

观赏植物火鹤、红宝石喜林芋的快速繁殖

王利民¹, 王献革¹, 李军英¹, 李 静², 张红梅³

(1. 河北省农林科学院石家庄果树研究所, 河北 石家庄 050061; 2. 河北省出入境检验检疫局, 河北 石家庄 050051;

3. 河北省农林科学院农业物理生理生化研究所, 河北 石家庄 050051)

摘要: 通过研究不同生长素和细胞分裂素组合配比对火鹤、红宝石喜林芋分化和生根的影响, 确定了最佳继代、壮苗和生根培养基, 并针对火鹤选择出了优良的快繁无性系作为快繁材料。探讨了恒温与变温培养对愈伤组织鲜重增殖分化壮苗的影响。试管苗移栽驯化试验结果表明, 只有在基质温度达 15~20℃, 室温 22~25℃时试管苗才能正常生长。还确定了适宜的移栽基质。试验表明以上 2 种植物皆可在瓶外生根。

关键词: 火鹤; 红宝石喜林芋; 组织培养; 移栽驯化

中图分类号: S512.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2002)增刊-0213-06

火鹤(*Anthurium scherzianum* Schott)是天南星科花烛属著名的观赏植物, 株型美丽, 叶片富有光泽, 特别是红色佛焰苞花序令人赏心悦目, 是高档切花。红宝石喜林芋(*Philodendron enbesoeus* cv. Red Emerald)是本科属植物, 茎秆和上部叶片发出紫红色光泽, 婷婷玉立, 富贵高雅, 适宜厅堂摆放。随着人民生活水平的提高, 这几种观赏植物目前我国需求量不断上升。以上几种植物通常利用扦插、分株方法繁殖, 繁殖率较低。利用组织培养技术, 可以在很短时间内快速繁殖, 生产大批苗木, 及时满足市场需求。关于火鹤、红宝石的组织培养, 目前仅有少数报道。但现在的报道中都没有详细地涉及关于继代中愈伤组织的优系选择, 变温与恒温培养对愈伤组织鲜重增殖的影响, 试管苗的瓶外生根以及驯化适宜温度和移栽基质等问题。本试验就上述问题进行了研究和探讨。

1 材料和方法

1.1 无菌繁殖系的建立

试验材料皆为茎尖。先于无菌条件下对 1 cm 大小的茎尖消毒(新洁尔灭 4 min→升汞 4 min)漂洗 3 次后, 再剥取 0.2~0.4 cm 的芽锥放在诱导培养基上。

1.2 愈伤组织的诱导、增殖与分化及试管苗生根

1.2.1 愈伤组织的诱导 火鹤: BA 5 mg/L+IBA 1 mg/L; 红宝石: BA 2 mg/L+NAA 2mg/L, 培养基为 MS。

1.2.2 愈伤组织继代与分化 将不同浓度的生长素和细胞分裂素进行组合见表 1, 2, 培养基为 MS。

1.2.3 生根 生根培养基为 1/2 MS。生长素设 IBA 0.5, 1, 1.5 mg/L; NAA: 0.05,

收稿日期: 2002-07-25

作者简介: 王利民(1953-), 男, 副研究员, 主要从事果树花卉组织培养方面的研究工作。

0.1, 0.5 mg/L。

MS 培养基中蔗糖为 30 g/L, 1/2 MS 为 20 g/L, pH 值 5.8。培养条件是: 25 °C±3 °C, 光照 16 h, 光强 1 500~2 000 lx。

每种组合为一个处理, 3 次重复, 每次 10 瓶, 每瓶培养基中放 4 块材料。每培养 28 d (1 代) 时计量, 共计量 3 次(代)。调查和统计愈伤组织相对增长率、芽数、壮苗率、生根率、平均根数、平均根长。计算公式如下:

愈伤组织相对增长率(%) = $(W_1 - W_2) / W_2 \times 100$

W_1 : 培养 28 d 时愈伤组织鲜重; W_2 : 接种时愈伤组织鲜重。

壮苗率(%) = 高度大于 1 cm, 最大叶宽大于 0.5 cm 的芽数 / 总芽数 × 100

1.3 变温与恒温培养对愈伤组织鲜重生长的影响

以火鹤为试材, 将培养物放入光照培养箱, 恒温与变温设定值见表 3, 放入光照培养箱培养前称重, 培养 28 d 后再称重, 计算方法同愈伤组织相对增长率。

1.4 试管苗的移栽与驯化

将分别在生根培养基中培养 28, 42, 56 d 的试管苗取出, 用 1/1000 75% 百菌清浸泡 30 min, 然后栽入以(1)纯沙, (2)蛭石, (3)砂+蛭石+泥炭土, (4)蛭石+泥炭土+腐叶土为基质的培养钵中。每 7 d 喷 1 次百菌清, 每 10 d 喷 1 次改良贺格兰营养液。

以上试管苗的移栽分别于 3~5 月份和 10~11 月份进行, 每种基质为 1 个处理, 每处理 200 株, 重复 3 次。

1.5 试管苗的瓶外生根试验

把试管壮苗材料自三角瓶中取出, 将新梢切下, 其中火鹤放于 IBA 100 mg/L 溶液中浸 1 h, 红宝石于 NAA 50 mg/L 溶液中浸 2 h 后, 立即栽到各自适宜的基质中, 管理措施同 1.4, 每种植物每次用试材 300 株, 重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导、增殖与分化及试管苗生根

2.1.1 火鹤 火鹤的茎尖无菌繁殖系在 MS+BA 5 mg/L+IBA 1 mg/L 培养基上培养 7 d 后, 基部开始膨大, 1 个月时形成绿色愈伤组织。为了取得较好的继代增殖培养基配方, 在诱导的基础上, 将培养物置于不同浓度激素配比中进行培养, 试验结果见表 1。

由表 1 可见, 生长素中, 含 IBA 的组合可以得到最大的愈伤组织相对增长率, 并且随着愈伤组织长大, 其表面陆续分化出大量桔红色芽点, 使愈伤组织生长与分化两步合一, 说明在火鹤愈伤组织增殖分化阶段, 生长素选用 IBA 较为适宜。

BA 与适宜浓度的 IBA 组合时表现出了较好的增殖效果, 其适宜浓度范围是 0.5~1 mg/L。以 BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 继代最为适宜。

火鹤是以愈伤组织增殖继代而分化芽点的, 并且在继代后会出现不同类型的愈伤组织, 通过选择增殖快、分化苗正常而淘汰增殖慢、分化异常的材料, 选择出了生物学产量高而稳定, 分化苗正常的优良快繁无性系。该系在 1994~1995 年一直保持愈伤组织每 28 d 增长 8~10 倍水平。

表 1 不同生长素与细胞分裂素配比对火鹤愈伤组织增殖、分化、芽生长的影响

		愈伤组织相对增长率(%)				愈伤组织分化芽数(个)				壮苗百分率(%)			
BA (mg/ L)		0. 5	1. 0	1. 5	2. 0	0. 5	1. 0	1. 5	2. 0	0. 5	1. 0	1. 5	2. 0
IBA (mg/ L)	0. 05	84	164	124	84	16	42	48	60	24	40	20	18
	0. 1	181	406	241	101	16	42	48	60	25	40	20	30
	0. 5	214	423	308	214	10	16	18	24	18	40	36	25
IAA (mg/ L)	0. 1	60	87	79	51	2	7	6	3	65	50	54	55
	0. 5	64	73	52	42	4	4	4	6	65	65	50	45
	1. 0	75	89	63	33	2	2	4	6	32	24	26	18
NAA (mg/ L)	0. 01	57	71	65	21	2	4	4	5	45	43	30	32
	0. 05	74	92	61	45	1	2	2	3	52	46	43	14
	0. 1	121	104	75	61	0	1	1	2	0	34	21	14
0		41	65	54	37	7	9	18	14	37	30	21	10

在生根培养基中, 生长素 IBA 和 NAA 各处理诱导生根率皆为 100%。试管苗在 IBA 0. 5 mg/ L 培养基中 7 d 显露根突, 1 个月时, 根长平均达 0. 5 cm, 平均发根数 3 条。使用 IBA 时, 在 0. 5 ~ 1. 0 mg/ L 范围内浓度越高, 根越粗壮。

2. 1. 2 红宝石喜林芋 愈伤组织诱导阶段, 芽锥的基部从培养 7 d 开始膨大而后上面开始分化形成不定芽, 在继代培养中, 愈伤组织增殖与分化同时进行, 不同浓度激素配比试验结果见表 2。

表 2 不同生长素与细胞分裂素配比对红宝石愈伤组织增殖、分化、芽生长的影响

		愈伤组织相对增长率(%)				愈伤组织分化芽数(个)				株高(cm)			
BA (mg/ L)		0. 5	1. 0	1. 5	2. 0	0. 5	1. 0	1. 5	2. 0	0. 5	1. 0	1. 5	2. 0
NAA (mg/ L)	0. 01	112	171	183	142	21	42	87	101	1. 2	1. 1	0. 8	0. 4
	0. 04	104	261	201	187	51	80	110	114	1. 5	1. 2	0. 8	0. 5
	0. 2	72	94	94	64	20	52	71	84	2. 5	1. 4	0. 7	0. 8
IAA (mg/ L)	0. 1	62	80	64	57	22	24	20	32	1. 5	1. 4	0. 7	0. 5
	0. 5	82	102	114	82	12	22	24	31	1. 9	1. 7	0. 8	0. 4
	1. 0	64	82	56	52	10	20	32	24	2. 0	1. 3	0. 7	0. 3
IBA (mg/ L)	0. 05	74	88	94	92	38	40	57	31	0. 5	0. 6	0. 4	0. 4
	0. 1	82	87	92	61	62	92	112	121	0. 6	0. 5	0. 4	0. 6
	0. 5	64	72	52	50	61	82	94	92	0. 8	0. 6	0. 5	0. 4
0		41	62	68	57	3	10	18	27	0. 5	0. 8	0. 4	0. 3

由表 2 可见, 3 种生长素以 NAA 组合的愈伤组织相对增长率处于较高水平, 分化苗多且正常。NAA 适宜浓度在 0. 01 ~ 0. 2 mg/ L 之间, 浓度太高($\geq 0. 5$ mg/ L)时, 继代培养物分化大量细根, 愈伤组织松散, 不适合作继代材料。使用 BA 浓度不宜超过 1. 5 mg/ L, 否则, 试管苗细弱, 并且培养物全部分化, 很难再继代培养。

上述结果表明: 红宝石以 BA 1. 0 mg/ L + NAA 0. 04 mg/ L 继代, BA 0. 5 mg/ L + NAA 0. 2 mg/ L 壮苗最适宜

在生根培养基中, NAA 和 IBA 诱导试管苗生根率皆为 100%。NAA 0. 1 mg/ L 培养基中培养 28 d 时平均根数 6 条, 根长 2. 0 cm。

2.2 变温与恒温培养对愈伤组织增殖、分化、试管苗生根的影响

试验表明, 变温与恒温培养对火鹤愈伤组织的增殖、分化、试管苗生根影响较大, 见表 3。

表 3 变温与恒温培养对火鹤愈伤组织的增殖、分化、试管苗生根影响

温度(℃)		增殖(%)	分化芽数(个)	壮苗百分率(%)	生根率(%)	平均根数(条)	平均根长(cm)
恒温	30±1	218	18a	13a	35a	2.4c	0.2a
	25±1	400	32b	32b	82e	3.5d	0.8b
	20±1	328	35d	60c	94f	3.8d	1.0b
	15±1	92	28b	20a	46a	1.8a	0.4a
变温 (30; 25) ±1	(30; 25) ±1	296	28b	22a	55c	2.2bc	0.3a
	(30; 20) ±1	382	34cd	40b	63d	2.4c	0.4ac
	(25; 15) ±1	380	52e	82d	100g	4.0e	1.0b
	(20; 15) ±1	140	32bc	54c	82e	2.0ab	0.5c

注: 纵行数字后字母不同数字表示: 差异在 $P\leq 0.05$ 水平上显著; 变温为昼: 夜

由表 3 可见: 在恒温条件下, 在 $25\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时愈伤组织增殖最快, 在 $20\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时愈伤组织分化芽最多, 壮苗率较高, 并且生根状况良好, 温度太高 ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$) 或太低 ($15\text{ }^{\circ}\text{C}$) 时, 愈伤组织增殖减少, 分化芽数少, 生根率降低, 根生长受到明显抑制, 特别是在 $30\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, 如果连续继代培养超过 3 代, 火鹤愈伤组织会分化拔节苗, 该苗中心叶片卷曲变小, 严重影响培养物的进一步继代培养。

在变温培养条件下, $30\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$; $20\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 火鹤愈伤组织生长较快, 在 $25\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$; $15\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时不仅愈伤组织增殖快, 而且分化芽数最多, 壮苗率, 生根率, 根数, 根长达最高水平。

恒温培养与变温培养相比可知, $25\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温条件时火鹤愈伤组织增殖稍高于变温培养的最高水平, 说明恒温 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养条件适合火鹤愈伤组织增殖生长; 而在变温培养中的 $25\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$; $15\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, 火鹤愈伤组织分化芽数、壮苗率、生根率、根数及根长都显著高于恒温培养的最高水平, 说明 $25\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$; $15\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变温培养更适合于火鹤愈伤组织分化芽, 培养壮苗和生根。

2.3 试管苗移栽驯化

表 4 基质对试管苗移栽驯化的影响

移栽基质	火 鹤					红 宝 石				
	根增长长度(cm)	叶宽(cm)	平均株高(cm)	新增叶数	移栽成活率(%)	根增长长度(cm)	叶宽(cm)	平均株高(cm)	新增叶数	移栽成活率(%)
纯沙	0.2a	0.9a	2.4a	1	55	0.5a	1.0a	1.9a	1	51
蛭石	0.2a	1.0a	2.2a	1	48	0.3a	0.7a	1.7a	1	64
蛭石+泥炭土	1.0bc	1.5b	3.4bc	2	81	2.5c	3.0c	5.5c	3	97
蛭石+砂+泥炭土	1.4c	2.0c	4.0c	2	95	1.8b	1.8b	4.5b	2	94
蛭石+泥炭土+腐叶土	0.7b	1.5b	3.0b	1	84	1.5b	1.7b	4.8bc	2	89

注: 纵行数字后字母不同表示在 $P\leq 0.05$ 上差异显著; 移栽后第 45 d 进行调查

2.3.1 环境对试管苗移栽驯化的影响 不同季节对火鹤、红宝石试管苗驯化结果可知: 平均日温低于 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, 基质温度低于 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时试管苗地下部分停止生长, 叶片生长亦呈停滞状态。当平均气温 $20\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 基质温度为 $15\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 试管苗根系恢复生长迅速, 平

均每 14 d 萌出展平一个新叶。

平均气温 25 ℃, 基质 15 ℃左右, 空气相对湿度在 65 %以上时, 基质对试管苗移栽驯化的影响见表 4。

综合表 4 结果可知, 在泥炭土+蛭石的基质里, 红宝石根系恢复生长最快, 试管苗发育良好; 火鹤适宜的移栽基质是泥炭土+蛭石+粗砂。

2.3.2 试管苗瓶外生根 试管苗瓶外生根结果见表 5。

表 5 试管苗瓶外生根结果

植物	生根率 (%)	试管苗根数 (条)	试管外诱导根突 1 mm 需要时间(d)	试管内诱导根突 1 mm 需要时间(d)	带根试管苗根生长 1 mm 需要时间(d)
火鹤	84	3~5	34	7	16
红宝石	91	2~4	24	7	5

由表 5 可见, 红宝石、火鹤在瓶外经生长素处理可以生根, 生根率略低于试管内生根率, 并且诱导根突时间较试管内长, 亦较带根试管苗移栽后开始恢复生长所需时间长, 然而试管苗在瓶外诱导出根突后, 根系生长迅速, 与生根试管苗缓苗后根系恢复生长的情况没有差异, 地上部分亦生长良好。

3 讨论

对于火鹤离体快速繁殖, 本研究在使用 BA 的同时, 配合了 IBA, 在 BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 配合下, 愈伤组织增加鲜重与分化芽数在各组合中高于岑益群等学者的报道^[1~4], 说明配合使用 IBA 可以提高火鹤愈伤组织的增殖速度, 且对 BA 促进火鹤愈伤组织分化具有良好的协同作用。然而在本科植物红宝石的生长素与细胞分裂素配比试验中结果却是 IBA 不能良好的促进愈伤组织的增殖与分化, 而配合使用 NAA 的增殖、分化效果最佳。说明基因型不同的植物在组织培养中对于激素的种类和浓度具有适应性和选择性。

在已报道的观赏植物快速繁殖资料中, 还未见针对愈伤组织选择优系的报道。本研究首次将选择优系法应用到了火鹤的离体快速繁殖。在火鹤的组织培养过程中, 是先以愈伤组织增殖, 继而分化不定芽, 并且在继代后出现了不同类型的愈伤组织, 在这种情况下就有可能和有必要选择出那些增殖快、分化芽点多且正常的优良无性系作为火鹤快速繁殖材料。这样在适宜的激素配比下, 利用良好的无性系, 就能在更短时间内生产更多苗木, 同时能降低组培苗的费用。因此, 选择优系法值得在更多的经愈伤组织途径增殖的观赏植物的离体快速繁殖时合理使用。

试管苗瓶外生根, 可以简化组织培养程度, 降低试管苗成本。关于天南星科观赏植物的瓶外生根, 国内外至今未见报道, 本试验火鹤、红宝石已得到良好结果。但试管苗瓶外生根率和质量尚未达到或超过瓶内水平, 有待进一步研究。

对火鹤愈伤组织进行变温培养也是实现快繁的关键技术之一, 但对其他植物是否适用, 有待验证。

参考文献:

- [1] 岑益群, 蒋如敏, 邓志龙, 等. 安祖花离体增殖的形态发生与理化因子效应[J]. 园艺学报, 1993, 20(2): 187—192
- [2] Peak K Y Oh Mo Chon J K. Mass Propagation of cordyline and scindaosus aurea[J]. Journal of the Korean Society for Horticulture Science, 1985, 26(1): 83—92
- [3] Pienik R L M. Anthruium andraeanum plantlets produced from callus tissue cultivated *in vitro*[J]. Physiol Plant, 1976, 37(1): 80—82
- [4] Richard H Z, Ingrid F. Simplified method for rooting apple cultivars *in vitro*[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1985, 110(1): 34—38.

Tissue Cluture and Rapid Propagation of *Anthurium scherzrianum* and *Philodendron enbesoens* cv Red Emerald of Modern Ornamental Aroid

WANG Lin-min¹, WANG Xian-ge¹, LI Jun-ying¹, LI Jing², ZHANG Hong-mei³

(1. Shijiazhuang Institute of Pomology, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences

Shijiazhuang 050061, China; 2. Entry-Exit Inspection Quarantine Bureau of Hebei,

Shijiazhuang 050051, China; 3. Institute Agrophysics, Plant Physiology

and Biochemistry, Hebei Academy of Agricultural and

Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China)

Abstract: Mordern ornamental plants, *Anthurium scherzerianum* Schott and *Philodendron enbesoens* cv. Red Emerald were propagated successfully by means of tissue culture techniques. Through gradual subculture, the best clone was selected as proliferatative material from a large amount of callus of *Anthurium scherzerianum* schott. The results of transplantation showed that: plantlets could start to grow vigorously only when the temperature of medium in the container was about 15 ~ 20 °C, and room temperature was 22 ~ 25 °C in all acclimatization stages. Better the transplantation medium of each kind of plant was chosen in this study. Out test-tube rooting of cuttings derived from in Rapid Propagation have been achieved by the treatment of exogenous auxin.

Key words: *Anthurium scherzerianum* schott; *Philodendron enbesoens* cv. Red Emerald; Tissue Culture; Transplantation