

王立,殷剑美,张培通,等. 兴化龙香芋脱毒快繁组培技术体系的建立与优化[J]. 江苏农业科学,2018,46(23):55-59.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.23.013

兴化龙香芋脱毒快繁组培技术体系的建立与优化

王立,殷剑美,张培通,韩晓勇,郭文琦,李春宏

(江苏省农业科学院经济作物研究所,江苏南京 210014)

摘要:以兴化龙香芋茎尖为材料,通过设计 $L_9(3^3)$ 正交试验,以 MS + 30.0 g/L 蔗糖 + 6.0 g/L 琼脂为基本培养基,分别加入不同质量浓度的 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、噻苯隆(TDZ)、萘乙酸(NAA)和活性炭,进行兴化龙香芋脱毒快繁组培技术体系的研究。结果表明,兴化龙香芋愈伤组织的最佳诱导培养基为 MS + 0.5 mg/L TDZ + 1.0 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L 6-BA + 30.0 g/L 蔗糖,不定芽的最佳诱导培养基为 MS + 0.5 mg/L TDZ + 1.0 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L 6-BA + 30.0 g/L 蔗糖,不定芽增殖的最佳培养基为 MS + 1.0 mg/L TDZ + 1.0 mg/L 2,4-D + 0.2 mg/L 6-BA + 30.0 g/L 蔗糖,组培苗生根的最佳培养基为 1/2 MS + 0.5 mg/L NAA + 0.1 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L 活性炭 + 30 g/L 蔗糖。

关键词:兴化龙香芋;茎尖;组织培养;正交试验

中图分类号: S632.304⁺.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)23-0055-05

兴化龙香芋是江苏省泰州市兴化地区特有的芋头品种,其母芋近圆形,肉质白、粉而香,子芋少,呈椭圆形,肉质粉且糯^[1]。兴化龙香芋采用垛田种植,生长方式独特,种植历史悠久,耐贮运,品质优良,含有丰富的蛋白质、淀粉以及钙、铁等矿物质,是人们喜食的蔬菜品种之一。随着纪录片《舌尖上的中国》的热播,兴化的垛田龙香芋成功申请了国家地理标志保护,其品牌价值迅速提升,市场需求量巨大。但是,由于生产上常采用块茎繁殖龙香芋,长期的自繁留种易引起兴化龙香芋的种性退化,导致芋病毒病的普遍发生,从而严重影响兴化龙香芋的产量和品质^[2]。目前,采用组织培养技术对芋组织进行脱毒快繁的研究已有报道,通过组织培养脱毒技术不但可以降低芋植株的发病率,还能明显提高芋头的产量和品质^[3-5]。

正交试验不仅可以大大减少工作量,还可以通过分析极差和方差结果,发现组培过程中的关键因素,获得最佳培养条件和培养基最优组合,因此在植物组织培养中具有重要的应

用价值^[6]。本研究通过对兴化龙香芋茎尖组培技术进行研究,旨在建立并优化兴化龙香芋茎尖脱毒快速繁殖组织培养技术体系,探索兴化龙香芋农家优良品种脱毒复壮的有效方法,为优良龙香芋种源的生产提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选择大小一致、外表无创伤的兴化龙香芋球茎,用 0.5% K_2MnO_4 浸泡 5 min 后,用沙土覆盖至整个芋块的 2/3 处,放置于光照培养箱中,在温度为 25℃、相对湿度为 70% 的条件下催芽 10 d 左右。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的选取及消毒灭菌 待球茎顶芽生长到 3~4 cm 长时,剥除外层 2~3 层鳞片,切下顶芽,切成带球茎 1 cm³ 左右的芽,用流动的水冲洗 10 min。在无菌条件下进行以下操作:用 70% 乙醇表面消毒 2 次,每次 30 s,然后放在 5% 次氯酸钠溶液中消毒 10 min,最后用无菌水清洗 3~4 次,获得无菌外植体;使用体视显微镜和解剖针将顶芽外层的鳞芽剥除,获得长 1.0 mm 左右的茎尖生长点。

1.2.2 愈伤组织的诱导 在无菌条件下,对上述所得的无菌外植体进行不定芽的诱导。培养条件:白天温度为 (25 ± 1)℃,夜间温度为 (20 ± 1)℃,湿度为 65%~70%,光照度为 3 000 lx,光照时间为 12 h/d。诱导培养基以 MS + 30 g/L 蔗糖 + 6.0 g/L 琼脂为基本培养基(pH 值为 5.8),按照表 1 的配方分别添加 0.1、0.5、1.0 mg/L TDZ(噻苯隆),0.1、0.5、1.0 mg/L

收稿日期:2017-06-20

基金项目:国家自然科学基金(编号:31501776);江苏省自然科学基金(编号:BK20140752);江苏省农业科学院基本科研业务专项[编号:ZX(15)4014]。

作者简介:王立(1985—),男,河南郑州人,博士,副研究员,主要从事芋资源鉴定与种质创新方面的研究。E-mail: wljaas@163.com。

通信作者:殷剑美,博士,研究员,主要从事特色经济作物的研究工作。E-mail: yinjm2006@jaas.ac.cn。

seed coat polymer biosynthesis in *Medicago truncatula* [J]. Plant Physiology, 2014, 165(4): 1424-1439.

[23] Zhou H, Lin W K, Liao L, et al. Peach MYB7 activates transcription of the proanthocyanidin pathway gene encoding leucoanthocyanidin reductase, but not anthocyanidin reductase [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6(10): 908.

[24] Pireyre M, Burow M. Regulation of MYB and bHLH transcription factors: a glance at the protein level [J]. Molecular Plant, 2015, 8(3): 378-388.

[25] 杜海,刘蕾,唐晓凤,等. 大豆 MYB 转录因子 GmMYBZ2 的鉴定、突变分析及原核表达 [J]. 农业生物技术学报, 2009, 17(2): 301-306.

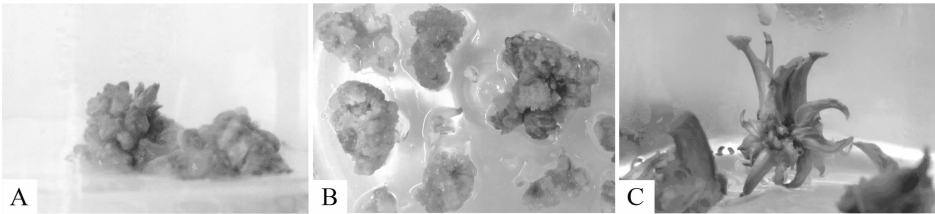
2,4-D(2,4-二氯苯氧乙酸)和 0.1、0.2、0.3 mg/L 6-BA(6-苄氨基腺嘌呤)。培养 40 d 后,统计愈伤组织诱导情况。愈伤组织诱导率=诱导出愈伤组织的外植体数/接种的外植体总数×100%。每个处理设 15 个外植体,重复 3 次,计算平均值。

表 1 愈伤组织诱导的 $L_9(3^3)$ 正交试验设计

水平	因素		
	A:TDZ 浓度 (mg/L)	B:2,4-D 浓度 (mg/L)	C:6-BA 浓度 (mg/L)
1	0.1	0.1	0.1
2	0.5	0.5	0.2
3	1.0	1.0	0.3

1.2.3 不定芽诱导 在无菌条件下,对诱导获得的愈伤组织进行不定芽的诱导。诱导培养基以 MS+30 g/L 蔗糖+6.0 g/L 琼脂为基本培养基,附加 0.1、0.5、1.0 mg/L TDZ,0.1、0.5、1.0 mg/L 2,4-D 和 0.1、0.2、0.3mg/L 6-BA(表 1)。培养 45 d 后,观察并统计外植体的不定芽诱导情况。不定芽诱导率=诱导出不定芽的外植体数/接种外植体总数×100%。每个处理设 15 个愈伤,重复 3 次,计算平均值。

1.2.4 不定芽的分化和增殖 将诱导出的不定芽接入以 MS+30 g/L 蔗糖+6.0 g/L 琼脂为基本培养基,同时附加表 1 中按 $L_9(3^3)$ 正交试验设计的培养基配方,诱导不定芽分化和增殖。培养 30 d 后,观察并统计不定芽增殖情况。不定芽分化率=(长出不定芽的外植体数/外植体总数)×100%;增殖系数=增殖后不定芽总数/接种的不定芽总数。每个处理设 20 个不定芽,重复 3 次,计算平均值。



A—诱导30 d左右; B—诱导50 d左右; C—诱导80 d左右

图1 兴化龙香芋愈伤组织的诱导过程

表 3 结果显示,随着 TDZ 和 2,4-D 浓度的增加,形成愈伤组织的兴化龙香芋外植体数量不断增加,愈伤组织诱导率不断提高。从诱导外植体数量和愈伤组织诱导率来看,2,4-D 的极差均为最大值,表明 2,4-D 对兴化龙香芋愈伤组织诱导的影响最大,其次是 6-BA、TDZ。结合表 4 的方差分析结果可知,兴化龙香芋愈伤组织诱导的最佳激素组合是 0.5 mg/L TDZ+1.0 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L 6-BA,在此浓度组合下,诱导外植体数量、愈伤组织诱导率均为最大值,分别为 13.67 个、91.11%。

2.2 不同激素水平组合对兴化龙香芋不定芽诱导的影响

将不定芽从愈伤组织上切下,转入不定芽诱导培养基中培养。由表 5 不定芽诱导率来看,TDZ 的 R 值最大,其次是 2,4-D 和 6-BA,这表明 TDZ 对兴化龙香芋不定芽诱导的影响最大。当 TDZ 的激素水平从 0.1 mg/L 增加到 0.5 mg/L 时,兴化龙香芋的不定芽诱导率极显著提高(从 TDZ 浓度为 0.1 mg/L 时最高的 44.44% 提高到 TDZ 浓度为 0.5 mg/L 时最高的 88.89%);而 6-BA 对不定芽诱导的增强效果不明

1.2.5 组培苗生根 将增殖培养所得的 1~3 cm 高的组培苗切割,接种在以 1/2MS+30 g/L 蔗糖+6.0 g/L 琼脂为基本培养基,同时附加表 2 按 $L_9(3^3)$ 正交试验设计的培养基配方,诱导不定芽生根,培养 30 d 后,观察并统计不定芽的生根情况。生根率=生根外植体数/接种外植体数×100%。每个处理接种 10 个外植体,重复 3 次,计算平均值。

表 2 组培苗生根诱导的 $L_9(3^3)$ 正交试验设计

水平	因素		
	A:NAA 浓度 (mg/L)	B:6-BA 浓度 (mg/L)	C:活性炭浓度 (g/L)
1	0.1	0.1	0.1
2	0.5	0.2	0.2
3	1.0	0.3	0.4

1.3 数据统计与处理

采用 Excel 2016、SPSS 17.0 对试验数据进行方差分析,采用 Duncan's 法进行差异显著性检验。结果以“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 不同激素水平组合对兴化龙香芋愈伤组织诱导的影响

将外植体接种在诱导培养基内 10~15 d 后,开始形成愈伤组织,茎尖开始膨大。由图 1 可以看出,30 d 左右出现淡黄色团状的愈伤组织;40~55 d 左右产生大量疏松的淡黄色颗粒状愈伤组织;60~70 d 后愈伤组织颗粒变成绿色,并开始分化形成不定芽;80~90 d 左右可以进行不定芽增殖诱导。

表 3 不同水平组合对兴化龙香芋愈伤组织诱导的影响

培养基 编号	A:TDZ 浓度 (mg/L)	B:2,4-D 浓度(mg/L)	C:6-BA 浓度 (mg/L)	愈伤组织诱导率 (%)
1	0.1	0.1	0.1	51.11±10.18fE
2	0.1	0.5	0.2	55.56±3.85efDE
3	0.1	1.0	0.3	84.44±11.05abAB
4	0.5	0.1	0.2	60.00±3.48defCDE
5	0.5	0.5	0.3	64.44±10.11cdeCDE
6	0.5	1.0	0.1	91.11±3.65aA
7	1.0	0.1	0.3	71.11±9.94cdBCD
8	1.0	0.5	0.1	75.56±7.40bcABC
9	1.0	1.0	0.2	73.33±10.03bcBC
k_1	63.70	60.74	72.59	
k_2	71.85	65.19	62.96	
k_3	73.33	82.96	73.33	
R	9.63	22.22	10.37	

注:同列数据后标有不同大写、小写字母分别表示差异极显著($P<0.01$)、显著($P<0.05$)。表 5、表 7、表 9 同。
显:当 TDZ 浓度较低(低于 0.5 mg/L)时,增加 6-BA 浓度可

表 4 兴化龙香芋愈伤组织诱导率的方差分析结果

来源	Ⅲ型平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
TDZ	12.700	2	6.350	10.689	0.086
2,4-D	32.550	2	16.275	27.396 *	0.035
6-BA	2.068	2	1.034	1.741	0.365
误差	1.188	20	0.594		

注:愈伤组织诱导率的 $R^2=0.976$ (校正 $R^2=0.902$)。“*”表示差异显著($P<0.05$)。

表 5 不同水平组合对兴化龙香芋不定芽诱导的影响

培养基 编号	A:TDZ 浓度 (mg/L)	B:2,4-D 浓度(mg/L)	C:6-BA 浓度 (mg/L)	诱导率 (%)
1	0.1	0.1	0.1	31.11±3.86dD
2	0.1	0.5	0.2	35.56±7.20dCD
3	0.1	1.0	0.3	44.44±3.45cC
4	0.5	0.1	0.2	75.56±3.55bB
5	0.5	0.5	0.3	82.22±3.47abAB
6	0.5	1.0	0.1	88.89±3.50aA
7	1.0	0.1	0.3	75.56±3.49bAB
8	1.0	0.5	0.1	77.78±3.48bAB
9	1.0	1.0	0.2	82.22±3.52abAB
k_1	37.04	60.74	65.93	
k_2	82.22	65.19	64.44	
k_3	78.52	71.85	67.41	
<i>R</i>	45.19	11.11	2.96	

表 7 不同水平组合对兴化龙香芋不定芽分化的影响

培养基编号	A:TDZ 用量 (mg/L)	B:2,4-D 用量 (mg/L)	C:6-BA 用量 (mg/L)	分化率 (%)	增殖系数
1	0.1	0.1	0.1	50.00±5.00gE	1.33±0.06fF
2	0.1	0.5	0.2	51.67±7.64gE	1.36±0.05fF
3	0.1	1.0	0.3	56.67±5.71fgDE	1.50±0.15fEF
4	0.5	0.1	0.2	61.67±2.89efDE	1.71±0.13eE
5	0.5	0.5	0.3	68.33±2.69deCD	2.10±0.11cdCD
6	0.5	1.0	0.1	78.33±5.74cBC	2.28±0.10cBC
7	1.0	0.1	0.3	75.00±5.01cdBC	1.99±0.05dD
8	1.0	0.5	0.1	86.67±2.84bB	2.52±0.16bB
9	1.0	1.0	0.2	98.33±2.82aA	2.88±0.14aA
k_1 (分化率)	52.78	62.22	71.67		
k_2 (分化率)	69.44	68.89	70.56		
k_3 (分化率)	86.67	77.78	66.67		
$R_{\text{分化率}}$	33.89	15.56	5.00		
k_1 (增殖系数)	1.40	1.68	2.04		
k_2 (增殖系数)	2.03	1.99	1.98		
k_3 (增殖系数)	2.46	2.22	1.87		
$R_{\text{增殖系数}}$	1.07	0.54	0.17		

表 8 兴化龙香芋愈伤不定芽诱导方差分析结果

性状	来源	Ⅲ型平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
分化率	TDZ	1 722.616	2	861.308	57.066 *	0.017
	2,4-D	365.323	2	182.662	12.102	0.076
	6-BA	41.364	2	20.682	1.370	0.422
	误差	30.186	20	15.093		
增殖系数	TDZ	1.727	2	0.863	19.214 *	0.049
	2,4-D	0.447	2	0.223	4.973	0.167
	6-BA	0.050	2	0.025	0.561	0.641
	误差	0.090	20	0.045		

注: $R_{\text{分化率}}^2=0.986$ (校正 $R^2=0.944$), $R_{\text{增殖系数}}^2=0.961$ (校正 $R^2=0.845$)。“*”表示差异显著($P<0.05$)。

以促进不定芽分化;而当 TDZ 浓度提高后,增加 6-BA 浓度反而会抑制不定芽的诱导。方差分析结果显示,TDZ 的 *F* 值最大,与 2,4-D、6-BA 相比差异极显著(表 6),表明 TDZ 的浓度是决定兴化龙香芋不定芽诱导的最重要因素,此结论与极差分析所得结论一致。由表 5 及以上分析可知,兴化龙香芋不定芽诱导的激素最佳组合是 0.5 mg/L TDZ+1.0 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L 6-BA,此时不定芽诱导率最高,为 88.89%。

表 6 兴化龙香芋愈伤不定芽诱导的方差分析结果

来源	Ⅲ型平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
TDZ	84.873	2	42.436	1 168.687 **	0.001
2,4-D	4.222	2	2.111	58.140 *	0.017
6-BA	0.299	2	0.150	4.121	0.195
误差	0.073	20	0.036		

注: $R_{\text{诱导率}}^2=0.999$ (校正 $R^2=0.997$)。“*”“**”分别表示差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)。

2.3 不同激素水平组合对兴化龙香芋不定芽分化的影响

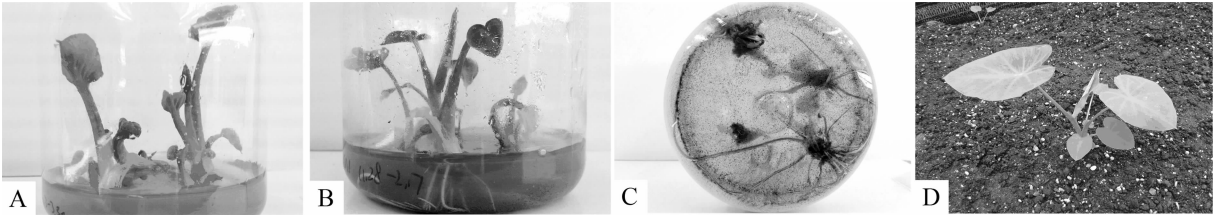
由表 7 中的 *R* 值可以看出,3 种激素对不定芽分化产生的效应大小依次是 TDZ>2,4-D>6-BA。由表 8 的方差分析结果可知,各水平的 TDZ 对不定芽分化率和增殖系数均有显著影响。综合分析可以确定,本试验条件下不定芽分化的最佳激素组合为 1.0 mg/L TDZ+1.0 mg/L 2,4-D+0.2 mg/L 6-BA。

2.4 不同激素水平组合对兴化龙香芋组培苗生根诱导的影响

兴化龙香芋组培苗接种在生根培养基内 10 d 左右时,开始长出白色根毛;15~20 d 时根毛向四周生长,并形成粗壮根系;30 d 左右时生根数达到 3~5 条,根长为 2~6 cm;40 d 后

可以炼苗;经过 3~5 d 的炼苗,将幼苗移栽到营养土基质中,30 d 后移栽成活率达到 100%。生根过程详见图 2。

由表 9 可以看出,NAA、6-BA 和活性炭 3 个因素对不定芽诱导生根的效应排序是 NAA>活性炭>6-BA。由表 9、表 10 可以看出,NAA 对不定芽生根具有显著影响,其次是



A—接种 3 d 左右; B—接种 15 d 左右; C—接种 25 d 左右; D—移栽后 20 d 左右

图2 兴化龙香芋组培苗生根过程

表 9 不同水平组合对兴化龙香芋组培苗生根的影响

培养基编号	A:NAA 浓度 (mg/L)	B:6-BA 浓度 (mg/L)	C:活性炭浓度 (g/L)	生根率 (%)	平均生根数 (条)	平均根长 (cm)
1	0.1	0.1	0.1	53.33±3.85eD	2.33±0.20dC	3.15±0.31cD
2	0.1	0.2	0.2	51.11±7.70eFD	2.87±0.21eCD	2.88±0.18cD
3	0.1	0.3	0.4	55.56±6.61fD	3.04±0.23eD	3.13±0.04cD
4	0.5	0.1	0.2	97.78±3.85aA	5.71±0.10aA	4.22±0.16aA
5	0.5	0.2	0.4	73.33±3.83cdBC	4.40±0.20cB	3.50±0.11bC
6	0.5	0.3	0.1	80.00±3.65dC	4.73±0.13cB	3.80±0.40bBC
7	1.0	0.1	0.4	75.56±7.10abcABC	4.87±0.24cB	3.15±0.44bABC
8	1.0	0.2	0.1	93.33±6.27abAB	5.33±0.18bA	4.20±0.16aAB
9	1.0	0.3	0.2	80.00±6.64bcdABC	4.80±0.13cB	3.44±0.12bBC
k_1 (生根率)	53.33	75.56	75.56			
k_2 (生根率)	83.70	72.59	76.30			
k_3 (生根率)	82.96	71.85	68.15			
$R_{\text{生根率}}$	30.37	3.70	8.15			
k_1 (平均生根数)	2.75	4.30	4.13			
k_2 (平均生根数)	4.95	4.20	4.46			
k_3 (平均生根数)	5.00	4.19	4.10			
$R_{\text{平均生根数}}$	2.25	0.11	0.36			
k_1 (平均根长)	3.06	3.51	3.72			
k_2 (平均根长)	3.84	3.53	3.51			
k_3 (平均根长)	3.60	3.46	3.26			
$R_{\text{平均根长}}$	0.78	0.07	0.46			

表 10 兴化龙香芋愈伤不定芽诱导方差分析结果

性状	来源	Ⅲ型平方和	自由度	均方	F 值	P 值
生根率	NAA	2 393.029	2	1 196.514	55.948 *	0.018
	6-BA	187.605	2	93.802	4.386	0.186
	活性炭	82.362	2	41.181	1.926	0.342
	误差	42.772	20	21.386		
平均生根数	NAA	9.002	2	4.501	31.12 *	0.031
	6-BA	0.395	2	0.198	1.367	0.422
	活性炭	0.182	2	0.091	0.631	0.613
	误差	0.289	20	0.145		
平均根长	NAA	10.325	2	5.162	24.457 *	0.039
	6-BA	0.131	2	0.066	0.311	0.763
	活性炭	0.066	2	0.033	0.156	0.865
	误差	0.422	20	0.211		

注: $R_{\text{生根率}}^2=0.984$ (校正 $R^2=0.937$), $R_{\text{平均生根数}}^2=0.971$ (校正 $R^2=0.883$), $R_{\text{平均根长}}^2=0.961$ (校正 $R^2=0.846$)。“*”表示差异显著($P<0.05$)。

6-BA 和活性炭,此结论与极差分析所得结论一致。综合分析可知,兴化龙香芋不定芽诱导生根的最佳培养基为 $1/2\text{MS} + 0.5 \text{ mg/L NAA} + 0.1 \text{ mg/L 6-BA} + 0.2 \text{ mg/L 活性炭} + 30 \text{ g/L 蔗糖}$ 。

3 讨论

由于芋类植物长期的无性繁殖,使病毒在其植株中不断积累、扩散,导致病毒病害逐年加重,造成芋头产量和品质下降,出现严重的品种退化^[7]。目前,在生产上危害较大的病毒病主要有芋花叶病毒病、黄瓜花叶病毒病、芋杆状病毒病等^[2]。但是,目前在生产中还没有一种能够完全免疫病毒病的芋品种,因此,对兴化龙香芋开展茎尖脱毒快繁技术的研究十分必要。通过植物茎尖培养是目前获得无病毒材料最有效的手段^[8],目前,茎尖培养脱病毒技术已经在以营养繁殖为主的植物中得到了广泛应用,并在马铃薯、甘薯、大蒜、香蕉等作物上取得了明显的增产效果^[9-15]。

关于芋组织培养和快速繁殖技术的研究报道很多,但是对于不同的芋品种,相应的培养基组分和激素配方存在差异。柏新富等研究了莱阳孤芋的茎尖分生组织离体培养技术,最终获得试管苗增殖培养基为 $\text{MS} + 0.2 \text{ mg/L NAA} + 1.0 \text{ mg/L 6-BA}$,试管苗生根培养基为 $\text{MS} + 0.05 \text{ mg/L NAA} + 0.15 \text{ mg/L 6-BA}$ ^[16]。詹忠根等对奉化大芋茏的茎尖脱毒苗进行研究,发现采用 $\text{MS} + 2.0 \text{ mg/L 6-BA} + 0.2 \text{ mg/L NAA}$ 培养基的不定芽诱导率为 75%,在培养基中添加芋头汁、椰子汁等有机物可以实现不定芽继代繁殖和诱导生根一步完成^[17]。刘独臣等对四川芋品种乌杆枪的茎尖离体培养进行研究,得到适宜的茎尖不定芽诱导培养基为 $\text{MS} + 1.0 \text{ mg/L TDZ} + 0.2 \text{ mg/L NAA}$,适宜的生根培养基为 $\text{MS} + 0.05 \text{ mg/L NAA} + 0.1 \text{ mg/L 6-BA}$ ^[18]。韩晓勇等对靖江香沙芋进行组织培养快繁技术研究,结果获得适宜的芽诱导培养基为 $\text{MS} + 0.5 \text{ mg/L TDZ}$,最适的继代增殖培养基为 $\text{MS} + 1.0 \text{ mg/L TDZ}$,最适生根培养基为 $1/2\text{MS} + 0.1 \text{ mg/L 6-BA} + 0.5 \text{ mg/L NAA} + 0.02\% \text{ 活性炭}$ ^[19]。以上结果说明,对于不同来源和基因型的芋植物组织培养,其增殖分化生根等过程所需要的激素种类和浓度不尽相同,因此对于不同的芋品种开展组织培养,需要对培养基组分和培养条件进行比较和探索,以建立相应的组织培养技术体系。

本研究采用正交设计方式,研究了激素的种类、浓度及其配比对比兴化龙香芋组织培养的影响,与传统单因素试验相比,正交试验能容纳更多的因素和水平,最大限度地减少试验误差,从而提高试验结果的准确率。本研究结果表明,2,4-D 对兴化龙香芋愈伤组织诱导的影响最大,适宜的愈伤组织诱导培养基为 $\text{MS} + 0.5 \text{ mg/L TDZ} + 1.0 \text{ mg/L 2,4-D} + 0.1 \text{ mg/L 6-BA} + 30.0 \text{ g/L 蔗糖}$;在芽诱导和增殖过程中,3 种激素对兴化龙香芋不定芽诱导率和增殖系数的影响大小依次是 $\text{TDZ} > 2,4-D > 6-BA$,不定芽诱导和增殖的

适宜培养基分别为 $\text{MS} + 0.5 \text{ mg/L TDZ} + 1.0 \text{ mg/L 2,4-D} + 0.1 \text{ mg/L 6-BA} + 30.0 \text{ g/L 蔗糖}$ 和 $\text{MS} + 1.0 \text{ mg/L TDZ} + 1.0 \text{ mg/L 2,4-D} + 0.2 \text{ mg/L 6-BA} + 30.0 \text{ g/L 蔗糖}$;适宜的生根培养基为 $1/2 \text{ MS} + 0.5 \text{ mg/L NAA} + 0.1 \text{ mg/L 6-BA} + 0.2 \text{ mg/L 活性炭} + 30.0 \text{ g/L 蔗糖}$ 。

参考文献:

- [1]徐东旭,戴 齐. 兴化龙香芋优质高产栽培技术[J]. 上海蔬菜, 2013(3):36-38.
- [2]施世明,王彦芬,王国平,等. 侵染我国芋的杆状 DNA 病毒分子鉴定及特异性检测[J]. 植物病理学报,2013,43(6):590-595.
- [3]柯卫东,刘玉平,黄新芳,等. 芋组织培养及其相关的因素研究[J]. 湖北农业科学,2000(3):47-49.
- [4]刘玉平,柯卫东,黄新芳,等. 试管芋诱导的研究[J]. 园艺学报, 2003,30(1):43-46.
- [5]邱祖杨. 茎尖组织培养提高荔浦芋产量和品质的应用效果[J]. 长江蔬菜,2015(22):97-99.
- [6]张月雅,顾德峰. 正交试验优化蓝靛果忍冬组织培养条件[J]. 江苏农业科学,2016,44(1):68-70.
- [7]施世明. 芋病原病毒鉴定及其分子特性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2012.
- [8]Shi F F. Establishment of three breeding system of virus-free strawberry plantlet in infantry regiment of the twelve division[J]. Agricultural Science & Technology,201415(7):1076-1078.
- [9]曹君迈,彭亚齐,唐世明,等. 勿忘我组培快繁技术的优化[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):77-81.
- [10]陈晓洁,郑伶俐,李方方,等. 抗轮纹病苹果砧木 1-1-10-8 茎尖培养快繁体系建立[J]. 江苏农业科学,2016,44(2):51-53.
- [11]兰 英,柳 敏,严铸云,等. 不同地理种源丹参组培快繁及再生苗性状差异比较[J]. 江苏农业科学,2016,44(10):103-107.
- [12]秦晓萍. 马铃薯脱毒苗组培快繁技术[J]. 中国种业,2015(4):81-83.
- [13]邝瑞彬,魏岳荣,邓贵明,等. 香蕉高效组培快繁技术的研究[J]. 果树学报,2016(10):1315-1320.
- [14]刘晓雪,程智慧. 大蒜种质超低温保存及脱毒技术研究进展[J]. 中国蔬菜,2013(2):12-19.
- [15]闫明明,徐碧莲,吴 琼,等. 高效低耗的甘薯脱毒苗快繁技术研究[J]. 南京农业大学学报,2015,38(4):689-694.
- [16]柏新富,蒋小满,毕可华,等. 芋脱毒苗的组培快繁及田间试验[J]. 应用与环境生物学报,2002,8(1):52-55.
- [17]詹忠根,徐 程. 奉化大芋茏脱毒苗的组培快繁研究[J]. 种子,2006,25(3):4-6.
- [18]刘独臣,房 超,李跃进,等. 芋茎尖离体培养再生体系建立[J]. 长江蔬菜,2010(14):30-31.
- [19]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.