含有多种维生素,有一股独特的香味。加工前景广阔,闻名并畅销广西、广东及港、澳地区。靖江香沙芋通常采用母芋留种方式进行繁殖,种性退化问题较为突出,抗病性和抗逆性减退。建立靖江香沙芋组培再生体系,不仅有利于品种的更新复壮,更可为种苗工厂化生产和新品种选育提供技术支持与储备。

近年来,芋组织培养已相继开展,对其茎尖和叶片等不同外植体培养进行了广泛的研究^[1-5]。但这些研究主要围绕外植体愈伤诱导及植株再生,而愈伤诱导过程中易发生变异,不利于保持本品种的优良特性。本研究旨在建立一种从芽直接到多芽体,多芽体到试管苗的繁殖方式。这种繁殖方式不仅可以提高繁殖系数和繁殖速度,而且利于保持本品种的优良特性,可有效保护具有地方特色的种质资源。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试材料为靖江香沙芋芋茎尖。

1.2 方 法

1.2.1 无菌材料的处理 选取保存完好、无腐烂斑点的芋,经 0.2% 的 K₂MnO₄ 消毒 5 min 后整齐排列在周转箱中,用沙子覆盖到整个芋块的 2/3 处,放置到光照培养箱中催芽。待芽生长到 1~3 cm 时切取茎尖,剥除外层 2~3 层叶片,流动水冲洗 10 min,在超净台上用 75% 乙醇浸泡 30 s,分别用 NaClO、84 消毒液 2 种消毒剂,NaClO 设 10、15、20 min,84 消

毒液设 5、10、15 min 3 个时间段处理灭菌,每种处理分别接种 12 个茎尖于 MS 培养基中,观察灭菌效果。

1.2.2 芽诱导分化 外植体经灭菌后接种在添加不同浓度的 6-BA 和 NAA 及 TDZ 和 IBA 组合的 MS 培养基中,接种 25 d 后比较芽的分化率、芽高度及叶片数等确定适宜芽分化的培养基。激素浓度设置 7 个处理,每个处理设 3 次重复,每次重复接种 15 个茎尖。

1.2.3 继代增殖 诱导培养基上萌发出的不定芽长到 2 cm 左右时,切取单芽接种在添加不同浓度的 6-BA 和 NAA 及 TDZ 和 IBA 组合的 MS 培养基中,30 d 时观察其增殖倍数。激素浓度设置 6 个处理,每个处理设 3 次重复,每次重复接种 20 个单芽。

1.2.4 生根 将高 2.0 cm 以上、带有 2 张或 2 张以上叶的健壮小苗切下,转入生根培养基中培养。生根基本培养基为 1/2MS 并添加 0.02% 活性炭。调查不同处理的平均生根时间,30 d 的生根数、生根率、叶片数、根系平均长度及根系形态。生根培养基设置 4 个处理,每个处理设 3 次重复,每次重复接种 15 个小苗。

1.2.5 炼苗与移栽 生根培养 45 d 的再生苗在室外常温下放置 5 d 后,打开瓶盖炼苗 1~2 d。将根系发达、株高 5~12 cm 的再生苗从培养瓶中取出,洗去根部的培养基,移栽到营养土中,并置于相对湿度 80%~90%、温度 20~25 °C 的环境中遮阴培养 1 周,2 周后正常光照培养,30 d 时统计成活率。

1.2.6 培养基灭菌及培养条件 高压灭菌前调整培养基 pH 值为 5.8,保持 121 °C 灭菌 20 min。培养室温度为 (25 ± 2) °C,光照度 2 000~3 000 lx,每天光照 12 h。培养基中琼脂的质量分数为 7 g/L,蔗糖质量分数为 30 g/L。

2 结果与分析

2.1 不同消毒液和灭菌时间对外植体灭菌效果的影响

从表 1 可以看出,外植体用 84 消毒液灭菌 10~15 min 效果最好,灭菌成功率达 83.3% 以上。NaClO 灭菌成功率远远低于 84 消毒液。

收稿日期:2014-03-03

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(12)2008]。

作者简介:韩晓勇(1983—),男,山西忻州人,硕士,助理研究员,从事特色经济作物组织培养技术研究。E-mail:hanxy84@163.com。

通信作者:殷剑美,博士,研究员,主要从事特色经济作物研究。Tel:(025)84390860;E-mail:yinjm2006@sohu.com。

表1 不同消毒液和灭菌时间对外植体灭菌效果的影响

消毒剂种类	时间 (min)	接种茎段数 (个)	污染数 (个)	污染率 (%)
NaClO	10	12	6	50.0
	15	12	4	33.3
	20	12	3	25.0
84 消毒液	5	12	6	50.0
	10	12	2	16.7
	15	12	1	8.3

2.2 芽诱导分化

从表2可以看出,MS+0.5 mg/L TDZ 和 MS+1.0 mg/L TDZ 培养基芽诱导率及芽长势优于另外几种培养基。其中以MS+0.5 mg/L TDZ 培养基芽诱导率最高,为80%,芽高度为2.3 cm(图1-A)。TDZ与6-BA 2种植物生长调节剂对芽诱导及生长的影响差异较大,与6-BA相比,TDZ对芽分化率及株高差异都达到显著水平,经25 d就能诱导茎尖长成2~3张叶。随着6-BA与NAA配比浓度的提高,芽分化率呈上升趋势,但株高及展开叶数呈下降趋势。当6-BA:NAA=4.0:0.2时,叶片容易发生卷曲。

表2 不同激素浓度和激素种类对芽诱导的影响

激素种类及浓度	接种数 (个)	分化数 (个)	分化率 (%)	株高 (cm)	展开叶数 (张)	植株表现
6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L	15	4c	26.7c	1.4c	1b	芽矮小
6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L	15	3c	20.0c	1.3c	1b	芽矮小
6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L	15	7b	46.7b	1.8b	2ab	芽矮小
6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L	15	7b	46.7b	1.4c	1b	叶片卷曲
TDZ 0.5 mg/L + IBA 0.0 mg/L	15	12a	80.0a	2.3a	3a	正常
TDZ 1.0 mg/L + IBA 0.0 mg/L	15	11a	73.3a	2.3a	3a	正常
TDZ 1.0 mg/L + IBA 0.4 mg/L	15	8b	53.3b	1.7b	2ab	芽粗短

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。表3、表4同。

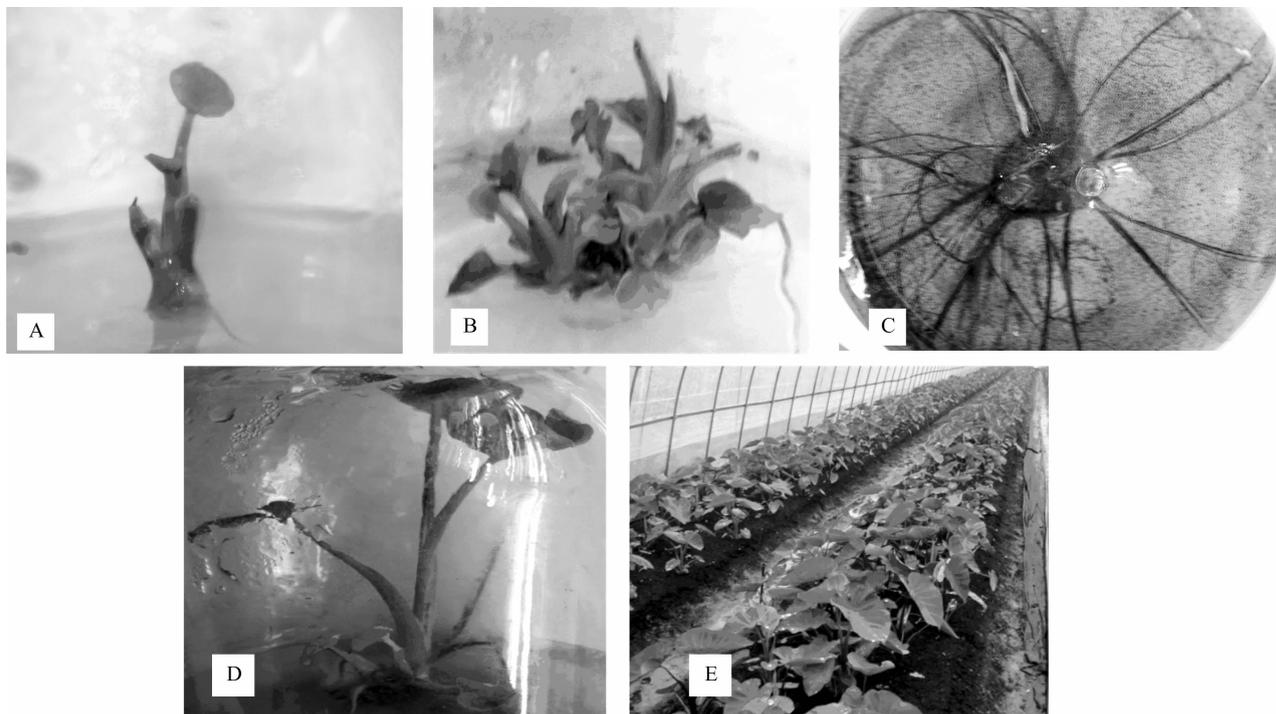


图1 靖江香沙芋组织培养及移栽过程

2.3 继代增殖

由表3可以看出,诱导丛生芽增殖最适宜培养基为MS+1.0 mg/L TDZ,丛生芽分化速度快,增殖倍数可达4.3(图1-B),与其他处理差异显著。方差分析结果显示,TDZ对芽增殖系数显著高于6-BA。随着6-BA与NAA配比浓度的提高,增殖系数呈先升后降的趋势。当6-BA:NAA=4.0:0.2时,增殖系数和芽均较小。

2.4 生根培养

由表4可以看出,不同激素浓度对组培苗生根影响较大。其中激素浓度为6-BA:NAA=0.1:0.5时生根效果最好,平均生根时间为11 d,生根率达100%,30 d的根系长度、叶片数以及株高均显著高于其他处理,分别为2.9 cm、3.5张和5.6 cm(图1-C)。随着NAA浓度增大,根系长度、叶片数和株高都有不同程度的下降,根系逐渐变短变粗,最终呈鸡爪

表3 不同激素浓度和激素种类对芽增殖的影响

激素种类	激素浓度 (mg/L)	接种数 (个)	芽数 (个)	增殖系数	生长描述
6-BA/NAA	1.5/0.2	20	34e	1.7e	芽较小
	2.0/0.2	20	42d	2.1d	芽较大
	4.0/0.2	20	32e	1.6e	芽很小
TDZ/IBA	0.5/0.0	20	78b	3.9b	正常
	1.0/0.0	20	86a	4.3a	正常
	1.0/0.4	20	75c	3.75c	易生根

表4 不同激素浓度对生根的影响

NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)	接种数 (个)	生根时间 (d)	生根苗数 (苗)	生根率 (%)	平均根长 (cm)	叶片数 (张)	株高 (cm)	植株表现
0.5	0.1	15	11	15	100a	2.9a	3.50a	5.6a	细长
1.0	0.1	15	13	15	100a	1.7b	2.80b	3.4b	粗短
2.0	0.1	15	13	15	100a	1.2c	2.25c	2.8c	鸡爪状,气生根
4.0	0.1	15	13	15	100a	1.0c	2.50bc	2.9c	鸡爪状,气生根

比,MS培养基中添加一定浓度的TDZ可以增强外植体的活力^[7]。本试验结果表明,与6-BA相比,TDZ更适于促进芋茎尖萌动、生长及丛生芽增殖,与崔瑾等得出的TDZ在不同基因型芋组织培养的生理效应和TDZ对茎尖生长的影响结论^[8-9]一致。适宜靖江香沙芋芽分化的培养基为MS+0.5~1.0 mg/L TDZ,其中以MS+0.5 mg/L TDZ的培养基芽诱导率和芽的高度方面表现最好;丛生芽增殖最适宜培养基为MS+1.0 mg/L TDZ,丛生芽分化速度快,增殖倍数可达4.3。林文丽等在海门香沙芋的组织培养中认为TDZ与IBA适当浓度配比有利于丛生芽的增殖^[2],本试验结果表明,添加IBA反而利于组培苗生根,形成差异的原因可能与品种的基因型有关。

在一定浓度范围内,提高NAA浓度有利于试管苗生根。但NAA浓度不能太高,当NAA浓度高于2.0 mg/L时,根系长度、叶片数和株高都出现不同程度的下降,说明高浓度NAA对试管苗的生长产生抑制作用,这种抑制作用随着NAA浓度的升高而越加明显^[10]。外植体在培养过程中体内的多酚氧化酶被激活,使细胞里的酚类物质氧化成棕褐色的醌类物质,有时使整个培养基变褐,从而抑制其他酶的活性,影响材料的培养。在培养基中加入0.02%的活性炭抗氧化吸附,并勤换培养基可以减少褐化^[11]。

本研究中靖江香沙芋茎尖离体培养过程中产生丛芽但未见愈伤组织的产生,这种直接通过“芽生芽”的方式获得与亲本类似的幼苗,可以减少变异的可能,有效保护具有地方特色的种质资源,这与张晓兰等的观点^[4]一致。

状,并伴有少量气生根出现。组培苗培养45 d左右(图1-D)移入苗床营养土中,15 d后开始长出新叶,30 d时成活率达100%(图1-E)。

3 讨论

TDZ(苯基噻二唑基脲)是一种人工合成的苯基脲重氮噻唑取代衍生物。Mok等首次发现TDZ有很强的细胞分裂素活性,浓度很低的TDZ能促进利马豆(lima bean)愈伤组织生长^[6]。Chand等发现,在芋茎尖分生组织培养中,与BA相

参考文献:

- [1] 杭玲,罗瑞鸿,苏国秀,等. 荔浦芋组培技术及应用[J]. 中国蔬菜,2006(5):61.
- [2] 林文丽,陈华. 海门香沙芋组培技术研究与应用[J]. 农业科技通讯,2008(6):43-46.
- [3] 曲芬霞. 贺州香芋组织培养离体再生体系的建立[J]. 贵州农业科学,2011,39(6):26-28.
- [4] 张晓兰,张伟强.“六月红”芋组培技术初探[J]. 福建果树,2003(4):11-12.
- [5] 郭德义. 长汀槟榔芋高效组培繁殖技术研究[D]. 福州:福建农林大学,2010.
- [6] Mok M C, Mok D S, Armsstrong D J, et al. Cytokinin activity of *N*-phenyl-*N'*-1,2,3-thiazol-5-ylurea (thidiazuron) [J]. *Phytochemistry*,1982,21:1509-1511.
- [7] Chand H, Pearson M N, Lovell P H. Rapid vegetative multiplication in *Colocasia esculenta* (L.) Schott (taro) [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*,1998,55(3):223-226.
- [8] 崔瑾,朱月林,李式军. 苯基噻二唑基脲(TDZ)在不同基因型芋组织培养中的生理效应[J]. 南京农业大学学报,2002,25(2):31-34.
- [9] 崔瑾,李式军. 苯基噻二唑基脲(TDZ)和琼脂对芋茎尖生长的影响[J]. 江苏农业科学,2002(6):82-83.
- [10] 黄永伟,贾明仁,王洪波,等. 影响文冠果组织培养苗离体生根的因素[J]. 北方果树,2010,7(8):85-87.
- [11] 刘根林,梁珍海,朱军. 活性炭在植物组织培养中的作用概述[J]. 江苏林业科技,2001,28(5):46-48.