

液体培养在丽格海棠快繁中的应用研究

李先芳¹, 李利红¹, 李伟强¹, 张雪保², 何俊花¹

(1. 郑州牧业工程高等专科学校生物工程系, 河南郑州 450011; 2. 郑州市中原区农经委, 河南郑州 450007)

摘要: 以丽格海棠嫩叶片为外植体, 接种在固态诱导培养基上形成丛芽后, 再转至不同的增殖培养基上, 分析和比较在不同培养基中的快繁效果。结果表明: MS+BA1.5 mg·L⁻¹+NAA0.01 mg·L⁻¹液体培养基是最佳增殖培养基; 1/2MS+NAA0.1 mg·L⁻¹液体培养基的生根效果最好。

关键词: 液体培养; 丽格海棠; 快繁

中图分类号: Q 949.759.7

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2007)01-0176-03

Studies on the Rapid Propagation of *Begonia rieger* in Liquid Culture

LI Xian-fang¹, LI Li-hong¹, LI Wei-qiang¹, ZHANG Xue-bao² and HE Jun-hua¹

(1. Department of Bioengineering, Zhengzhou College of Animal Husbandry, Zhengzhou 450011, China;

2. Rural Economy Committee of Zhongyuan District, Zhengzhou 450007, China)

Abstract: In the experiment, the young leaves of *Begonia rieger* were selected as explants and were inoculated in solid inductive medium for inducing cluster buds; then the cluster buds were transferred into different multiplication culture mediums to watch the different macro propagation effects. The results showed that the optimum culture medium for multiplication was the liquid medium of MS+BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA0.01 mg·L⁻¹, the optimal medium for rooting was the liquid medium of 1/2MS+NAA0.1 mg·L⁻¹.

Key words: Liquid culture; *Begonia rieger*; Rapid propagation

丽格海棠(*Begonia rieger*)是秋海棠科秋海棠属多年生草本植物, 为球根秋海棠和野生秋海棠杂交而成的优良品系。其花朵繁密, 花色娇艳, 花期长达4~6个月, 耐阴性好, 非常适合室内栽培观赏, 有广泛的市场前景。但由于丽格海棠通过扦插获得的量有限, 进口种子的价格又很昂贵, 所以以它的叶、茎、花茎、叶柄等营养器官作为外植体, 进行组织培养是其快繁的有效途径。目前国内外的报道大多是关于对丽格海棠采取固体培养进行快繁的研究^[1~5], 未见关于液体培养快繁的研究报道。本研究在对丽格海棠进行启动培养以后, 分别采用固、液两种培养基进行增殖培养(4种配方)和生根培养(2种配方), 以期筛选出丽格海棠离体快繁的最佳培养基, 同时首次对丽格海

棠液体培养的效果进行分析。

1 材料与方法

1.1 材料

河南华艺园林公司提供的盆栽丽格海棠。

1.2 方法

剪取生长健壮的嫩叶, 自来水流动冲洗30~60 min, 在无菌条件下置于0.1%升汞溶液中5~6 min, 无菌水冲洗5~6次, 切成0.5~1.0 cm²小块进行接种。

启动培养基(1)MS+BA0.5 mg·L⁻¹(以下单位相同)+NAA0.1(固); (2)MS+BA1+NAA0.1(固); 增殖培养基(3)MS+BA0.1+NAA0.01(固、液); (4)MS+BA0.5+NAA0.01

收稿日期: 2006-06-15 修回日期: 2006-07-25

基金项目: 河南省科技攻关计划项目(0424050018)。

作者简介: 李先芳(1964-), 副教授, 主要从事组织培养的教学及科研工作。

(固、液);(5)MS+BA1.0+NAA0.01(固、液);
(6)MS+BA1.5+NAA0.01(固、液);生根培养
基(7)1/2 MS+NAA0.5(固、液);(8)1/2 MS+
NAA0.1(固、液)。

以上固体培养基中均加琼脂粉 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,
蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。培养基分装在罐头瓶中,每瓶
装 50 mL。

培养条件:光照强度 $1\,500 \sim 2\,000 \text{ lx}$,光照时

间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$,温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。

2 结果与分析

2.1 定芽的诱导

外植体接种 7 d 后,叶组织开始发生变化,叶
边缘膨大成拱形,叶色变淡;18 d 后发育成黄绿
色芽点,28 d 后形成丛芽。

表 1 不定芽诱导结果

Table 1 The inducement result of the adventive bud

培养基编号 Number	外植体/块 Explants /block	分化数/块 Number of the differentiation/Block	诱导率/% Rate of the inducement	丛芽形成时间及特征 The appearance time and characteristic of the buds
(1)	16	9	56	33 d, 丛芽稀疏 33 d, the buds is rare
(2)	16	14	88	28 d, 丛芽致密 28 d, the buds is dense

由表 1 知,以丽格海棠叶片为外植体诱导不
定芽时,诱导率在 50% 以上,其中(2)号培养基诱
导效果最好。即 BA 添加水平为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,
不仅诱导时间短(28 d),分化率高(88%),而且丛
芽致密,颜色油绿,生长整齐健壮。

2.2 不定芽增殖

将高度大于 0.5 cm 丛芽切割成块,接种于
(3)、(4)、(5)、(6)培养基上。每个处理接种 10
块。9 d 后各处理不定芽块基部开始有新芽发
生,到 16 d 后芽丛可长至 2 cm 以上的高度。

表 2 不定芽增殖结果

Table 2 The multiplication result of the adventive bud

培养基编号及类型 Number and variety of the medium	继代时间/d Spacing interval	均芽数/个 Average number of the buds	叶色 Leave's color
(3) 液体 Liquid	25	4.9	色绿 green
固体 Solid	25	4.8	
(4) 液体 Liquid	28	5.6	色绿 green
固体 Solid	25	5.0	
(5) 液体 Liquid	21	7.5	油绿,主脉基部泛红 Dark green, the main vein's base is light red
固体 Solid	23	6.1	
(6) 液体 Liquid	19	11.0	油绿,主脉基部泛红 Dark green, the main vein's base is light red
固体 Solid	20	7.9	

注:继代时间为丛芽接种至第一次继代;芽高 $\geq 2 \text{ cm}$ 为标准。

Note: Spacing interval is from the inoculation by buds to be transferred for the first time; The root which is no less than 2 cm is the standard of the numeration.

由表 2 知,以 MS 为基本培养基,不同激素处
理水平及培养方式对丽格海棠不定芽的增殖表现
不尽相同,如表所示,(3)、(4)培养基的继代时间
都在 25 d 以上,均芽数目少于 5 个,叶色嫩绿,叶
柄、叶脉黄绿;(5)、(6)培养基中,继代时间最长为
23 d,均芽数目最少为 6.1 个,且不定芽叶色油绿,
叶形呈倒卵形,主脉粗大基部及叶柄发红,具有丽

格海棠的典型形态特征。

用邓肯氏新复极差测验分别对每个增殖培养
基的固体和液体培养产生的新芽数目进行分析,
结果表 3。从表中看出,(6)号培养基无论是固体
培养还是液体培养,其结果均与其他培养基结果
达极显著差异水平,因此可以说,(6)号培养基是
丽格海棠不定芽诱导的最佳培养基。

表 3 邓肯氏新复极差测验

Table 3 Duncan's new multiple range

培养基编号及类型 Number and variety of the medium	5%	1%	培养基编号及类型 Number and variety of the medium	5%	1%
(6) 固体 Solid	a	A	(6) 液体 Liquid	a	A
(5) 固体 Solid	b	B	(5) 液体 Liquid	b	B
(4) 固体 Solid	c	B	(4) 液体 Liquid	c	C
(3) 固体 Solid	c	B	(3) 液体 Liquid	c	C

2.3 不定根诱导

将高度为 3 cm 以上的不定芽切下,转移至(7)、(8)进行生根培养。每个处理接种 10 块。10 d 后基部伤口和基部茎节上陆续长出白色不定根,20 d 后逐渐形成稳定根系,若生长时间延长,部分根及叶片黄化乃至变褐。

从表 4 可以看出,液体培养基生根的数目和鲜重均大于固体培养基,根的长势也较固体培养基好,不仅有较多粗壮主根,而且侧根及毛根发达;固体培养基产生的主根数量少、细长,侧根稀

疏,且易变褐。

2.4 液体培养与固体培养效果的方差分析

表 5 对(3)号至(8)号培养基的固体和液体培养产生的新芽数目或新根数目进行了方差分析,可以看出,(3)和(4)两个配方的固体与液体培养差异不显著,这大概与 BA 浓度低有关;(5)、(6)和(8)号配方的固体与液体培养差异达极显著水平,(7)号培养基的固体与液体培养差异显著。也就是说,(5)、(6)、(7)和(8)液体培养效果明显好于固体培养的效果。

表 4 不定根诱导结果

Table 4 The inducement result of the adventive root

编号 Number	均根数/个 Average number of the roots	根均鲜重/(g/株) Average weight of the roots/(g/stem)	主根 The main roots	侧根 The side roots
(7) 固体 Solid	3.4	0.65	少而细 Few and thin	稀 Rare
液体 Liquid	4.5	0.91	粗壮 Strong	密 Dense
(8) 固体 Solid	3.9	0.69	少而细 Few and thin	稀 Rare
液体 Liquid	6.1	1.32	粗壮 Strong	密 Dense

注:根长 ≥ 2 cm 为记数标准。

Note: The root which is no less than 2 cm is the standard of the numeration.

表 5 不同类型培养基方差分析

Table 5 Variance analysis on the liquid and solid medium of every type

培养基类型 Variety of the medium	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
(3)固体与液体 Solid and liquid	0.07	4.42	8.28
(4)固体与液体 Solid and liquid	1.98		
(5)固体与液体 Solid and liquid	10.14**		
(6)固体与液体 Solid and liquid	31.03**		
(7)固体与液体 Solid and liquid	7.31*		
(8)固体与液体 Solid and liquid	31.57**		

2.5 炼苗移栽

将高度 3 cm 以上适宜移栽的生根苗带出培养室,放在干净通风明亮的室内炼苗 3 d,打开封口膜再炼苗 3~5 d,栽植于温室经过消毒的基质中,基质由 1:1 的草炭和珍珠岩构成。每日早晚 2 次喷水,7 d 浇 1 次 1/4MS 的大量元素和微量元素液,成活率为 90%左右。

3 讨论

3.1 液体培养与增殖、生根

通过以上分析得知,丽格海棠最佳增殖培养基为(6)MS+BA1.5+NAA0.01(液);最佳生根培养基为(8)1/2 MS+NAA0.1(液)。这与液体培养基营养均匀,气体交换充分有直接关系;另外

旋转培养时,芽与芽、芽与容器的相互碰撞是否起到促进增殖作用有待探讨。生根培养若长期静置,部分根因缺氧而加速衰老,因此,生根培养尤其适宜低速旋转培养。

3.2 繁殖效率

以 1 个 1 cm² 叶片外植体计算,28 d 形成丛芽可分割 5 块,每块再经 19 d 形成 11 个不定芽,20 d 形成根系。接种第 67 天后可形成 55 株小苗,不定芽及叶片继续繁殖,按照 47 d 可以继代 1 次计算,1 年可转 8 次,理论上每年繁殖数可达 55⁷ 株。

参考文献:

- [1] 李海燕,徐永清,范锐锋,等. 丽格海棠的组织培养[J]. 生物技术,2005,(1):79~81.
- [2] 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):10~12.
- [3] 韩超,方正. 外植体和激素对丽格海棠组培不定芽分化的影响[J]. 河北农业大学学报,2005,(3):42~45.
- [4] 文锦芳,邓明华,施卫省,等. 丽格海棠离体培养植株再生影响因素的研究[J]. 北方园艺,2006,(2):114~115.
- [5] 陈超,石洪凌,李小六. 丽格海棠的组织培养与快速繁殖[J]. 唐山师范学院学报,2004,(2):64~65.