

花叶万年青的组织培养和快速繁殖

朱根发 张远能 邹春萍 张志民

(广东省农业科学院花卉研究所, 广州 510640)

摘要 研究了观赏植物花叶万年青属9个品种的组织培养和快速繁殖技术。不同品种的组织培养能力有很大差异。培养基中添加3-5 mg L⁻¹ 6-BA比较适宜花叶万年青不定芽的诱导培养和增殖培养, 生根培养基以1/2 MS+0.5 mg L⁻¹ NAA效果较好。实现了玛利安万年青等4个品种的组培快繁工厂化生产。

关键词 花叶万年青; 观赏植物; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号 Q943.1

TISSUE CULTURE AND RAPID PROPAGATION OF *DIEFFENBACHIA*

Zhu Genfa Zhang Yuanneng Zhou Chunping Zhang Zhiming

(Floricultural Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, 510640)

Abstract Tissue culture and rapid propagation of 9 cultivars of *Dieffenbachia* were studied. The proliferation rates among the 9 varieties were quite different. Treatment with 3-5 mg L⁻¹ 6-BA was favorable for adventitious shoot induction and plant proliferation. Treatment on 1/2 MS medium with 0.5 mg L⁻¹ NAA was best for rooting. A large scale production of plantlets was established for 4 varieties, viz. *D. maculata* cv. Camilla, *D. Maculata* cv. Rudolph Roehrs, *D. seguine* cv. Wilson's Delight and *D. amoena* cv. Mars.

Key words *Dieffenbachia*; Ornamental plants; Tissue culture; Rapid propagation

室内观赏植物是近年来我国发展最快的花卉种类, 特别是天南星科观赏植物。花叶万年青属(*Dieffenbachia*) (又称黛粉叶属)为天南星科植物。植株多年生, 不同种和品种的叶片多有不同的黄色或白色斑纹, 绚丽多彩, 是一类比较流行的室内观赏植物。其繁殖方法主要靠茎段侧芽萌发和扦插繁殖, 年繁殖系数低, 一般在5-20倍。以组织培养方法可有效快速繁殖。Henny J.^[1]利用组织培养技术繁殖了花叶万年青属的一个新品种; 邱鸿步等^[2]利用匙鞘万年青的茎段进行组织培养, 年繁殖系数可达53.1万, 试管苗成活率达95%以上; Orlikowska T.等^[3]认为叶柄基部最适宜做组织培养的外植体。我们利用近年从国外新引进的品种, 探讨了花叶万年青属的组织培养快速繁殖技术。

1 材料和方法

供试品种 选用近年新引进的大斑马万年青(*Dieffenbachia amoena* cv. Giant

Dumbcane)、夏雪(大王)万年青(*D. amoena* cv. Tropic Snow)、卫士万年青(*D. amoena* cv. Vesuvius)、天堂万年青(*D. amoena* cv. Mars)、大叶发财树(*D. amoena* cv. Big Ben)、金雪(乳斑)万年青(*D. maculata* cv. Rudolph Roehrs, Gold dieffenbachia)、玛利安万年青(*D. maculata* cv. Camilla)、克克万年青(*D. maculata* cv. Sublime)、银脉万年青(*D. seguine* cv. Wilson's Delight) 9个品种。

外植体的接种和建立无性繁殖系 取上述各品种的植株,剥去叶片,将带侧芽的茎段切出,刮去周围污垢,自来水冲洗干净后吸干。先用75%酒精浸泡3-5 min,再用10%灭菌净消毒30-40 min或0.1% HgCl₂消毒20-30 min,无菌水冲洗4-5次。吸干置于26±2℃、12 h d⁻¹散射光下、诱导培养基MS+6-BA 5 mg L⁻¹(单位下同)+KT 0.5+NAA 0.2+GA₃ 0.5中诱导侧芽萌发,建立无菌培养系。将萌发出的侧芽,从中剖开,继续置于诱导培养基中培养。

培养基对增殖培养的影响 试验材料为大斑马万年青。试验了MS、1/2MS、NM(大量元素为N₆,其它为MS培养基成份)、BM(大量元素为B₅,其它为MS培养基成份)4种基本培养基,均添加6-BA 5+NAA 0.5+KT 0.5,每处理8瓶,每瓶接种4个(块),重复3次。30 d后统计每个(块)增殖芽数。

生长调节剂对增殖培养的影响 试验材料为玛利安万年青和大斑马万年青。以MS为基本培养基,6-BA浓度为1、3、5 mg L⁻¹,NAA为0.2、0.5 mg L⁻¹,KT为0、0.5 mg L⁻¹。处理方法同上。

生根培养 供试材料为玛利安万年青和夏雪万年青。将增殖培养中再生的无根植株切出,置于MS+NAA 0.2-1或1/2MS+NAA 0.5的培养基中培养,均添加0.5%活性炭。每瓶接种3株,重复6次。10 d和30 d后统计生根率及生根条数。

移栽 将已生根植株从瓶中取出,用自来水冲洗干净,移栽于珍珠岩+泥炭土(2:1)的混合基质中,保持80%湿度、75%遮光率。14 d后开始喷施叶面宝或0.1%尿素+复合肥。30 d后统计成活率。并进行叶片花色变化观察。

2 结果与分析

2.1 不同品种的组织培养表现

在建立无性繁殖系的诱导培养过程中,9个花叶万年青品种出现3种现象:(1)直接诱导形成丛生芽,如玛利安万年青、银脉万年青、卫士万年青等品种。这些品种每30 d的繁殖指数一般在3倍以上(图版I:1)。(2)先诱导形成愈伤组织,再出现丛生芽,如金雪万年青和天堂万年青等品种,其繁殖指数为2-3倍(图版I:2)。(3)诱导和增殖过程中形成大量愈伤组织且较难分化为丛生芽,如大斑马万年青、夏雪万年青、克克万年青、大叶发财树等,其繁殖指数较低,一般为1.5-2倍(图版I:3)。

2.2 培养基对大斑马万年青增殖的影响

由于大斑马万年青较难进行组织培养大量繁殖,我们利用不同的基本培养基来考察不同的大量元素配比对其分化增殖的影响。从表1可见,切取分化植株不同部位进行增殖培养,增殖

率有明显的差异, 表现为茎切段 > 茎基 > 愈伤组织。这说明大斑马万年青的增殖方式以茎段节间侧芽萌发为主, 愈伤组织的分化成苗率不高。在4种基本培养基中, 茎切段和茎基的增殖效果, BM 优于 MS、1/2MS 及 NM; 但就愈伤组织的分化率而言, NM > BM > MS, 说明培养基中不同的大量元素配比对大斑马万年青的增殖有一定的影响。

2.3 不同 NAA、6-BA、KT 浓度对大斑马万年青增殖的影响

从表2可看出, 在MS培养基中, 添加 0.5 mg L^{-1} NAA 比较有利于大斑马万年青的增殖培养。当NAA为 0.5 mg L^{-1} 时, MS培养基中添加 3 mg L^{-1} 的6-BA, 有利于茎切段侧芽的萌发, 茎基的分化则以 1.0 、 0.5 mg L^{-1} 6-BA 效果较好。但高NAA浓度、高6-BA浓度都易刺激切口形成大量愈伤组织。

表1 不同培养基下大斑马万年青的增殖率(%)

Table 1 Proliferation rate of *D. amoena* cv. Giant Dumbcane on different media

培养基 Medium	不同部位的增殖出苗率(%) Proliferation rate of different subculture materials		
	茎切段 Shoot segment	茎基 Basal shoot	愈伤组织 Callus
	NM	113	67
BM	163	117	50
MS	150	100	33
1/2MS	125	64	

表2 大斑马万年青在不同 NAA、6-BA、KT 浓度下的增殖出苗率(%)

Table 2 Proliferation rate (%) of *D. amoena* cv. Giant Dumbcane on NAA, KT and 6-BA with different concentrations

NAA (mg L^{-1})	6-BA (mg L^{-1})	KT (mg L^{-1})	茎切段 Shoot segment	茎基 Basal shoot
0.5	1	0.5	133	67
0.5	3	0.5	143	43
0.5	5	0.5	113	67
0.2	3	0.5	100	27
0.2	3	0	100	50

2.4 不同 6-BA 浓度对玛利安万年青增殖及生长的影响

将玛利安万年青的丛生芽转移到分别添加 1 、 3 、 5 mg L^{-1} 6-BA 的MS培养基中培养, 发现随着6-BA浓度的提高, 玛利安万年青的增殖率也有所增加, 其增殖指数分别达到3.3、3.9、4.2倍。增殖倍数的增加, 丛生芽的增殖团块增大, 能形成较多的植株, 但植株变矮, 节间缩短, 叶片展开相对较少。因此, 当要进行生根培养时, 需先降低培养基中6-BA浓度, 有利于形成较健壮的植株。

2.5 不同 NAA 浓度对植株生根的影响

玛利安万年青和夏雪万年青小植株生根培养的适宜NAA浓度为 0.5 mg L^{-1} , 30 d 的生根率均达到100% (图版 I:4), 但随着NAA浓度的提高, 玛利安万年青植株平均生根数有所增加。1/2MS培养基比MS培养基更有利于玛利安万年青植株的生根, 其植株平均生根数有显著的增加(表3)。

2.6 组培苗的移栽及移栽前后的表现

花叶万年青组织培养过程中, 大多数品种的叶片在瓶内均表现为绿色, 并无叶片斑纹出现, 只有金雪万年青在瓶内保持母株叶片性状(图版 I:5)。但进行移栽后, 供试品种的组培苗均

能表现出母株性状, 其花叶特性能得到完全保持。其中玛利安万年青(图版 I:6,7)、银脉万年青等品种在植株新长出 2-3 片叶后开始出现母株性状; 大斑马万年青、夏雪万年青、天堂万年青、克克万年青、卫士万年青等品种在移栽植株新长出 3-4 片叶后能出现母株叶片性状。9 个花叶万年青品种利用本研究的移栽方法, 移栽成活率均达 96% 以上。

表 3 不同 NAA 浓度下玛利安万年青和夏雪万年青植株的生根率(%) 和平均生根数(条)

Table 3 Rooting percentage of *D. maculata* cv. Camilla and *D. amoena* cv. Tropic Snow on NAA with different concentrations

品种 Cultivars	NAA (mg L ⁻¹)	基本培养基 Basal medium	10 d 的生根率(%) Rooting rate after 10 days	30 d 的生根率(%) Rooting rate after 30 days	平均生根数(条) Mean root number
玛利安万年青	0.2	MS	33	100	1.7
<i>D. maculata</i> cv.	0.5	MS	50	100	1.7
Camilla	1.0	MS	60	90	3.1
	0.5	1/2MS	67	100	4.7
夏雪万年青	0.2	MS	20	80	0.8
<i>D. amoena</i> cv.	0.5	MS	60	100	1.4
Tropic Snow	1.0	MS	20	80	1.4

3 讨论

尽管国内外对花叶万年青属观赏植物的组织培养研究已有报道^[1-5], 但我们是利用从国外新引进的品种进行组织培养和快速繁殖研究。结果认为: 该属植物的组织培养能力品种间差异较大, 在供试的 9 个品种中, 只有 4 个品种实现了大规模工厂化生产, 如玛利安万年青、天堂万年青、金雪万年青和银脉万年青等, 已繁殖生产了 22 万株。其它品种的继代增殖率均较低, 继代过程中伴有大量的愈伤组织发生, 需进一步研究提高其增殖率及降低愈伤组织的发生率。

对花叶万年青的组织培养, 有研究认为培养基中 6-BA 浓度以 10 mg L⁻¹ 比较合适^[4,5]。我们通过对大斑马万年青和玛利安万年青的试验研究及其它 7 种花叶万年青的增殖培养观察, 认为培养基中添加 3-5 mg L⁻¹ 6-BA 比较适宜花叶万年青的增殖培养, 过高的 6-BA 浓度较易导致形成大量的愈伤组织。

Orlikowska 等^[3]认为, 叶柄基部是花叶万年青最适宜做组织培养的外植体, 但在其再生植株中出现了一些白化体变异。邱鸿步等^[2]以匙鞘万年青茎段为培养材料诱导成胚状体途径成苗, 组培苗性状稳定。我们利用茎段侧芽作外植体, 以不定芽的方式增殖, 虽然有些品种的增殖率较低, 但所有品种的母株性状均在再生植株中得到稳定保持, 未发现有变异现象。说明茎段侧芽是比较适合花叶万年青进行大规模组培快繁生产的外植体。

参考文献

- 1 Henny R J. Development, testing and release of new ornamental aroid cultivars. *Acta Horticulturae*, 1989, 252: 71-76
- 2 邱鸿步, 王秀华, 谢向坚等. 匙鞘万年青茎段组培快速育苗研究. *中国科技成果大全*, 1993, (2):226
- 3 Orlikowska T, Sabata I, Nowak E. Adventitious shoot regeneration explants of *Anthurium*, *Codiaeum*, *Dieffenbachia*,

Gerbera, Rosa and *Spathiphyllum* for breeding purposes. *Acta Horticulturae*, 1995, 420:115-117

- 4 王怀宇, 陈明昭. 花叶万年青的组织培养. 植物生理学通讯, 1987, (4):57
- 5 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术. 中国林业出版社, 1991, 330-331

图版说明

1. 玛利安万年青增殖苗; 2. 天堂万年青增殖苗; 3. 大叶发财树增殖苗; 4. 夏雪万年青生根苗; 5. 移栽 30 d 后的玛利安万年青组培苗; 6. 金雪万年青增殖苗; 7. 移栽 60 d 后的玛利安万年青组培苗.

Explanation of plate

1. Plantlets of *D. maculata* cv. Camilla; 2. Plantlets of *D. amoena* cv. Mars; 3. Plantlets of *D. amoena* cv. Big Ben; 4. Rooting plantlets of *D. amoena* cv. Tropic Snow; 5. Plantlets of *D. maculata* cv. Camilla after transplanting for 30 days; 6. Propagation of *D. maculata* cv. Rudolph Roehrs; 7. Plantlets of *D. maculata* cv. Camilla after transplanting for 60 days.