

丽格海棠组织培养不同激素组合试验

曹国艳¹, 郝玉兰², 陈少瑜³, 杨树国¹

(1. 西南林学院资源学院, 云南 昆明 650224;

2. 内蒙古师范大学生命科学与技术学院; 3. 云南省林业科学院林木遗传育种实验室)

摘要:丽格海棠是世界上重要盆栽花卉之一, 以丽格海棠的嫩叶为外植体进行组织培养, 研究了离体条件下, MS 培养基中不同激素种类与浓度, 对丽格海棠愈伤组织诱导、不定芽增殖及诱导生根的影响。结果表明: 培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 适合于愈伤组织的诱导及不定芽分化, 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L 适合于生根诱导。

关键词:丽格海棠; 组织培养; 愈伤组织

丽格海棠 (*Begonia rieger*) 又称玫瑰海棠, 属葫芦目、秋海棠科、秋海棠属^[1-2], 为多年生草本花卉, 是球根海棠和野生秋海棠的杂交品系^[3]。丽格海棠的花型花色丰富, 品种繁多, 株型丰满, 枝叶翠绿, 花期可长达半年以上, 是不可多得的室内观花植物^[4-5]。丽格海棠不形成种子, 一般采用扦插或者组织培养进行繁殖^[6]。由于丽格海棠分株能力差, 扦插成活率低, 繁殖速度慢, 难以满足市场的大量需求。组培繁殖丽格海棠, 取材少、繁殖系数高、繁殖速度快, 是快速繁殖丽格海棠的有效方法。丽格海棠组织培养已有一些相关报道^[4-6], 本试验以丽格海棠幼叶为外植体, 比较不同培养条件下诱导愈伤组织、不定芽增殖及诱导

生根的效果, 为采用组培方法大量、快速繁殖丽格海棠优良品种 (品系) 提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

取盆栽丽格海棠幼嫩叶片作为外植体。

1.2 培养基及培养条件

MS 为基本培养基, 其中含蔗糖 30 g/L, 琼脂 7%, pH 值为 5.8。各阶段培养基激素组合处理见表 1。

培养条件: 室温 22.5~25℃, 光照时间 12 h/d, 光照强度 1 500 Lx。

表1 丽格海棠组织培养激素组合处理浓度表 单位: mg/L

激素	处 理								
	I ₁	I ₂	I ₃	II ₁	II ₂	II ₃	h ₁	h ₂	h ₃
诱导芽阶段									
6-BA	1.0	2.0	2.5	1.0	2.0	2.5			
NAA	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2			
诱导根阶段									
6-BA							0	0	0
NAA							0.1	0.2	0.4

1.3 方法步骤

取新鲜幼嫩叶片, 用水冲洗干净。在无菌室中, 用 70% 的酒精中漂洗 6 s, 放入 0.1% 的二氯化汞溶液中消毒 2 min, 取出, 用无菌水冲洗 5 遍。在超净工作

台上, 将叶片放在消毒滤纸上, 切成 0.5 cm×0.5 cm 的小方块, 把切好的小叶块平放于不定芽诱导的培养基 I₁~II₃ 中 (见表 1), 每种培养基分别放入 30 小块叶外植体, 待分化出不定芽、丛生芽后切成单芽, 再转入

生根培养基 $h_1 \sim h_3$ 中,分别记录接种及转接时间,并观察记录愈伤形成、分化情况。

2 结果与分析

2.1 不同植物激素浓度诱导愈伤组织及不定芽的产生

结果见表2。在诱导愈伤组织及不定芽的培养基中,30 d后叶片增大,叶切伤边缘膨大,变得肥厚,产生愈伤组织;转瓶后继续培养,愈伤组织块变大,大多数成黄绿色疏松的颗粒状,并出现白色芽点,这与朱德蔚在植物组织培养与脱毒快繁技术^[7]中描述的白色芽点相一致。继续培养,白色芽点长大并增多,有的芽点上开始长出丛生芽。这6种培养基均能诱导出愈

伤组织,但诱导率、诱导时间和长势不同。由表2可见,培养基 I_3 最先诱导出愈伤组织,分化出的丛生芽也最多,诱导率分别为86.67%和93.33%,培养基 I_2 诱导出的愈伤组织及分化出的丛生芽与 I_3 相差不多,诱导率分别为80%和86.67%,但是 I_2 分化出的丛生芽大且健壮,易切成单芽进行生根培养, I_3 分化出的丛生芽细小,不易切成单芽;其它培养基也诱导出愈伤组织,分化丛生芽,但长势不如 I_2 ,芽较细小; II_1 诱导出的愈伤组织及相应分化出的丛生芽最少,仅为23.33%和26.67%。以上实验结果说明 I_2 是最适合诱导愈伤组织及不定芽分化的培养基。

表2 不同浓度激素诱导愈伤组织及不定芽的产生

诱导 结果	处理					
	I_1	I_2	I_3	II_1	II_2	II_3
10 d后产生愈伤组织外植体数	0	0	3	0	0	0
30 d后产生愈伤组织外植体数	11	18	20	4	12	15
转瓶10 d后产生愈伤组织外植体数	18	24	26	7	17	19
转瓶10 d后愈伤组织诱导率 %	60	80	86.67	23.33	56.67	63.33
愈伤组织形态特征	黄绿色 疏松颗粒状	黄绿色 疏松颗粒状	黄绿色 疏松颗粒状	多数 褐化	多数 褐化	黄绿色 疏松颗粒状
分化芽的愈伤组织块数	20	26	28	8	18	21
芽诱导 分化芽的诱导率 %	66.67	86.67	93.33	26.67	60	70
分化出芽的特征	细小	健壮	细小	少且小	细小	细小

注:每种培养基接入外植体总数是30个,接入分化芽的愈伤组织块数是30个。

2.2 不同激素浓度对根的诱导

无菌条件下,将带有丛生芽的愈伤组织块切成单芽移栽到1/2MS培养基中壮苗,然后再移至生根培

养基中,诱导根的产生。间隔10 d观察1次并转瓶,具体结果见表3。

表3 不同浓度激素诱导生根

处理	生根总数	平均生根率	根生长状况
h_1	19个	63.33 %	根长度在:0.4 cm~1.0 cm,较少,多数根较细较弱
h_2	25个	83.33 %	根长度在:0.3 cm~1.5 cm,多,多数根粗较健壮
h_3	28个	93.33 %	根长度在:0.4 cm~1.6 cm,最多,多数根较细较弱

注:表中数据是第20 d的观察结果,每种培养基接入的单芽总数是30个。

由表3可见,3种激素组合处理 h_1 、 h_2 、 h_3 都诱导出了不定根,但诱导出的不定根数目长短粗细各不同。其中 h_2 (1/2 MS + NAA 0.2 mg/L)培养基诱导不定根多且健壮,平均生根率达到83.33%, h_3 虽然诱导的不定根最多,但是多数较细弱,说明 h_2 是3种激素组合处理中最为适合诱导丽格海棠生根的组合。

2.3 炼苗移栽

生根瓶苗在移栽前要进行增光、降温锻炼,将瓶盖拧松使其适应外界环境,并在出瓶前3 d,开瓶盖降湿,之后取出生根良好的小苗,用20℃左右的清水冲洗5遍,移栽到珍珠岩与泥炭(比例为1:1)的基质中,用喷雾器浇透水,放在荫棚。丽格海棠前期的生长

需要较高的相对空气湿度,相对湿度应控制在80%~85%。温度控制在22℃,10 d后,叶面喷施1/2MS大量元素营养液,每10 d喷施1次,30 d后进入小苗的常规管理,成活率可达93%以上。淋水应遵循“见干见湿”的原则,同时淋水时注意不要沾湿叶片。丽格海棠对养分缺乏或养分过多都很敏感,因此施肥应薄施。

3 结论与讨论

(1)试验结果表明:以丽格海棠的嫩叶作为外植体,愈伤组织诱导及不定芽分化的最佳培养基为MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L;生根诱导的最佳培养基为1/2 MS + NAA 0.2 mg/L;移栽的最佳基质为珍珠岩与泥炭(比例为1:1)。

(2)试验之所以使用NAA而不使用IAA,是因为NAA在组织培养中的启动力较高^[8],而且高温高压下也较稳定,不易破坏分解,价钱便宜,可大批量人工合成,可以为丽格海棠进一步的工厂化育苗节约成本。

(3)试验中,培养基I₃(6-BA:NAA=25:1)诱导的愈伤组织和不定芽最多,II₁(6-BA:NAA=5:1)诱导的愈伤组织和不定芽最少。6-BA属细胞分裂素类,主要是促进细胞分裂和细胞的横向扩大^[9],诱导芽的分化^[10],NAA属生长素类,主要是促

进茎上不定根的产生,当二者比值相对高时,有利于芽的分化,当二者比值相对低时,有利于根的产生。本试验结果符合这一基本理论。

参考文献

- [1] 徐宏英,谢海军. 玫瑰海棠的组织培养[J]. 植物生理通讯,1999,35(5):381-384.
- [2] 李进进. 玫瑰海棠的离体快速繁殖[J]. 植物生理通讯,1999,33(4):358-359.
- [3] 刘玉贞. 用组织培养快速繁殖球根海棠[J]. 植物生理通讯,1985,(3):30.
- [4] 张文珠,林德钦,李梅. 丽格海棠的组织培养和快速繁殖[J]. 广西热带农业,2005,(3):9-11.
- [5] 范小峰,李师翁,田兴旺. 丽格海棠的组织培养及快繁[J]. 植物生理通讯,2003,39(2):146-147.
- [6] 杨俊慧,李建东,孟庆军,吴洪涛. 丽格海棠的组织培养实验[J]. 河北林业科技,2003,(4):10-11.
- [7] 朱德蔚. 植物组织培养与脱毒快繁技术[M]. 北京:中国科学技术出版社,2001:11-12.
- [8] 朱建华. 植物组织培养实用技术[M]. 北京:中国计量出版社,2002:62-70.
- [9] 潘瑞炽主编. 植物生理学(第四版)[M]. 北京:高等教育出版社,2004:177-186.
- [10] 崔德才,徐培文主编. 植物组织培养与工厂化育苗[M]. 北京:化学工业出版社,2003:11-21.

The Tissue Culture in Begonia Rieger

CAO Guo-yan¹, HAO Yu-lan², CHEN Shao-yu³, YANG Shu-guo¹

(1. Faculty of Resources, Southwest Forestry College, Kunming Yunnan 650224, China;

2. Faculty of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University;

3. Department of Forest Tree, Yunnan Academy of Forestry)

Abstract: Begonia rieger is one of the most important potted ornamentals in the world. Young leaves of Begonia rieger as explants, callus inducing, proliferation of adventitious bud and rootage inducing were studied under culture media with different kinds and concentration of hormones. The results show: MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.1mg/L is suitable for inducing callus and proliferation of adventitious bud, 1/2MS+NAA 0.2 mg/L is suitable for rootage.

Key words: Begonia rieger; Tissue culture; Callus