

马蹄莲组织培养和快速繁殖

林 荣 王秀琴 王润珍 姚 军

(广西植物研究所)

摘要 本文报道从新西兰引进马蹄莲杂交种的8个优良品种。研究植物激素及培养基物理性质对器官形成的影响。试验结果表明细胞分裂素BA 0.5—1.0毫克/升明显促进芽的形成和增殖。随着BA浓度的增高,形成芽数也随着增多。各品种均能诱导形成丛生芽。低浓度BA或NAA有利于芽发育和诱导生根。固体培养有利于诱导形成丛生芽;而液体静置培养促进芽发育和生根。各品种的试管苗成功地移栽田间并已开始开花。

关键词 马蹄莲; 组织培养; 快速繁殖; 植物激素; 器官形成

马蹄莲原产南非,属天南星科,是美丽的园林花卉植物。我国栽培的马蹄莲,其佛焰苞多为白色,我们从新西兰引进马蹄莲杂交种 *Zantedeschia hybrid Lilies* 的8个优良品种,其佛焰苞有粉红、紫红、黄红、黄及淡黄等颜色,植株高度40—80厘米,叶片有斑块,是优良的切花材料和盆栽观赏花卉。马蹄莲传统采用分栽小块茎繁殖,繁殖系数较低,为了加速良种繁殖,我们进行马蹄莲组织培养研究获得成功。简化微型繁殖的程序和采用液体静置培养促进芽发育和诱导生根,获得大量完整再生植株,移栽成活数万株并已开始开花,实现种苗生产工厂化,为马蹄莲良种的快速繁殖提供有效的途径。

材 料 和 方 法

材料于1985—1987年先后从新西兰引进马蹄莲杂交种的 Pink Petticoat, Golden Sun, Galaxy, Red Beauty, Red Gold, Pink Persuasion, Golden Affair 及 Pink Satin 等8个品种的块茎,经表面消毒后取芽块进行接种。以改良MS为基本培养基。分化培养基附加6-苄基氨基嘌呤(BA) 0.5—3.0毫克/升。生根培养基附加NAA或BA 0.1毫克/升。白糖浓度2—3%。诱导形成丛生芽和继代培养采用固体培养基,用粉状琼脂0.5%。诱导生根和促进芽发育采用液体培养基。pH为5.8,以1公斤/厘米²高压蒸汽灭菌20分钟,接种后培养于25±2℃,每天用日光灯照光9—10小时,光照强度1500—2000勒克斯。

结 果 和 讨 论

一、植物激素对器官形成的影响

培养基中植物激素的状况,在诱导植物组织形成器官起着重要的作用^[1]。采用改良MS为基本培养基,附加不同浓度的细胞分裂素BA的试验结果表明,BA明显促进芽的形成,随着BA浓度的增高,形成芽数也随着增多,但要控制适当的浓度,以获得一定数量健壮的芽。低浓度BA,有利于芽发育和诱导生根。因此,诱导芽的形成,细胞分裂素BA是必需的,形

参加本项工作还有张燕玲、刘春惠、唐高凤及吴紫雁等同志。邓庆焜同志协助摄影,特此致谢。

成芽数量多少取决于BA的浓度。这与许多植物的研究结果相似^[2-3]。

马蹄莲在分化培养基中诱导芽形成和增殖,一般不生根或少量生根,需将无根苗转生根培养基,一般转管10天后开始生根,获得完整植株,据试验结果表明(表1),以改良MS+NAA0.1毫克/升效果最好,不仅生根率高,且根系生长良好,有利于移栽成活,NAA浓度越高,诱导生根所需时间越长,不加激素的基本培养基,虽能诱导生根,但根细长,不利于移栽成活。因此,诱导生根以附加低浓度生长素为宜。

二、品种与器官形成的关系

我们采用马蹄莲杂交种的 Pink Petticoat、Golden Sun、Galaxy、Red Beauty、Red Gold、Pink Persuasion、Golden Affair 及 Pink Satin 等8个品种的芽块在分化培养基进行培养,各品种均能诱导形成丛生芽,但各品种间形成芽数量有一定的差异(表2),如 galaxy 品种,每个外植体平均形成芽数25.10个;而 Pink petticoat 品种,形成芽数仅13.45个,这是由于培养材料的种性不同所致。

不同品种的马蹄莲,其诱导生根有一定的差异(表3),如 galaxy 品种,生根率达100%,且根系生长良好,有利于移栽成活;而 red beauty 品种不仅生根率较低,且根系生长不良,影响移栽成活。

三、培养基物理性质对器官形成和发育的影响

培养基的物理性质的影响一般较少注意,但已有一些资料报道,培养基的物理性质如是固体还是液体及渗

表1 激素对马蹄莲诱导生根的影响

激素浓度 (毫克/升)	无根苗 数量 (株)	生根 株数 (株)	生根率 (%)	根系生长情况
改良MS	100	87	87	根细长
改良MS+NAA0.1	100	94	94	根粗壮、生根快
改良MS+NAA0.5	100	94	94	根粗短,生根较慢
改良MS+NAA1.0	100	92	92	根粗短,生根慢
改良MS+BA0.1	100	87	87	根细长

表2 品种与芽、苗形成的关系

品 种	外植体 数量 (块)	形 成 芽		形 成 无 根 苗		
		%	个/块	%	株/块	长度 (厘米)
Pink Petticoat	40	100	13.45	87.5	6.95	2.15
Golden Sun	40	100	17.55	90.0	2.10	4.59
Galaxy	40	100	25.10	100.0	4.85	3.65
Red Beauty	40	100	19.55	92.5	2.90	1.97
Red Gold	40	100	18.50	100.0	5.50	2.61
Pink Persuasion	40	100	17.20	100.6	3.55	2.93
Pink Satin	40	100	14.90	100.0	5.90	3.69
Golden Affair	40	100	17.15	97.5	2.20	3.01

表3 不同品种马蹄莲对诱导生根的影响

品 种	无根苗 数量(株)	生根株数 (株)	生根率 (%)	根系生长 情 况
Pink Petticoat	100	93	93	根粗、多
Golden Sun	100	86	86	根粗、少
Galaxy	100	100	100	根粗、多
Red Beauty	100	87	87	根粗、少
Red Gold	100	98	98	根细、多
Pink Persuasion	100	96	96	根粗、多
Golden Affair	100	91	91	根细、多
Pink Satin	100	97	97	根粗、多

透压等对于器官形成和发育有明显的影响^[4]。液培过去常使用摇床、转床及振荡器等, 需要增加设备且占地多, 容量也有限, 难以广泛应用。目前植物组织培养技术广泛应用于生产, 固体培养琼脂耗量大, 价格昂贵, 致使工厂化育苗成本较高, 多年来不断有人试图用各种代用品均未获得理想结果。我们进行固体和液体静置培养的试验结果表明(表 4—5), 马蹄莲诱导芽的形成, 在液体培养中, 不论形成芽的数量和芽发育成苗均不如固体培养, 如 Pink petticoat 品种在液体培养中, 每块外植体平均形成芽数 4.80 个, 芽发育成苗 1.65 株; 而固体培养形成芽数为 13.45 个, 发育成苗 6.95 株。其他各品种亦有相似的情况。至于诱导生根, 固体与液体培养的生根率相差不大, 由于液培不仅节约琼脂费用, 且移栽时便于洗根。因此, 诱导芽的形成采用固体培养基, 诱导生根可采用液体培养基。

作为碳源一般采用分析的蔗糖, 为了便于生产上应用, 我们全部用市售白糖, 以降低培养基的费用。培养基的渗透压对于诱导细胞分化和增殖有重要的作用。糖浓度对器官分化的影响可能与改变渗透压有关。在适宜培养基采用白糖 1、2 及 3% 等不同浓度的试验结果表明(表 5—6), 马蹄莲诱导器官形成, 不论形成丛生芽和生根, 糖分浓度以 2—3% 为宜。

四、继代培养

马蹄莲的芽块在适宜培养基, 接种后约一周, 芽开始伸长, 培养二至三周在芽周围开始形成丛生小芽, 培养四至五周丛生芽逐渐长大并有个别芽发育成苗, 此时将从生芽分割进行

表 4 液体和固体培养对马蹄莲形成芽、苗的影响

品 种	培养基类型	外植体数量(块)	形 成 芽		形 成 无 根 苗		
			%	个/块	%	株/块	长度(厘米)
Pink Petticoat	液体	40	85.0	4.80	85.0	1.65	3.67
	固体	40	100.0	13.45	87.5	6.95	2.15
Golden Sun	液体	40	100.0	11.50	87.5	2.10	3.11
	固体	40	100.0	23.65	97.5	3.55	2.48
Galaxy	液体	40	100.0	8.70	95.0	2.35	4.07
	固体	40	100.0	21.70	100.0	5.35	3.92
Red Beauty	液体	40	100.0	10.15	87.5	1.55	1.54
	固体	40	100.0	18.00	95.0	2.75	1.75
Pink Persuasion	液体	40	100.0	8.55	90.0	3.05	4.76
	固体	40	100.0	19.35	100.0	4.70	3.87

表 5 培养基的物理性质对诱导生根的影响

培养基类型	糖分浓度(%)	无根苗数量(株)	生根株数(株)	生根率(%)
固 体	1	120	80	66.67
固 体	2	120	114	95.00
固 体	3	120	115	95.83
液 体	1	120	67	55.83
液 体	2	120	108	90.00
液 体	3	120	112	93.33

表 6 糖分浓度与马蹄莲形成芽、苗的关系

糖分浓度(%)	品 种	外 植 体 数量(块)	形 成 芽		形 成 无 根 苗		
			%	个/块	%	株/块	长度(厘米)
1	Golden Sun	40	80	7.20	52.5	1.00	1.68
2		40	100	19.30	95.0	2.20	3.00
3		40	100	23.65	97.5	3.55	2.48

继代培养, 无根苗转液体无根培养基, 约两周形成根获得完整植株(图版 I: 1—2)。芽 1—2 次继代培养, 增殖倍数较低, 仅 1—2 倍, 从第三代以后增殖速度较快, 但各品种之间增殖倍数有一定的差异。如第三次继代培养, Golden Sun 品种, 增殖倍数达 10 倍; 而 Pink Petticoat 品种仅 5.25 倍。为了培育壮苗, 调整激素浓度, 以控制适当的增殖倍数, 一般保持增殖 3—5 倍, 每月继代一次, 可繁殖大量试管苗。长期继代培养, 有的品种仍保持旺盛的增殖能力, 如 Golden Sun 品种已继代培养 22 次, 增殖倍数仍达到 5.77 倍; 而 Red Beauty 品种继代培养 22 次, 虽然增殖倍数仍达到 4.67 倍, 但芽黄并难以发育成苗(表 7)。因此, 必须根据培养物生长情况不断更新复壮。

马蹄莲亦可将丛生芽分割培养在适宜芽发育和诱导生根的液体培养基, 一次培养获得完整植株, 以简化工序, 提高工效, 但液培要控制适当的培养液, 保持浅层以不淹没芽块为宜。

五、试管苗移栽

试管苗移栽成活与否, 是组织培养成败的关键。我们进行不同基土、时期、品种、苗长势及液体和固体培养的试管苗等移栽试验结果表明, 移栽时期对试管苗移栽成活率有明显的影响(表 8), 如 Pink Petticoat 品种于 12—5 月移栽成活率较高, 达 82.5—100.0%; 而 7—8 月移栽成活率最低, 仅 40—45%。其他各品种亦有相似的情况。这由于桂林地区 6 月份以后气温较高, 马蹄莲为夏季休眠, 高温不适宜它的生长, 因此在高

1	Galaxy	40	100	7.20	82.5	1.60	2.63
2		40	100	20.40	100.0	5.10	4.39
3		40	100	21.70	100.0	5.35	3.92
1	Red Beauty	40	70	5.25	35.0	0.45	1.41
2		40	100	15.30	95.0	2.65	1.95
3		40	100	18.00	95.0	2.75	1.75
1	Pink Persuasion	40	100	7.60	97.5	3.20	2.43
2		40	100	16.75	100.0	4.65	4.83
3		40	100	19.35	100.0	4.70	3.87

表 7 品种间继代培养的增殖倍数比较

品 种	继代培养次数 (次)	增殖倍数 (倍)	生长情况
Pink Petticoat	20	4.35	芽苗健壮
Golden Sun	22	5.77	芽苗健壮
Galaxy	23	4.29	芽苗健壮
Red Beauty	22	4.67	芽黄、苗矮
Red Gold	24	3.82	苗较细
Pink Persuasion	19	4.26	芽、苗健壮
Golden Affair	15	2.87	苗细

表 8 不同时期移栽对试管苗成活的影响

移栽时期	月平均气温 (℃)	月绝对高温 (℃)	移植数量 (株)	成活株数 (株)	成活率 (%)
元月份	9.52	19.0	40	40	100.0
2 月份	9.18	20.2	40	33	82.5
3 月份	13.70	25.8	40	35	87.5
4 月份	19.40	30.0	40	33	82.5
5 月份	23.40	33.0	40	40	100.0
6 月份	25.80	33.0	40	28	70.0
7 月份	26.20	35.5	40	16	40.0
8 月份	26.60	35.0	40	18	45.0
9 月份	25.80	35.8	40	24	60.0
10 月份	19.40	32.0	40	24	60.0
11 月份	13.40	23.5	40	31	77.5
12 月份	10.80	21.0	40	40	100.0

温季节移栽试管苗, 必需有喷灌降温设备, 才能保证移栽成活率。试管苗移栽后约一个月, 根茎开始膨大; 移栽两个月, 小苗开始形成小块茎; 移栽三个月, 形成块茎直径约0.5厘米; 移栽六个月, 块茎直径达2.46—2.94厘米。因此, 在12—5月移栽为宜, 不仅成活率高, 且幼苗生长良好, 可形成较大的块茎。试管苗的移栽基土对移栽成活率无明显的影响。基土用草皮泥或草皮泥和粗砂混合均可。

不同品种的试管苗, 期苗长势有一定的差异(表9), Pink Petticoat、Pink Persuasion 及 Galaxy 等品种, 苗长势好, 叶绿、苗壮, 根系发达, 移栽成活率达95.00—96.25%; 而 Red Beauty 品种, 苗长势差, 叶黄, 根少, 移栽成活率仅71.25%。液培的试管苗, 移栽时洗根不损伤根系, 移栽成活率较高, 如 Galaxy 品种移栽成活率达100%。由此可见, 培养壮苗是移栽成活的基础, 移栽时期是移栽成活和决定块茎大小的关键, 控制水分的供应是移栽成活的条件。

马蹄莲试管苗移栽苗圃, 待叶子枯黄时, 收获块茎, 放通风荫凉处贮藏, 待秋末栽植, 但在冬季寒冷又无保温设备的条件下, 可采用春种。种植时块茎直径在3厘米以上, 不论秋种或春种, 于春季4—5月间开花。因此, 早春移栽的试管苗, 当年可形成较大的块茎, 翌春有的植株可以开花; 而其他季节移栽的试管苗, 当年只形成小块茎, 需再种植一年才能开花。我们培养的试管苗, 多数品种已开始开花。图版 I: 4 为 Pink Petticoat 品种的开花时间。

参 考 文 献

- [1] Skoog, F. and Miller, C. O., 1957: Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro, Symp. Soc. Exp. Biol., 11: 118—130.
- [2] 林荣等, 1985: 甜茶组织培养研究。广西植物, 5(3): 269—272.
- [3] 林荣等, 1985: 罗汉果茎段离体培养研究。广西植物, 5(3): 273—277.
- [4] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室, 1978: 植物组织和细胞培养。上海科学技术出版社, 176—178.

TISSUE CULTURE AND RAPID PROPAGATION OF ZANTEDESCHIA HYBRID

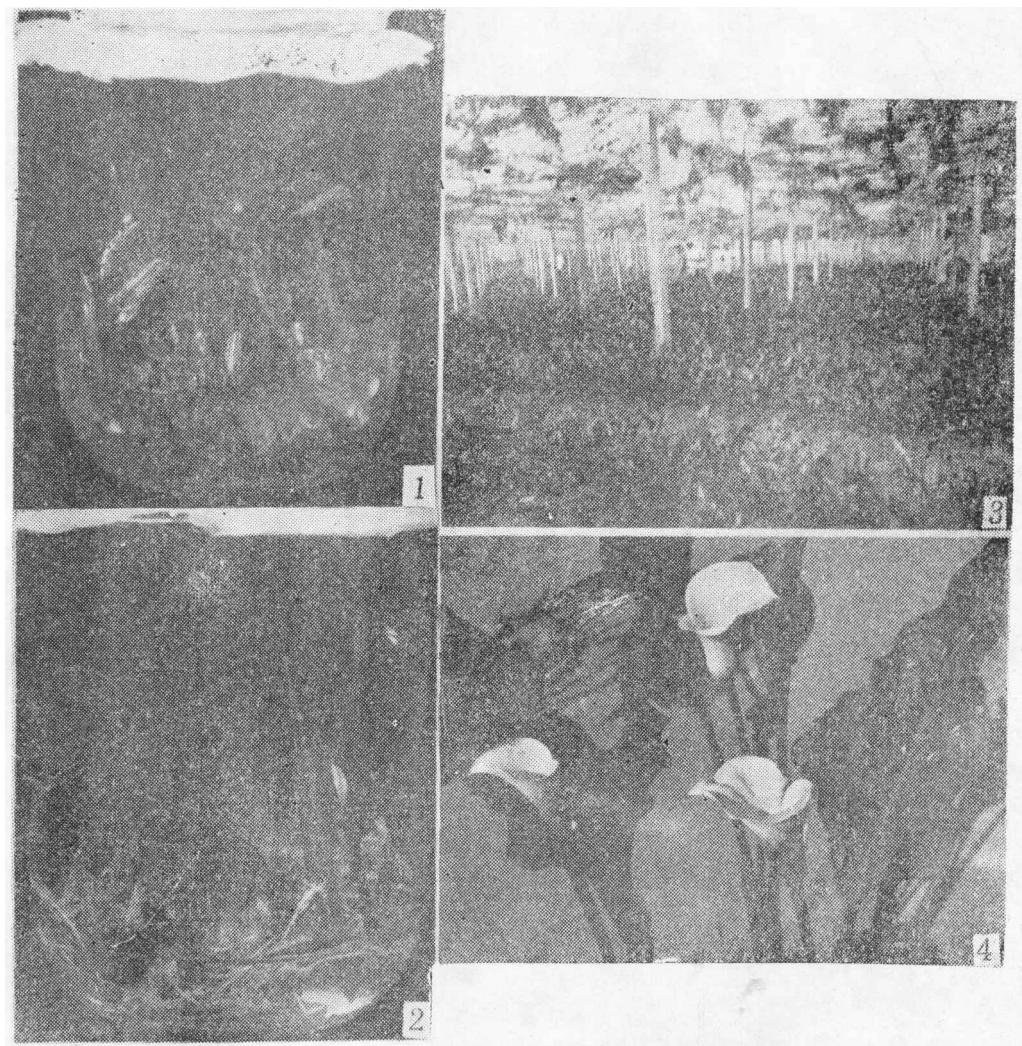
Lin Rong, Wang, Xiu Qin, Wang, Run Zhen and Yao Jun
(Guangxi Institute of Botany)

Abstract This paper reports the introduction of eight fine varieties of *Zantedes-*

chia hybrid from New Zealand, Their bud explants were grown on modified MS medium and effects of plant hormones and physical properties of medium on organogenesis were studied. The results showed that BA markedly stimulated the bud formation and proliferation in concentrations ranging 0.5-3.0mg/l, but the higher concentration increased the number of bud formation. All eight varieties of *Zantedeschia hybrid* induced many buds formation. Low concentration NAA or BA beneficial to bud development and root formation.

Compared with culture on the effect of liquid-motionless media and agar-solidified media, agar media beneficial to many buds formation, but liquid media stimulated bud development and root formation. we were succeeded in transplanting the numerous test-tube plantlets of eight varieties in field and they have begun to flower.

Key words *Zantedeschia hybrid*; tissue culture; rapid propagation; plant hormones; organogenesis



1. 形成丛生芽、苗
2. 液体培养的完整植株
3. 试管苗移植在苗圃的生长情况
4. Pink petticoat 品种的组培苗开花情况