

梁丽建, 邓衍明, 贾新平, 等. 红掌高效再生技术[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(12): 45–47.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.012

# 红掌高效再生技术

梁丽建, 邓衍明, 贾新平, 孙晓波, 田学书

(江苏省农业科学院园艺研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏南京 210014)

**摘要:**为建立高效稳定的红掌(*Anthurium andraeanum*)组培快繁技术体系,以红掌品种阿拉巴马、火焰为材料,研究了培养基、外植体、外源激素对阿拉巴马、火焰愈伤诱导、芽分化、组培苗生根的影响。结果表明:适宜愈伤诱导的基本培养基和激素为 1/4 MS 添加 6-BA 0.5 mg/L + 2,4-D 0.5 mg/L;不同品种适宜愈伤诱导的外植体不同,阿拉巴马适宜愈伤诱导的外植体为叶片,火焰为叶柄;适宜芽分化和增殖的培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.1 mg/L;适宜生根的培养基为 1/2MS + IBA 1.0mg/L。

**关键词:**红掌;组培快繁;愈伤诱导;分化培养;生根培养

**中图分类号:**S682.1<sup>+</sup>40.4<sup>+</sup>3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)12-0045-03

红掌(*Anthurium andraeanum*)别称安祖花,为天南星科花烛属多年生常绿草本植物,原产于南美洲热带雨林地区,在欧洲、亚洲、非洲等地皆有分布,因其花色艳丽、花姿奇特、花期持久而深受人们喜爱,是国际花卉市场上畅销的切花、盆栽花卉,具有极高的观赏价值、经济价值<sup>[1-2]</sup>。红掌是肉质根系,生长缓慢,分蘖较少,常规种子繁殖、分株繁殖难以满足市场需求,组织培养是红掌快速繁殖的有效途径。国内外学者对

红掌组织培养已开展了大量研究<sup>[3-4]</sup>,但是在红掌外植体选择、培养基组成及培养方法等方面尚无统一的结论。本研究以红掌优良品种阿拉巴马、火焰为材料,探讨外植体、基本培养基、外源激素等因素对红掌愈伤诱导、增殖、分化的影响,旨在为建立快速、高效的红掌组培快繁技术体系提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试红掌品种为阿拉巴马、火焰,来源于江苏省农业科学院园艺研究所观赏植物与茶研究室种质保存圃。

### 1.2 方法

1.2.1 外植体消毒 选取阿拉巴马、火焰的幼嫩叶片、叶柄及佛焰苞片,置于中性洗涤剂中振荡 10 min,纯净水冲洗 5~6 次,转入接种室用 75% 乙醇浸泡 30 s,无菌水冲洗 1 次,再

收稿日期:2015-07-01

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(14)5053]。

作者简介:梁丽建(1985—),女,硕士,研究实习员,主要从事花卉遗传育种研究。E-mail:ama166@163.com。

通讯作者:邓衍明,博士,副研究员,主要从事花卉遗传育种研究。

E-mail:nksdym@163.com。

[14] Waskiewicz A J, Cooper J A. Mitogen and stress response pathways: MAP kinase cascades and phosphatase regulation in mammals and yeast[J]. Current Opinion in Cell Biology, 1995, 7(6): 798–805.

[15] Guttman – Raviv N, Martin S, Kassir Y. Ime2, a meiosis – specific kinase in yeast, is required for destabilization of its transcriptional activator, Ime1[J]. Molecular and Cellular Biology, 2002, 22(7): 2047–2056.

[16] Zhao X H, Kim Y, Park G, et al. A mitogen – activated protein kinase cascade regulating infection – related morphogenesis in *Magnaporthe grisea*[J]. The Plant Cell, 2005, 17(4): 1317–1329.

[17] Truckses D M, Bloomekatz J E, Thorner J. The RA domain of Ste50 adaptor protein is required for delivery of Ste11 to the plasma membrane in the filamentous growth signaling pathway of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Molecular and Cellular Biology, 2006, 26(3): 912–928.

[18] Rispail N, Soanes D M, Ant C, et al. Comparative genomics of MAP kinase and calcium – calcineurin signalling components in plant and human pathogenic fungi[J]. Fungal Genetics and Biology, 2009, 46(4): 287–298.

[19] Jeon J, Go H J, Yoo S, et al. A putative MAP kinase kinase, MCK1, is required for cell wall integrity and pathogenicity of the rice

blast fungus, *Magnaporthe oryza* [J]. Molecular Plant – Microbe Interaction, 2008, 21(5): 525–534.

[20] Kojima K, Takano Yoshitaka, Yoshimi A, et al. Fungicide activity through activation of a fungal signalling pathway [J]. Molecular Microbiology, 2004, 53(6): 1785–1796.

[21] Hou Z, Xue C, Pang Y, et al. A mitogen – activated protein kinase – gene (MGF1) in *Fusarium graminearum* is required for female fertility, heterokaryon formation, and plant infection [J]. Molecular Plant – Microbe Interaction, 2002, 15(11): 1119–1127.

[22] Levin D E. Cell wall integrity signaling in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2005, 69(2): 262–291.

[23] Xu J R, Staiger C J, Hamer J E. Inactivation of the mitogen – activated protein kinase Mps1 from the rice blast fungus prevents penetration of host cells but allows activation of plant defense responses [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(21): 12713–12718.

[24] 王妍. 玉米大斑病菌信号转导途径中 *ras* 基因的克隆与功能研究[D]. 保定:河北农业大学, 2009: 1–3.

[25] 陈继圣. 稻瘟病菌 Rho 族同源蛋白 RAC1 功能分析及相关信号途径初探[D]. 福州:福建农林大学, 2007: 4–9.

放入加吐温 20 的 0.1% HgCl<sub>2</sub> 中振荡灭菌 8~10 min, 无菌水冲洗 5~6 次, 置于无菌滤纸上, 吸干表面水分, 然后将叶片、佛焰苞片切成约 1 cm<sup>2</sup> 的小片, 叶柄切成长约 1.5 cm 的小段备用。

1.2.2 愈伤组织诱导 选取阿拉巴马、火焰的叶片作为外植体, 以 1/8MS、1/4MS、1/2MS、3/4MS、MS 作为基本培养基, 附加激素 2,4-D 0.5 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L 进行基本培养基筛选。分别以阿拉巴马、火焰的叶片、叶柄、佛焰苞片作为外植体, 消毒后接种于 1/4MS + 2,4-D 0.5 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L 培养基中进行培养, 观察不同外植体的愈伤诱导情况。以阿拉巴马的叶片为外植体, 1/4MS 为基本培养基, 添加 9 种浓度配比的 2,4-D/6-BA, 筛选出最适组合。9 种组合 2,4-D/6-BA 分别为 0.25 mg/L/0.25 mg/L、0.25 mg/L/0.50 mg/L、0.25 mg/L/1.00 mg/L、0.50 mg/L/0.25 mg/L、0.50 mg/L/0.50 mg/L、0.50 mg/L/1.00 mg/L、1.00 mg/L/0.25 mg/L、1.00 mg/L/0.50 mg/L、1.00 mg/L/1.00 mg/L。上述试验中, 每种处理接种 25 瓶, 每瓶接种 2 个外植体。培养 30 d 后, 统计愈伤诱导率。

1.2.3 不定芽的分化 以 MS 为基本培养基, 设置 4 种激素组合, 将获得的愈伤组织切成直径约 0.5 cm 的小块, 接种至添加不同激素的分化培养基中。每处理接种 10 瓶, 每瓶接种 5 块愈伤。每 30 d 继代 1 次, 继代 2 次后统计不定芽的分化率。激素组合如下: 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.1 mg/L、6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.1 mg/L、6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L、6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L。

1.2.3 生根培养 以 1/2MS 为基本培养基, 设置 0.5、1.0、2.0 mg/L 3 种 IBA 浓度, 将不定芽接于培养基中, 每处理接种 25 瓶, 每瓶接种 2 株小苗, 培养 30 d 后统计生根率。

1.2.5 培养条件 上述试验中, 各培养基均附加琼脂 7 g/L, pH 值 5.8~6.0, 培养温度为 25~27 ℃, 每日光照 12 h, 光照度 1 500~2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 基本培养基对红掌愈伤诱导的影响

将红掌叶片消毒后接种在不同的基本培养基中。由表 1 可知, 在红掌愈伤诱导过程中, 不同基本培养基对愈伤诱导影响不同。虽然 2 个品种的外植体在同一基本培养基中愈伤诱导率差异较大(阿拉巴马远高于火焰), 但是其愈伤诱导规律一致, 诱导率由高到低均为 1/4MS > 1/8MS > 1/2MS > 3/4MS。其中阿拉巴马愈伤诱导率最高为 64%, 最低为 12%; 火焰愈伤诱导率最高为 26%, 最低为 0。从愈伤组织形态分析可见: 1/4MS 培养基为最优, 其上形成的红掌愈伤为黄绿色颗粒状, 生长速度快; 1/8MS 与 1/2MS 培养基次之, 愈伤为淡黄色或黄色, 生长速度相对较快; 3/4MS、MS 培养基明显较差, 未见愈伤形成或者形成的愈伤为黄褐色, 生长缓慢。综上所述, 1/4MS 培养基为红掌最适基本培养基。

2.2 外植体类型对红掌愈伤诱导的影响

以红掌的叶片、叶柄、佛焰苞片作为外植体, 研究外植体类型对愈伤诱导的影响, 结果见表 2。由表 2 可知, 在愈伤诱导过程中, 外植体类型不同, 愈伤诱导结果相差较大。在阿拉巴马 3 种外植体中, 叶片愈伤诱导能力最强, 诱导率达 64%;

表 1 不同基本培养基对红掌愈伤诱导的影响

品种	基本培养基	外植体数 (个)	愈伤诱导率 (%)	愈伤组织形态	
				颜色	致密度
阿拉巴马	1/8MS	50	60	淡黄色	疏松
	1/4MS	50	64	黄绿色	正常
	1/2MS	50	54	黄色	稍致密
	3/4MS	50	20	黄褐色	疏松
	MS	50	12	黄褐色	疏松
火焰	1/8MS	50	20	淡黄色	疏松
	1/4MS	50	26	黄绿色	稍致密
	1/2MS	50	18	黄色	稍致密
	3/4MS	50	10	黄褐色	疏松
	MS	50	0		

表 2 不同外植体类型对红掌愈伤诱导的影响

品种	外植体	接种数 (个)	出愈数 (个)	愈伤诱导率 (%)
阿拉巴马	叶片	50	32	64
	叶柄	50	9	18
	佛焰苞片	50	0	0
火焰	叶片	50	13	26
	叶柄	50	18	36
	佛焰苞片	50	0	0

其次为叶柄, 诱导率为 18%; 佛焰苞片最差, 没有愈伤形成。火焰则是叶柄的愈伤诱导能力最强, 诱导率为 36%; 叶片次之, 诱导率为 26%; 佛焰苞片最差, 未见愈伤形成。

2.3 外源激素对红掌愈伤诱导的影响

将消毒后的阿拉巴马幼嫩叶片接种到附加不同激素浓度的 1/4 MS 培养基上, 结果见表 3。由表 3 可知, 9 种组合中, 组合 5 上的愈伤诱导率最高, 为 64%; 组合 7 上的诱导率最低, 为 30%。此外, 当 2,4-D 浓度达到 1 mg/L 时(组合 7、8、9), 诱导率分别为 30%、44%、38%, 表明高浓度的 2,4-D 不利于红掌叶片愈伤组织的形成。

表 3 不同激素浓度和对比对红掌愈伤诱导的影响

组合编号	2,4-D 浓度 (mg/L)	6-BA 浓度 (mg/L)	接种数 (个)	愈伤数 (个)	愈伤诱导率 (%)
1	0.25	0.25	50	29	58
2	0.25	0.5	50	26	52
3	0.25	1.00	50	27	54
4	0.50	0.25	50	27	54
5	0.50	0.50	50	32	64
6	0.50	1.00	50	26	54
7	1.00	0.25	50	15	30
8	1.00	0.50	50	22	44
9	1.00	1.00	50	19	38

2.4 外源激素对红掌愈伤不定芽分化的影响

将阿拉巴马的愈伤组织接种在含不同激素的分化培养基上培养, 结果见表 4。由表 4 可知, 组合 3、4 的不定芽分化优于组合 1、2, 不仅增殖倍数较高, 且芽的长势较好、较粗壮, 表明 6-BA 1 mg/L 为较适合的分裂素浓度。在组合 3 与组合 4 中, 组合 3 又优于组合 4, 分化率高, 为 76%, 增殖倍数为 4.13, 表明 IBA 0.1 mg/L 为较适合的生长素浓度。

表 4 不同激素浓度和对比对红掌愈伤分化的影响

组合 编号	6-BA 浓度 (mg/L)	IBA 浓度 (mg/L)	分化率 (%)	增殖倍数	芽状态
1	0.5	0.1	46	2.21	细小
2	0.5	0.2	40	2.00	细小
3	1.0	0.1	76	4.13	粗壮
4	1.0	0.2	52	3.92	较粗壮

## 2.5 生根培养

将长至 2 cm 左右的红掌小芽转至 3 种生根培养基上诱导生根,结果见表 5。由表 5 可知,3 种培养基的生根率均能达到 100%,但是在 IBA 1 mg/L 上效果最好,诱导时间最短,为 18 d,且根较粗壮,苗生长较好。

表 5 不同 IBA 浓度对试管苗生根的影响

组合 编号	IBA (mg/L)	生根率 (%)	诱导时间 (d)	平均根数 (条)	根状态
1	0.5	100	22	2.7	较长、健壮
2	1.0	100	18	3.4	较长、健壮
3	2.0	100	23	3.6	较短、水渍化

## 3 结论与讨论

红掌愈伤组织诱导是进行组培快繁的前提。培养基种类是影响愈伤诱导的重要因素。有学者认为,培养基中铵态氮浓度为 206 ~ 825 mg/L 时,较适宜于红掌的愈伤诱导,高于或低于这一浓度范围均不利于愈伤的形成<sup>[5-6]</sup>。本研究结果也支持这一结论,铵态氮浓度在这一范围的 1/8MS、1/4MS、1/2MS 培养基上红掌愈伤诱导率相对较高,且形成的愈伤形态较好,为黄绿色或黄色颗粒状。而不在这一范围的 3/4MS、MS 培养基上红掌不仅愈伤诱导率较低,且形成的愈伤形态较差,为黄褐色水渍状。1/4MS 培养基为红掌愈伤诱导最适基本培养基,其愈伤诱导率最高,形成的愈伤形态最好,为黄绿色颗粒状。

红掌的叶片、叶柄、佛焰苞片等部位均能作为外植体诱导愈伤组织,但不同的外植体其愈伤诱导能力差异较大<sup>[7]</sup>。吕复兵等<sup>[8]</sup>、周丽丽<sup>[9]</sup>认为,叶片的愈伤诱导能力高于叶柄、佛焰苞片。本研究结果表明,不同红掌品种叶片、叶柄的愈伤诱导率不同。其中,阿拉巴马叶片的愈伤诱导能力高于叶柄,但火焰叶柄的愈伤诱导能力却高于叶片。因此,在组培快繁中应根据不同的品种筛选最适的外植体。

外源激素是影响组培快繁的重要因素<sup>[10]</sup>。有学者认为,6-BA、2,4-D 对红掌愈伤诱导的效果较好<sup>[11-13]</sup>,但对于具体的使用浓度却意见不一<sup>[14]</sup>。兰芹英等认为,较高浓度的激素用量有利于红掌叶片愈伤的诱导<sup>[15]</sup>。张桂和等认为,红掌再生各个阶段的激素水平都应小于 1.0 mg/L,稍高即表现出激素累加效应<sup>[16]</sup>。本研究结果表明,当 6-BA 与 2,4-D 浓度均为 0.5 mg/L 时,红掌的愈伤诱导效果最好,当 2,4-D 浓度为 1 mg/L 时,愈伤诱导率普遍较低。因此,在愈伤诱导过程中应使用较低浓度的生长素。潘学峰等<sup>[17]</sup>、肖三元等<sup>[18]</sup>发现,6-BA 是影响红掌愈伤组织增殖与芽分化的重要激素,但单独使用时往往芽的增值率较低,需要与低浓度的生长

素配合使用。本研究结果表明,6-BA 1 mg/L + IBA 0.1 mg/L 为最适的芽增殖培养基,增殖倍数可达 4.13。赵卫国等发现,IBA 能有效地促进红掌生根<sup>[19]</sup>。本研究结果表明,红掌在 3 种培养基中均能生根,但当 IBA 浓度为 1 mg/L 时效果最好,这与赵卫国等的研究结果<sup>[19]</sup>一致。

## 参考文献:

- [1] Gantait S, Sinniah U R, Mandal N, et al. Direct induction of protocorm-like bodies from shoot tips, plantlet formation, and clonal fidelity analysis in *Anthurium andreanum* cv. CanCan [J]. Plant Growth Regulation, 2012, 67(3): 257-270.
- [2] Ge Y Y, Zhang F, Shen X L, et al. Genetic variations within a collection of *Anthuriums* unraveled by morphological traits and AFLP markers [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2012, 45: 34-40.
- [3] 李枝林, 郑丽. 红掌研究综述 [J]. 云南农业大学学报, 1997, 12(2): 143-146.
- [4] 杜平, 邵小斌. 我国红掌的研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2011, 39(6): 325-327.
- [5] Pierik R M. *Anthurium andraeanum* plantlets produced from callus tissues cultivated *in vitro* [J]. Physiologia Plantarum, 1976, 37(1): 80-82.
- [6] 夏时云, 麦瑜玲, 许继勇, 等. 提高红掌叶片愈伤组织诱导和植株分化及壮苗率的技术研究 [J]. 中国农学通报, 2005, 21(2): 45-48.
- [7] 姜蕾, 兰天维, 黎扬辉, 等. 影响红掌愈伤组织诱导、增殖和芽分化的因素 [J]. 种子, 2006, 26(11): 26-30.
- [8] 吕复兵, 王碧青, 廖飞雄, 等. 红掌叶片离体培养与植株再生研究 [J]. 广东农业科学, 2002(6): 24-25.
- [9] 周丽丽. 红掌组织培养与植株再生技术的研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2012.
- [10] 王肖红, 曾爱松, 高兵, 等. 结球甘蓝不定芽诱导及遗传转化的影响因子 [J]. 江苏农业学报, 2013, 29(4): 918-920.
- [11] 陈海, 黄小江, 林思诚, 等. 红掌组织培养和快速繁殖技术 [J]. 广西热带农业, 2009(3): 6-8.
- [12] Bejoy M, Sumitha V R, Anish N P. Foliar regeneration in *Anthurium andreanum* Hort. cv. Agnihotri [J]. Biotechnology, 2008, 7: 134-138.
- [13] Yu Y, Liu L, Wang J. Plant regeneration by callus-mediated protocorm-like body induction of *Anthurium andreanum* Hort. [J]. Agric Sci China, 2009, 8: 572-577.
- [14] 崔瑞峰, 杜娟, 马瑞霞. 红掌叶片愈伤组织诱导的研究 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 24-26.
- [15] 兰芹英, 仇玉萍, 张远辉, 等. 不同红掌品种的叶片、叶柄和茎段愈伤组织的诱导及植株再生 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(6): 1006-1008.
- [16] 张桂和, 徐碧玉. 安祖花茎段培养与离体繁殖 [J]. 上海农业学报, 2001, 17(3): 13-16.
- [17] 潘学峰, 潘海, 洪世军. 红掌叶片愈伤组织的诱导与植株再生 [J]. 海南大学学报, 2000, 18(2): 144-149.
- [18] 肖三元, 梁国平. 红掌组织培养及快速繁殖 [J]. 云南热作科技, 2000(2): 12-13.
- [19] 赵卫国, 石岭, 高雷, 等. 生长素的种类和浓度对红掌组培苗生根的影响 [J]. 华北农学报, 2007, 22(专辑): 52-56.